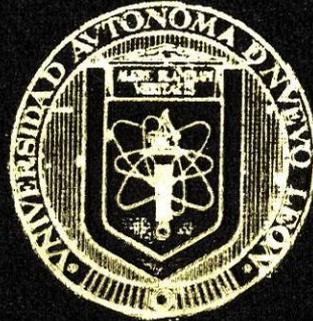


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE AGRONOMIA



DETERMINACION DE ALGUNOS ELEMENTOS NUTRITIVOS EN
CEPAS (Rhizobium spp.) DE DIFERENTE PROCEDENCIA
COMO UNA FORMA DE EVALUACION.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA

P R E S E N T A

MANUEL RUIZ CARDENAS

MARIN, N. L.

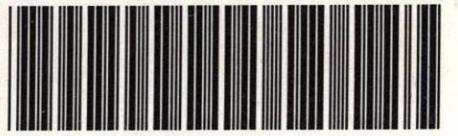
OCTUBRE DE 1988

T

S652

R8

c.1



1080063434

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE AGRONOMIA



DETERMINACION DE ALGUNOS ELEMENTOS NUTRITIVOS EN
CEPAS (Rhizobium spp.) DE DIFERENTE PROCEDENCIA
COMO UNA FORMA DE EVALUACION.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA

PRESENTA

MANUEL RUIZ CARDENAS

MARIN, N. L.

OCTUBRE DE 1988

09470
✓

T
SG52
R8

040.631
FA 7
1988
C-5


Biblioteca Central
Maana Solidaridad
F. Tesis


BU Rabi Rangel Fines
UANL
FONDO
TESIS LICENCIATURA

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE AGRONOMIA

Determinación de algunos elementos nutritivos en cepas
(Rhizobium spp.) de diferente procedencia como una forma
de evaluación.

T E S I S

Que para obtener el título de:

INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA

PRESENTA

MANUEL RUIZ CARDENAS

MARIN, N.L.

OCTUBRE DE 1988.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

Determinación de algunos elementos nutritivos en cepas (Rhizobium spp.) de diferente procedencia: como una forma de evaluación.

Tesis aceptada y aprobada como requisito parcial para obtener el título de INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA, elaborada por **MANUEL RUIZ CARDENAS**.

COMITE SUPERVISOR DE TESIS:

Ing. Ronald J. Lecea Juárez
Presidente

M.C. Francisco Rodríguez E.
Secretario



Ing. Juan E. Aguirre Cossio
Vocal

MARIN, N.L.

OCTUBRE DE 1988.

DEDICATORIA

A DIOS:

Como fuente de inspiración y fé inquebrantable en toda creación humana.

A MI PADRE:

Con el debido respeto que se merece
Sr. Prisco Ruíz Nava

A MI MADRE:

A esa gran mujer que siempre me espera en casa con amor, a la que con sus cuidados, cariño, dedicación, esfuerzos, desvelos y consejos hizo de mí un hombre de bien y profesionalista responsable para servir a mi país.

Sra. Yolanda Cárdenas González.

A MIS HERMANOS:

Martha Elva
Nohemí
Juan Martín
Francisco Javier
Prisco Alberto

Con todo cariño y agradecimiento por el apoyo que me brindaron para poder terminar mis estudios.

A MI NOVIA:

Srita. Martha Imelda Nuñez Martínez

Con todo cariño por ser alguien muy especial en
mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A MI ASESOR:

Ing. Ronald J. Lecea Juárez

Por su valiosa ayuda para la elaboración de la presente investigación, por su amistad y por su constante orientación.

A LOS MAESTROS:

M.C. Francisco Rodríguez Esquivel

Ing. Juan E. Aguirre Cossio

Por su colaboración en la revisión de este trabajo y su amistad brindada a lo largo de la carrera.

A la Familia Ruíz Rodríguez:

A ellos, con infinito agradecimiento por su hospitalidad brindada a lo largo de mi carrera, por sus consejos y apoyo moral que siempre me brindaron en los momentos difíciles.

A todos los maestros, compañeros y amigos que hicieron que mi estancia en la Facultad fuera una experiencia agradable, así como a todas aquellas personas que de alguna manera colaboraron en la realización del presente trabajo.

A TODOS GRACIAS.

INDICE

	Página
INTRODUCCION.	1
REVISION DE LITERATURA.. . . .	2
Inoculantes.	2
Antecedentes.	2
Forma y producción de inoculantes.	4
Cultivos en Agar.	4
Cultivos líquidos.	5
Cultivos en Turba.	5
Técnicas de inoculación.	6
Goma arábiga.	6
Celulosa sustituida	7
Conocimientos generales sobre la bacteria <u>Rhizobium</u> sp.	7
Taxonomía de <u>Rhizobium</u> sp.	7
Descripción de <u>Rhizobium</u>	7
Ciclo de vida.	8
Selección de cepas de <u>Rhizobium</u>	8
El Nitrógeno.	10
Importancia (en las plantas).	10
Formas de N ₂ disponible para las plantas.	11
Síntomas de deficiencia de Nitrógeno.	11
Infección y formación del nódulo.	12
Factores que afectan la nodulación y fijación de Nitrógeno.	14
Físicos.	14
Químicos (nutricionales).	15
Biológicos.	17
De qué depende la cantidad de Nitrógeno tomado del aire y fija do por la bacteria.	17
Instrucciones para el uso de inoculantes.	18

	Página
OBJETIVOS E HIPOTESIS.	19
MATERIALES Y METODOS.	20
Lugar donde se llevó a cabo el trabajo.	20
Materiales.	20
Material biológico.	20
Material instrumental.	21
Descripción del diseño experimental.	22
Tratamientos.	22
Variables evaluadas.	23
Procedimiento de extracción.	23
Procedimiento analítico.	23
Análisis de varianza.	24
RESULTADOS Y DISCUSION.	25
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	31
RESUMEN.	34
BIBLIOGRAFIA.	37
APENDICE.	39

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro		Página
1 y 1a	Presentación de medias por tratamiento y análisis de varian <u>za</u> para la variable concentración de Molibdeno.	40
2 y 2a	Presentación de medias por tratamiento y análisis de varian <u>za</u> para la variable concentración de Cobre.	41
3 y 3a	Presentación de medias por tratamiento y análisis de varian <u>za</u> para la variable concentración de Fierro.	42
4 y 4a	Presentación de medias por tratamiento y análisis de varian <u>za</u> para la variable concentración de Manganeso.	43
5 y 5a	Presentación de medias por tratamiento y análisis de varian <u>za</u> para la variable concentración de Zinc.	44
6 y 6a	Presentación de medias por tratamiento y análisis de varian <u>za</u> para la variable concentración de Calcio.	45
7 y 7a	Presentación de medias por tratamiento y análisis de varian <u>za</u> para la variable concentración de Magnesio.	46
8 y 8a	Presentación de medias por tratamiento y análisis de varian <u>za</u> para la variable concentración de Sodio.	47
9 y 9a	Presentación de medias por tratamiento y análisis de varian <u>za</u> para la variable concentración de Potasio.	48
10	Conversión de las absorbancias a ppm para cada uno de los elementos con sus respectivas betas.	49
11	Resultados de la prueba de Tukey para determinar la mejor cepa para la variable Molibdeno.	51
12	Resultados de la prueba de Tukey para determinar la mejor cepa para la variable Cobre.	52
13	Resultados de la prueba de Tukey para determinar la mejor cepa para la variable Fierro.	53

Cuadro		Página
14	Resultados de la prueba de Tukey para determinar la mejor cepa para la variable Manganeso.	54
15	Resultados de la prueba de Tukey para determinar la mejor cepa para la variable Zinc.	55
16	Resultados de la prueba de Tukey para determinar la mejor cepa para la variable Calcio.	56
17	Resultados de la prueba de Tukey para determinar la mejor cepa para la variable Magnesio.	57
18	Resultados de la prueba de Tukey para determinar la mejor cepa para la variable Sodio.	58
19	Resultados de la prueba de Tukey para determinar la mejor cepa para la variable Potasio.	59
20	Análisis de correlación para cada una de las variables evaluadas.	60
21	Concentración de niveles de los tratamientos.	61
 Figura		
1	Ciclo del <u>Rhizobium leguminosarum</u> mostrando su pleomorfismo (Rubio y Tijerina, citados por Sánchez, 1964).	62
2	Etapas de formación de un nódulo radical.	63

INTRODUCCION

A diferencia de lo que acontece con la práctica de inocular semillas de plantas no leguminosas con Azotobacter, la inoculación con Rhizobium ha superado la etapa polémica y es una práctica agrícola de amplia aceptación en numerosos países. Hay distintas organizaciones comerciales que se dedican a la producción y distribución de cultivos de rizobios para su uso con cultivos específicos. El cultivo comercial suele aplicarse a la semilla poco antes de la siembra.

La inoculación artificial bien podría tener valor insignificante en algunos casos prácticos donde el huésped se cultiva con frecuencia en un mismo campo; sin embargo, es tan bajo el costo de la inoculación y tan grande la posible pérdida de rendimiento a causa de una inoculación insuficiente o con una cepa ineficaz, que la inoculación artificial suele verse como un seguro barato y practicársele sin un previo análisis específico de eficacia en el campo o laboratorio. Aislar el rizobio del suelo es tarea difícil e insegura. La única manera práctica de conocer su eficacia en un suelo consiste en cultivar cada especie de leguminosa que interese y luego cotejar la formación de nódulos, el crecimiento y la fijación de nitrógeno resultantes con los valores obtenidos al utilizar como inóculo artificial una cepa que en experimentos anteriores resultó eficaz. Como este procedimiento es demasiado caro en comparación con el de la INOCULACION, sólo se utiliza en trabajos de investigación. Se puede utilizar una variante de este procedimiento para analizar inóculos comerciales o de otro tipo. Como cuantificación de la concentración de elementos nutritivos en diferentes inoculantes como una forma de evaluación en función de su procedencia.

REVISIÓN DE LITERATURA

Inoculantes

Antecedentes

Hace ya muchos años se demostró que la incorporación de ciertas plantas mejora la tierra y al aumentar la fertilidad, estimula las cosechas venideras. Las plantas que producen tal estímulo resultaron ser de la familia Leguminosae (21).

Hellriegel y Wilfarth, citado por Black (1975), formularon la teoría de que las bacterias de los nódulos radiculares asimilaban Nitrógeno elemental del aire y que, posteriormente las plantas utilizaban parte de los compuestos nitrogenados sintetizados por las bacterias.

Beijerinck (en 1888) logró aislar el organismo del nódulo al que denominó Bacillus radicicola que posteriormente designó con el nombre genérico de Rhizobium. Hoy es bien evidente de que gran número de microorganismos tienen la facultad de fijar Nitrógeno, bien por sí solos, o bien unidos a otros y este proceso reside en los nódulos radiculares.

Magee y Burris (1954) mediante el isotopo N^{15} , comprobaron que los nódulos siguen fijando nitrógeno por un corto período, luego de ser separados de las plantas.

Alexander (1980), menciona que antiguamente y que todavía se practica en algunas regiones de otros países, se introducían las bacterias radicícolas en los suelos, acarreando cantidades considerables de tierra de otros terrenos donde la leguminosa que se deseaba sembrar había vegetado con éxito.

Aunque es un método caro, laborioso y muy peligroso, ya que pueden introducirse en el terreno patógenos de plantas, Rhizobium ineficientes, además de los microorganismos activos e innumerables semillas de malezas.

No se puede depender de una infección espontánea para la microflora indígena del suelo, porque muchas localidades tienen poco Rhizobium efectivo, y no es común observar que hasta 25% de las bacterias en un campo dado tienen un bajo grado de efectividad, 50% poseen una habilidad moderada y solo el 25% son completamente efectivas. De lo anterior, se tiene que la gran población indígena de Rhizobium no es completamente efectiva en la fijación de nitrógeno, por eso no es sorprendente que la inoculación realizada con cepas bacterianas seleccionadas de Rhizobium proporcionen resultados de gran importancia agronómica (1).

Tisdale y Nelson (1982) reportan que los estudiosos rusos de la agricultura han afirmado que la inoculación de las semillas con estos microorganismos producen algún aumento en el crecimiento de las plantas. Trabajadores del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos; sin embargo, no han podido confirmar estas afirmaciones.

Alexander (1980) señala que en la técnica original, las semillas eran cubiertas con una suspensión de las bacterias que habían sido cultivadas en un medio líquido o en cultivos inclinados en agar. Sin embargo, en años recientes los portadores sólidos han reemplazado a los primeros inoculantes. La inoculación se recomienda para la primera vez que se siembra un campo con una nueva especie de leguminosa y las respuestas a las bacterias suplementarias son frecuentemente muy marcadas en tales circunstancias. Es común encontrar en la producción un incremento del doble o más en peso seco como resultado de la inoculación.

Por otro lado, donde los rizobios naturales son numerosos y eficientes, la respuesta medida en términos de producción o asimilación de nitrógeno, puede ser escasa o nula; la ausencia de una estimulación se nota a menudo en campos previamente cultivados con hospederos, con nódulos efectivos y abundantes, del mismo grupo de inoculación cruzada, pero cuando no existe una clara evidencia para lo contrario, la práctica que se recomienda es inocular.

Una vez que está en manos del agricultor (el inoculante), las semillas se humedecen con agua y el inoculante se mezcla con la semilla humedecida inmediatamente antes de la siembra.

Forma y producción de inoculantes

El primer requerimiento de la inoculación es que proporcione a la semilla un número suficiente de rizobios apropiados. El segundo, es que la bacteria debe ser aplicada en una forma y bajo condiciones que le permitan sobrevivir. En tercer lugar, el medio donde esté la semilla debe permitir la colonización de la rizosfera por el rizobio, la formación del nódulo y su funcionamiento efectivo. Ensayos en invernaderos sirven para una clasificación inicial y permiten un rápido examen sobre pérdidas de la capacidad simbiótica. También son esenciales ensayos más rigurosos con las cepas más prometedoras en una o más diferentes situaciones de campo. Un medio ambiente particular (temperatura, pH, suministro de nutrientes) y variedad del huésped, puede afectar a las cepas de distintas maneras (26).

Cultivos en agar

Los cultivos sobre agar, pueden ser convenientemente productivos para satisfacer una demanda relativamente pequeña, particularmente si esto se

combina con las necesidades de cultivos diversos y algo más especializados. El rendimiento de un buen desarrollo en un tubo inclinado con 10 cc de agar, es alrededor de 10000×10^6 bacterias. Para cultivos mantenidos a temperatura ambiental, la sobrevivencia es mediana y buena cuando se les refrigera. Las células de esta forma de cultivo, no sobreviven muy bien sobre las semillas pero esto puede ser mejorado con el uso de soluciones al 10% de sacarosa o maltosa en lugar de agua para la suspensión.

Cultivos líquidos

Los cultivos líquidos se utilizan específicamente cuando un programa de inoculación es suficientemente grande e intensivo y existe una buena coordinación entre el laboratorio de producción y el campo. Como en los cultivivos sobre agar, la sobrevivencia del rizobio en la superficie de la semilla es, en este caso pobre. Si se usan cultivos suspendidos de rizobio liofilizados, es aún peor.

Cultivos en turba

La producción es en gran escala de estos cultivos, se realiza generalmente en un proceso de dos etapas: el desarrollo del rizobio en cultivo líquido; y su uso para la impregnación de la turba o de la mezcla suelo-turba. En la práctica, esto se consigue por uno de los dos caminos siguientes: a) El cultivo se desarrolla en una cantidad grande de medio líquido hasta conseguir un recuento viable alto. Se mezcla entonces la suspensión con turba finamente molida, parcialmente seca y no estéril, hasta poder llegar a obtenerer la humedad deseada. La mezcla se deja madurar algunos días y después se envasa. El éxito de este método dependerá de haber agregado una cantidad suficientemente alta de rizobios con el caldo como para establecer una población inicial abundante y usar una calidad de turba y condiciones de alma-

cenamiento intermedio que permitan una apreciable multiplicación posterior.

b) Un cultivo puro relativamente bien desarrollado, se agrega asépticamente a la turba o a un portador similar que ha sido esterilizado previamente. En este método el portador esterilizado que puede ser enriquecido de diferentes maneras, es el medio en el cual se realiza una gran parte del desarrollo del cultivo. Su éxito depende de la eficacia de la esterilización y de la exclusión de contaminaciones posteriores (26).

Técnicas de inoculación

Poco después de una lluvia, es el tiempo ideal para inocular y sembrar la semilla. No es recomendado plantar las semillas inoculadas en seco; sin embargo, con el uso de adhesivos o preparaciones comerciales se puede alargar la vida de la bacteria en estos casos (14).

La semilla en general prevé un pobre sustrato para el rizobio; éste muere rápidamente bajo condiciones de sequía, tiempo en la semilla o en el suelo. La razón de la muerte varía dependiendo de la especie del rizobio, forma y cantidad del inóculo, temperatura, humedad relativa y muchos otros factores. Ciertos adhesivos como sacarosa, dextrina, maltosa y goma arábica alargan la sobrevivencia del rizobio en la semilla (9).

La sobrevivencia de las bacterias suspendidas sobre las semillas, se mejora agregando 10% de azúcar o 40% de goma arábica neutra al medio donde los organismos estén suspendidos. Goma arábica (goma acacia) o una celulosa sustituida proporciona un adhesivo conveniente. La goma que es de un color castaño oscuro, contiene sustancias ácidas dañinas y no debe ser usada.

Goma arábica

Disolver 100 g de goma arábica en 230 cc de agua potable y agitar.

Celulosa sustituida

Agregar 14 g de adhesivo a 280 cc de agua potable y dejar que se espese, manteniendolo durante una noche en un lugar fresco (26).

Inoculación y recubrimiento de la semilla

Mezclar el inóculo (170 g de cultivo de turba) con el adhesivo, mezclando bien con la semilla lo más pronto posible. Las semillas son inoculadas antes de ser sembradas, agregando una pequeña cantidad de agua al inoculante con el adhesivo, mezclando bien por lo menos durante cinco minutos. Una alternativa es el método de humedecer la semilla primero con agua y entonces mezclar el inoculante con la semilla (9, 26).

Conocimientos Generales sobre la Bacteria Rhizobium sp.

Taxonomía de Rhizobium sp.

El Rhizobio pertenece al (7):

Reino	Vegetal
Subreino	Thallophyta
División	Schizophyta
Clase	Schizomycetes
Orden	Eubacteriales
Familia	Rhizobiaceae
Género	<u>Rhizobium</u>

Descripción de Rhizobium

El Rhizobium comprende uno de los tres géneros en la familia Rhizobiaceae, caracterizado por su habilidad de infectar e inducir la formación de nódulos en las raíces de las plantas leguminosas. Son células gram-negativo, en forma de vara 0.5-0.9 por 1.2-3.0 micrones; cuando crecen en medios adecuados y activamente en los nódulos vigorosos; pero pueden adoptar

formas X, Y, T o racimos si crecen en condiciones desfavorables del medio o del nódulo y formas características en bandas y ramificaciones en las células más viejas del nódulo; móviles cuando jóvenes, comúnmente cambiando a formas bacteroides. Generalmente las bacterias se reproducen asexualmente por división sencilla (fisión), división del cuerpo progenitor en dos partes hijas más o menos iguales.

Alrededor del 10% de las 1200 o más especies en la familia Leguminosae ha sido examinadas en la fijación de N_2 y aproximadamente el 90% de ellas poseen la habilidad de fijación (19, 20, 21).

Ciclo de vida

En resumen, el rizobio pasa por un ciclo especial que comprende cinco o seis fases: estado cocoide, fase cocoidea; premóvil con organismos de diámetro mayor que las anteriores, fase móvil monoflagelar, fase móvil peritrica, fase de bastones no flagelados y por último, fase bacteroide con formas vacuolizadas o con cromatina en bandas. En la Figura 1 se presenta dicho ciclo (22).

Selección de cepas de Rhizobium

La separación en especies dentro del género Rhizobium, está basada al menos en la actualidad, en la especificidad por el hospedero, pues las bacterias están limitadas en los grupos de plantas que infectan. Un grupo de inoculación cruzada incluye idealmente todas las especies de hospederos que son infectados por una sola especie de Rhizobium. Se han establecido más de 10 grupos de inoculación cruzada, de los cuales solo siete han resultado ser de importancia y no más de seis se han delimitado lo suficiente para que la bacteria responsable logre la posición de especie. Esta clasificación

menciona las siguientes especies de Rhizobium: Rhizobium meliloti que infecta al grupo de la alfalfa; R. trifoli al grupo del trébol; R. leguminosarum al grupo del chícharo; R. phaseoli, al grupo del frijol; R. lupini, al grupo de altramuz y R. japonicum, al grupo de la soya (Alexander, 1980).

La nodulación tiene un significado taxonómico, pero no necesariamente indica fijación de nitrógeno, por lo que en un trabajo de selección de cepas se debe buscar la efectividad de la asociación, ya que algunas cepas que producen nódulos no fijan nitrógeno comportándose como parásitos biotróficos, otros fijan en cantidades variables satisfaciendo parcial o totalmente las necesidades de Nitrógeno de la leguminosa.

Las cepas de Rhizobium deben ser seleccionadas de acuerdo a las siguientes cualidades:

- a). Tiene que nodular y fijar nitrógeno en una planta en particular y proporcionar de esta forma un adecuado suministro de nitrógeno.
- b). Tiene que ser competitiva, o sea, nodular el huésped en presencia de cepas nativas de Rhizobium sp.
- c). La nodulación debe ocurrir en el rango de temperatura bajo la cual, la planta se desarrolla.
- d). La cepa de Rhizobium debe ser capaz de crecer bien en el medio de cultivo, en el medio de soporte seleccionado y en el suelo después de sembrada la semilla.
- e). El microorganismo deberá ser capaz de sobrevivir en el suelo de una estación a otra (Burton, 1979 citado por Bueno, 1981).

El Nitrógeno

Importancia (en las plantas)

Todo el nitrógeno del suelo proviene de la atmósfera, a través de los procesos de fijación, que produce la combinación de este elemento con hidrógeno u oxígeno. La atmósfera contiene casi 78% de nitrógeno; sin embargo, este nitrógeno no puede ser utilizado directamente por las plantas superiores, y requiere la previa combinación con hidrógeno u oxígeno (23).

El nitrógeno es el más susceptible a las transformaciones microbianas. Este elemento es la unidad estructural clave de la molécula de proteína sobre la cual se basa toda la vida y por consiguiente, es un componente indispensable del protoplasma de las plantas, animales y microorganismos (1).

El N_2 es necesario para la síntesis de proteínas y por tanto, una escasez del mismo interfiere de manera directa en la formación de nuevo protoplasma requerido para el crecimiento. Los nitratos se convierten con más rapidez en compuestos orgánicos que la mayoría de los otros minerales que se absorben por la raíz y en caso de escasez, en su mayor parte son utilizados en la raíz, de manera tal que los síntomas de su deficiencia se muestran primero en el brote. De aquí, que las plantas que crecen en condiciones de escasez de N_2 , tienden a tener un sistema radical muy desarrollado en comparación con el brote (10).

Los compuestos nitrogenados constituyen una parte importante del peso total de las plantas, aproximadamente el 10% de su peso en verde es aportado por compuestos nitrogenados. El N_2 se encuentra en las plantas, tanto en forma orgánica como inorgánica (3).

Los caminos principales por los que el N_2 es convertido a formas utilizables por las plantas superiores son las siguientes:

1. Fijación por Rhizobia y otros microorganismos que viven simbióticamente en las raíces de las leguminosas y otras determinadas plantas no leguminosas.
2. Fijación por microorganismos que viven libremente en el suelo y quizás por organismos que viven en las hojas de las plantas tropicales.
3. Fijación con algunos de los óxidos de N_2 , por las descargas eléctricas atmosféricas.
4. Fijación como amoniaco, NO_3 o CN_2 , por algunos de los varios procesos industriales para la fabricación de los fertilizantes nitrogenados sintéticos (23).

Formas de N_2 disponible para las plantas

Las formas de N_2 que se encuentran a disposición de la planta pueden distribuirse en cuatro grandes grupos:

- Nitrógeno en forma nitrato (NO_3^-)
- Nitrógeno en forma amoniacal (NH_2)
- Nitrógeno en forma orgánica
- Nitrógeno molecular (N_2) (5)

Síntomas de deficiencia de Nitrógeno

El síntoma de deficiencia en Nitrógeno más fácilmente apreciable es el amarillamiento (clorosis) de las hojas debido a una disminución del contenido en clorofila. En general, este síntoma empieza a notarse en las hojas más maduras y aparece en último lugar en las superiores sometidas a un

crecimiento más activo. En condiciones de deficiencia aguda en N_2 , las hojas más inferiores se secan y amarillean y en muchos casos, se desprenden. En estas condiciones las hojas superiores presentan un color verde pálido. Otra característica interesante de muchas plantas es la producción de pigmentos distintos de la clorofila cuando falta N_2 .

Si se suministra a la planta concentraciones elevadas de N_2 , se observa una tendencia al aumento del número y tamaño de las células de las hojas y especialmente, del ritmo de sus divisiones (13).

Peligros de una aportación excesiva

Los efectos posibles y daños de este elemento pueden ordenarse como sigue:

1. El N_2 puede retardar la maduración al favorecer excesivamente el crecimiento vegetativo, que continúa más allá del tiempo normal de maduración.
 2. Puede debilitar la paja y favorecer el encamado
 3. El N_2 puede hacer bajar la calidad del cultivo. Esto es especialmente notable en ciertos granos y frutos, como cebada y melocotones.
 4. En ocasiones puede hacer disminuir la resistencia a las enfermedades.
- (5)

Infección y formación del nódulo

En la mayoría de las leguminosas la invasión ocurre a través de los pelos radiculares, que en presencia de la bacteria apropiada, sufren una deformación o enrosacamiento bajo la influencia de algunos productos bacterianos. El rizobio sintetiza y excreta uno o más productos que provocan la deformación de los pelos radiculares. Los pelos deformados son penetrados en

la primera fase de la infección real, aunque algunas especies de plantas sean invadidas en forma completamente diferente. En esta etapa, la pared del pelo radicular se invagina y la invaginación continúa convirtiéndose en una estructura tubular. Siguiendo la penetración microbiana dentro del pelo radicular se forma un cordón de infección parecido a una hifa. En el estrecho tubo de infección, rodeado característicamente por una pared de celulosa sintetizada por el hospedero. La pared del cordón parece ser continua con la pared del propio pelo radicular. Lo que sí está claro que la producción microbiana de auxinas o reguladores de crecimiento vegetal pueden tener alguna función en la extensión continuada del tubo. Finalmente, el cordón se ramifica dentro de las porciones centrales del nódulo en desarrollo y las bacterias son liberadas dentro del citoplasma de su simbionte, para multiplicarse ahí. Poco antes, o inmediatamente después de la liberación tiene lugar un período de rápida división celular en la célula del hospedero. En el nódulo, se ve que los organismos se encierran en una membrana derivada de las células del hospedero y los rizobios pueden multiplicarse ahí de manera que puedan encontrarse de cuatro a cinco bacterias en una sola entidad cubierta de membrana. Una vez liberado el cordón de infección dentro del citoplasma, el rizobio puede adquirir una morfología peculiar; una forma celular que se ha denominado bacteroide.

Con el tiempo, el nódulo se deteriora liberando bacterias al suelo. Las formas bacteroides son incapaces de dividirse, pero siempre hay un número de células bacilares que han permanecido inactivas; éstas proliferan ahora, usando como nutrientes algunos de los productos del nódulo deteriorado, y pueden iniciar el proceso de infección en otras raíces o puedan llevar su existencia libre en el suelo (1).

En la Figura 2 se pueden observar claramente las etapas de la infección y desarrollo de los nódulos radiculares (Brock, 1978).

Factores que afectan la nodulación y la fijación de nitrógeno

Factores físicos

Temperatura. La temperatura es un factor importante en la fijación de nitrógeno, así como en el proceso de nodulación, por lo que puede darse el caso de que la temperatura óptima para la nodulación sea diferente a la del proceso de fijación. A bajas temperaturas, evidente muy poca actividad; el aumento de temperatura estimula la captación microbiana del gas. El proceso se lleva a cabo a temperaturas moderadas, pero cesa a escasos grados por arriba de la temperatura óptima (Alexander, 1980).

El promedio de temperatura óptima del suelo para el proceso de nodulación y fijación de nitrógeno es de 30°C (Graham, 1977).

Humedad. Una humedad adecuada en el suelo no solo es un factor decisivo en el desarrollo de las plantas superiores, sino también en la supervivencia de *Rhizobium*, tanto en el suelo como en la semilla inoculada. Se sabe que esta bacteria es extremadamente sensible a la sequía; solamente unas cuantas células pueden sobrevivir cuando la mezcla de suelo contiene aire seco. En el otro extremo, un exceso de agua puede limitar la aireación y por lo tanto, la supervivencia de las bacterias; por lo que en regiones áridas es recomendable infectar con cepas locales y no con cepas importadas debido a la adaptabilidad de las primeras (22).

Luz. El número de nódulos radiculares fijadores de nitrógeno, está controlado por el fotoperíodo que actúa a través de las hojas de la planta,

cuanto más luz y clorofila haya tanto más alimento se le proporciona a la bacteria.

Si una planta en proceso de nodulación es puesta en la oscuridad, la formación de nódulos cesa y los ya formados degeneran, la hemoglobina se destruye y da origen a pigmentos verdes. Esto se puede explicar debido al déficit de fotosintatos, ya que la planta en ausencia de luz no los produce y por lo tanto, la bacteria degenera (17).

pH. Este es de gran importancia, no sólo el desarrollo de los Rhizobia y la producción de nódulos, sino también el crecimiento y la captación de nitrógeno por las plantas. Los suelos ácidos generalmente causan deficiencias de elementos básicos como Ca, Mg, K, P y N, así como la liberación de elementos tóxicos como Al y Mn y además, aumentar la concentración de iones hidrógeno (1). Muchos investigadores hablan de diferentes valores de pH, pero todos convergen en valores entre 5.5 y 7.5.

Factores químicos

Factores nutricionales

Nitrógeno. La aplicación de fertilizantes nitrogenados afecta la nodulación, disminuyendo el tamaño, peso, número de nódulos y la cantidad de nitrógeno fijado por la bacteria, pues inhibe la síntesis de la enzima nitrogenasa (Alexander, 1980).

Fósforo. Es importante, ya que mantiene un alto nivel de población rizobiana en el suelo. Además, estimula el crecimiento, incrementa el peso seco de las raíces y de los nódulos.

Potasio. Es necesario en el proceso de fijación simbiótica, ya que

interviene en el proceso enzimático e incrementa el contenido de nitrógeno fijado y la cantidad de carbohidratos sintetizados (Mengel, 1974).

Calcio. El Calcio es importante para la nutrición de las leguminosas y es requerido en la formación de los nódulos, su concentración asimilable tiene que ser relativamente alta si se quiere mantener activa la población microbiana (McCalla, 1937; citado por White y Trumble, 1968).

Magnesio. Se carece de una información amplia con relación a este elemento, pero se ha afirmado que estimula la producción de nódulos. La materia seca de la leguminosa generalmente es mucho más rica que la de los cereales.

Manganeso. Cuando se encuentra en altas concentraciones de Manganeso soluble (suelos ácidos), este elemento se vuelve tóxico para las leguminosas.

Molibdeno. Este elemento posee doble función, en pequeñísimas cantidades es requerido para la reducción de nitratos a amoníaco y relativamente en grandes cantidades, para la fijación de nitrógeno por las leguminosas (1, 22). Russell (1968) establece que en suelos con deficiencias de Molibdeno las plantas pueden desarrollarse perfectamente bien y sus raíces estar bien noduladas, pero los nódulos no fijan nitrógeno.

Boro. Tiene la función de regular el desarrollo de los tejidos vasculares del nódulo, así como para la absorción de calcio y la translocación de los hidratos de carbono. Otro efecto que causa esta deficiencia es la acumulación de carbohidratos en la planta, lo cual disminuye la fijación de nitrógeno (22).

Hierro. 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.

Cobalto. Forma parte esencial de la vitamina B₁₂, por lo que es necesario para la fijación de nitrógeno. El contenido de B₁₂ aumenta con el abastecimiento de Cobalto, por lo que este micronutriente es indispensable para Rhizobium y demás microorganismos simbióticos fijadores de nitrógeno atmosférico (2).

Cobre. Respecto a este elemento, la planta necesita pequeñas cantidades de cobre para su buen desarrollo y cuando este elemento es deficiente, el metabolismo de los carbohidratos se altera, generando una deficiente síntesis de proteína. Erkoma ha demostrado que cuando hay una deficiencia de Cobre se forma una menor cantidad de hemoglobina.

Factores biológicos

Se refiere a la interacción que tiene la bacteria con el hospedero y con otros microorganismos que se encuentran en la rizósfera. Este tipo de interacción incluye procesos como el antagonismo, el sinergismo y la predación, así como el efecto genético de la bacteria y hospedero en su relación como simbiosis.

La cantidad de Nitrógeno tomado del aire y fijado por la bacteria depende básicamente de:

- a). La especie de leguminosa
- b). La efectividad de la bacteria
- c). Las condiciones del suelo
- d). La presencia de elementos libres de nitrógeno (24).

Instrucciones para el Uso de Inoculantes

1. El tipo de suelo debe tener un pH alcalino (7-8 preferentemente).
2. El inoculante debe ser específico para el cultivo indicado
3. El inoculante debe usarse donde experimentalmente ha demostrado su eficiencia.
4. Utilizar una densidad de 115 a 250 g de inoculante por cada 100 kg de semilla. Asegurando un número de 50 a varios miles de células por semilla.
5. Nunca inocular más semilla que la que se pueda sembrar en un día.
6. El inoculante no debe exponerse al sol o al calor
7. No debe usarse el inoculante después de la fecha de caducidad.
8. Almacenar el inoculante en un lugar fresco, seco y bien ventilado preferentemente a una temperatura de 4-8°C.
9. Evite el contacto del producto con fertilizantes, fungicidas u otros productos químicos.
10. En caso de semillas tratados con productos químicos, use una cantidad mayor de inoculantes.

OBJETIVOS E HIPOTESIS

Objetivos

- Cuantificar y determinar qué inoculantes son mejores para cada una de las variables analizadas.
- Evaluar las mejores cepas en función de su procedencia.

Hipótesis

Ho : No existe diferencia en la concentración de algún elemento entre diferentes cepas bacterianas.

Ha : Existe diferencia cuando menos en algún elemento para alguna cepa bacteriana.

MATERIALES Y METODOS

Lugar donde se llevó a cabo el trabajo

El presente trabajo se realizó durante el período comprendido entre marzo y abril de 1988, en el laboratorio de Suelos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, la cual se encuentra localizada en el municipio de Marín, N.L., en el km 17 de la carretera Zuazua-Marín siendo sus coordenadas geográficas 25°53' Latitud Norte y 100°03' Longitud Oeste, con una altitud de 367 msnm.

Materiales

En el presente trabajo se utilizaron los siguientes materiales:

Material biológico

Cepas de bacterias de Rhizobium sp.

- Cepas de Guadalajara, Jal.

14

138

167

114

171

121

- Cepas de FERTIMEX experimental

332

318

329

335

330

319

- Cepas de FERTIMEX comercial

Nitrobiol

- Cepas de Nuevo México

33

36

19

32

31

35

1

6

7

9

11

12

- Cepas de Chapingo

425-4

138-1

4-6

3-7

138

167

114

CoQo

330

Material instrumental

Espectrofotómetro de Absorción Atómica FMD4

Agua destilada

Vasos de precipitados

Pipetas

Picetas

Agitador de vidrio de mano

Papel filtro

Balanza analítica

Estufa

Tubos de ensaye

Descripción del Diseño Experimental

El diseño experimental utilizado en este trabajo de investigación fue un diseño completamente al azar, el cual consta de 34 tratamientos con seis repeticiones para cada tratamiento, generando 204 unidades experimentales.

$$Y_{ij} = U + T_i + E_{ij} \quad \begin{array}{l} i = 1, 2, \dots, t \\ j = 1, 2, \dots, r \end{array}$$

Y_{ij} = Es el valor observado de la variable bajo estudio en el tratamiento i de la repetición j .

U = Media general

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento

E_{ij} = Es el error aleatorio que surge por el efecto conjunto de todos los factores no controlados por el diseño y que causan heterogeneidad en el experimento.

Tratamiento

Los tratamientos son los que a continuación se indican:

Tratamiento	Cepas	Tratamiento	Cepas
1	14	18	N.M. 31
2	138	19	N.M. 35
3	167	20	N.M. 1
4	114	21	N.M. 6
5	171	22	N.M. 7
6	121	23	N.M. 9
7	332	24	N.M. 11
8	318	25	N.M. 12
9	329	26	425-4
10	335	27	138-1
11	330	28	4-6
12	319	29	3-7
13	Nitrobiol	30	138
14	N.M. 33	31	167
15	N.M. 36	32	114
16	N.M. 19	33	CoOo
17	N.M. 32	34	330

Variables Evaluadas

El registro de lecturas de cada variable con sus respectivas repeticiones fueron tomadas directamente en el espectrofotómetro.

Las variables bajo estudio fueron:

- X_1 Concentración de Molibdeno (absorbancia)
- X_2 Concentración de Cobre (absorbancia)
- X_3 Concentración de Fierro (absorbancia)
- X_4 Concentración de Manganeso (absorbancia)
- X_5 Concentración de Zinc (absorbancia)
- X_6 Concentración de Calcio (absorbancia)
- X_7 Concentración de Magnesio (absorbancia)
- X_8 Concentración de Sodio (absorbancia)
- X_9 Concentración de Potasio (absorbancia)

Procedimiento de Extracción

Pesar 0.1 g de muestra (inoculante) dentro de un recipiente de evaporación, ya sea un crisol Gooch o un frasco Pyrex Erlenmeyer de 50 ml, agregar aproximadamente 2 ml de HCl (ácido clorhídrico) concentrado. Evaporar muy lentamente en baño maría o en una plancha caliente.

Procedimiento Analítico

1. Una vez evaporado se enfría a temperatura ambiente y agregar 25 ml de HCl 1N, posteriormente filtrar. A esta solución se le llama filtrado original y se puede leer Fe, Cu, Mn, Zn y Mo por absorción atómica.
2. Tomar una alícuota de 1 ml del filtrado y agregar 24 ml de agua destilada.

3. Para determinación de Calcio, tomar una alicuota de 2 ml de la dilución (1) y agregar 8 ml de agua destilada y 10 ml de solución de Lantano al 1%. Analizar utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica.
4. Para la determinación de Mg, K y Na, tomar una alicuota de 1 ml de la dilución (1) y agregar 9 ml de solución de Lantano al 1%, 15 ml de agua destilada. Analizar por medio de absorción atómica.

Análisis de Varianza

Para cada una de las variables estudiadas se realizó un análisis de varianza en base al diseño experimental completamente al azar.

El coeficiente de variación para cada análisis fue estimado en base a la siguiente fórmula:

$$C.V. = \frac{\sqrt{CME}}{\bar{X}} \times 100$$

Donde:

C.V. = Coeficiente de variación

CME = Cuadrado medio de error experimental

\bar{X} = Media general

RESULTADOS Y DISCUSION

A continuación se presentan los resultados obtenidos en el presente trabajo, para cada una de las variables analizadas, con sus cuadros de concentración de datos y análisis de varianza, comparación de medias (Tukey) y sus respectivos análisis de correlación para cada una de las variables.

Molibdeno

En el análisis de varianza realizado para esta variable, reportó diferencia estadística altamente significativa entre tratamientos (Cuadro 1a) y mediante la prueba de Tukey. En el Cuadro 11 se puede observar que la cepa que obtuvo más alta concentración de dicho elemento fue el tratamiento 25 y que pertenece a la Cepa N.M. 12, con un promedio de 56.56. El tratamiento que obtuvo menor concentración fue la cepa N.M. 31, cuyo valor correspondiente es de 23.33 con un C.V. de 29.38.

Debido a que el análisis de varianza fue altamente significativo y la prueba de medias así lo indica, se podría pensar en la superioridad de una cepa; sin embargo, no existió una diferencia marcada entre 28 de las 34 cepas probadas, por lo que desde el punto de vista estadístico son iguales estas 28 cepas y la diferencia entre ellas es solo por algún efecto aleatorio.

Cobre

Refiriéndose a esta variable analizada, el análisis de varianza efectuado arrojó diferencia estadística altamente significativa entre tratamientos (Cuadro 2a), encontrándose a través de la prueba de Tukey (Cuadro 12) que la cepa 425-4 fue la que presentó la mayor concentración de Cobre, sien

do igual estadísticamente a la cepa CoQo, cuyos valores correspondientes son de 78.33 y 78.67 respectivamente.

Por otra parte, la cepa N.M.1 fue la que presentó la menor concentración de este elemento con un promedio de 16.67, siendo igual estadísticamente a los tratamientos 21 y 11, cuyo C.V. es de 26.56.

El análisis reporta resultados altamente significativos y mediante la prueba de medias, hay una marcada superioridad de 6 de los 9 tratamientos de Chapingo, siendo los primeros estadísticamente iguales.

Fierro

En cuanto a este elemento, en el análisis de varianza encontramos diferencia estadística altamente significativa entre tratamientos (Cuadro 3a) Al efectuar la prueba de Tukey (Cuadro 13), se observó que la cepa que obtuvo la mayor concentración fue el tratamiento 34, con un promedio de 4333.33; sin embargo, también se encontró que fue igual estadísticamente a los tratamientos 33, 26, 30, 27 y 28.

Cabe menciona que la cepa que obtuvo la menor concentración de Cobre fue la N.M.9, con un valor medio de 325.00, siendo igual estadísticamente a las 11 cepas restantes de N.M., presentando un C.V. de 11.57.

El análisis estadístico realizado arrojó resultados altamente significativos y en la prueba de medias resultó que las 9 cepas de Chapingo son superiores a las restantes.

Manganeso

Con respecto a esta variable, se menciona que el análisis de variana

za reporta diferencia estadística altamente significativa entre tratamientos (Cuadro 4a), así como también en la prueba de Tukey (Cuadro 14), el tratamiento que presentó la más alta concentración de Manganeso fue el 26, con un promedio de 2555.0, siendo igual estadísticamente al 34, éste último con un valor de 2518.33. Mencionaremos también que los tratamientos 23, 17 y 24 son los que presentan la menor concentración de este elemento, cuyos valores correspondientes son 75.00; 76.67 y 80.00 respectivamente, siendo iguales estadísticamente con un C.V. de 36.52.

En el análisis para dicho elemento reporta que fue altamente significativo y en la prueba de medias encontramos que los tratamientos 26, 34 y 33 son iguales estadísticamente, sobresaliendo éstos a los 31 restantes.

Zinc

De acuerdo a este elemento analizado, se obtuvo diferencia estadística altamente significativa en el análisis de varianza (Cuadro 5a) y mediante la prueba de Tukey en el Cuadro 15, se observa que el tratamiento que obtuvo la más alta concentración de Zinc fue el 33, con un total de 466.67. El tratamiento que obtuvo la menor concentración fue el 12, con un promedio de 90.00 cuyo C.V. es de 27.43.

Debido a que el análisis de varianza fue altamente significativo y la prueba de medias indica que el tratamiento 13, 34 y del 28 al 32 son iguales estadísticamente, analizando esto, podemos decir que hay una marcada diferencia, ya que sobresalen del resto de las cepas para dicho elemento.

Calcio

Haciendo referencia a este elemento, el análisis de varianza nos re-

porta diferencia estadística altamente significativa entre tratamientos (Cuadro 6a). Encontrándose a través de la prueba de Tukey (Cuadro 26) que el tratamiento 34 fue el que presentó la más alta concentración de Calcio cuyo valor es de 5748.33. Por otra parte, el tratamiento 5 fue el que presentó la menor concentración de dicho elemento, con un promedio de 581.67 presentando un C.V. de 29.27.

El análisis estadístico realizado arrojó resultados altamente significativos y la prueba de medias resultó en una superioridad del tratamiento 34 a la concentración de este elemento, ésta fue la única cepa que mostró marcada superioridad.

Magnesio

El análisis de varianza realizado para esta variable, presenta diferencia estadística altamente significativa entre tratamientos (Cuadro 7a). Al efectuar la prueba de Tukey (Cuadro 17), observamos que el tratamiento 34 fue el que obtuvo la mayor concentración de Magnesio, siendo igual estadísticamente al tratamiento 13, cuyos valores correspondientes son 4340.00 y 4310.00, respectivamente. Cabe mencionar que el tratamiento 16 obtuvo la menor concentración de este elemento, siendo igual estadísticamente a otros siete tratamientos, con un C.V. de 27.29.

Ya que el análisis reporta resultados altamente significativos, siendo confirmado por la prueba de medias, se encontró que el tratamiento 13, 26, 33, 30 y 7 son iguales estadísticamente, pero son superiores al resto de los tratamientos.

Sodio

Refiriéndose a este elemento, el análisis presenta diferencia estadística altamente significativa entre tratamientos (Cuadro 8a), así como también en la prueba de Tukey (Cuadro 18), el tratamiento que presenta la más alta concentración es el 23. También se encontró que el tratamiento 27 fue el que reportó la menor concentración de dicho elemento, siendo únicos tanto para alta como para baja concentración, cuyo C.V. es de 21.95.

Debido a que el análisis de varianza fue altamente significativo y la prueba de medias así lo indica, podemos pensar en la superioridad de una cepa; sin embargo, no existió una diferencia marcada entre 10 de las 34 cepas, siendo iguales desde el punto de vista estadístico (las 10 cepas) y la diferencia entre ellas podría ser por algún efecto aleatorio.

Potasio

En lo que respecta a esta variable, en el análisis de varianza encontramos diferencia estadística altamente significativa entre tratamientos (Cuadro 9a) y mediante la prueba de Tukey en el Cuadro 19, se observa que el tratamiento que obtuvo el más alto promedio para dicho elemento es el 34, cuyo valor correspondiente es 8763.33, siendo único. El tratamiento que obtuvo la menor concentración para esta variable es el 11, siendo igual estadísticamente a otros 24 tratamientos, con un C.V. de 52.40.

En el análisis estadístico realizado reporta resultados altamente significativos y en la prueba de medias encontramos que sobresale el tratamiento 34, siendo única su superioridad para dicha concentración de esta variable.

Análisis de Correlación

Análisis de correlación (Cuadro 20) con los datos observados de todas las variables.

A continuación se mencionan aquellas correlaciones significativas al 0.01 de probabilidad.

El Molibdeno correlacionó positivamente con el Sodio y el Potasio. De las correlaciones anteriores, las de mayor interés son las positivas.

El Cobre correlacionó positivamente con Hierro, Manganeseo, Zinc, Calcio, Magnesio y Potasio.

El Hierro correlacionó positivamente con Manganeseo, Zinc, Calcio, Magnesio y Potasio, y negativamente con Sodio. De las correlaciones anteriores, las de mayor importancia son las positivas y la negativa entre el Hierro y Sodio.

El Manganeseo correlacionó positivamente con Zinc, Magnesio y Potasio.

El Zinc correlacionó positivamente con Calcio, Magnesio y Potasio.

El Calcio correlacionó positivamente con Magnesio y Potasio.

El Magnesio correlacionó positivamente con Potasio.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

En base a los anteriores resultados, podemos concluir lo siguiente para cada elemento.

Cabe mencionar de que no existen datos de las cepas sobre proporciones balanceadas de elementos necesarios para una efectividad del 100%.

Molibdeno

Aún y cuando existe diferencia en el análisis de varianza y en la prueba de medias, no podemos concluir cuál fue el mejor de los 28 de los 34 tratamientos probados, por lo que cualquiera de ellos es superior a los otros 6 restantes.

Cobre

Para este elemento existe una alta diferencia en el análisis de varianza, siendo confirmado por la prueba de medias, ya que son superiores seis tratamientos (26, 33, 29, 28, 27 y 34) de los 28 restantes. Para dicho elemento según el análisis, se puede recomendar dichos tratamientos, ya que sobresalen al resto de las cepas.

Fierro

Aquí sí existe una marcada superioridad de las nueve cepas de Chapingo sobre los restantes, siendo comprobada por la prueba de medias. Por todo lo anterior, se pueden recomendar dichas cepas para esta variable.

Manganeso

En el análisis de varianza y mediante la prueba de medias, se puede concluir que existe una alta diferencia en tres de las nueve cepas de Chapingo (tratamientos 26, 34 y 33), sobresaliendo éstos al resto de los tratamientos para este elemento.

Zinc

Mediante el análisis de varianza, así como también la prueba de medias arrojan las siguientes conclusiones. De que el Nitrobiol (Tratamiento 13), así como siete cepas de Chapingo, son superiores al resto de los tratamientos para esta variable. Por lo que dichas cepas presentan una alta concentración de Zinc.

Calcio y Potasio

La marcada superioridad del tratamiento 34 (cepa 330 de Chapingo), fue dilucida por la prueba de medias, por lo que se concluye que es la mejor cepa para dichos elementos.

Magnesio

Una vez más vuelve a comprobarse en el análisis de varianza, también en la prueba de medias, que siguen sobresaliendo las cepas de Chapingo (Tratamientos 34, 26, 33 y 30), el Nitrobiol (Tratamiento 13) y la cepa 332 (tratamiento 7), ya que dichas cepas presentan una alta concentración para este elemento.

Sodio

Para dicho elemento aún y cuando existe diferencia en el análisis de

varianza y en la prueba de medias, no podemos concluir cuál fue la mejor de las 10 de las 34 cepas analizadas, por lo que cualquiera de ellas es superior a las 24 restantes.

Recomendaciones

La cepa 330 (tratamiento 34) fue superior para Ca y K y en menor proporción para Cu, Fe, Mn, Zn, Mg y Na, siendo ésta la mejor que el resto de los tratamientos.

Se recomienda evaluar esta cepa para confirmar los datos obtenidos en esta investigación y una vez confirmados, probar experimentalmente en invernadero y campo.

La presencia de un mayor número de concentración para dichos elementos es importante, ya que son requeridos para la formación de nódulos, mantener activa la población microbiana, intervienen en el proceso de fijación simbiótica y la cantidad de carbohidratos sintetizados. También son necesarios para la producción de leghemoglobina en el proceso de maduración de los nódulos.

En forma general, las cepas procedentes de Chapingo, sobresalen a las demás por la mayor concentración de nutrientes, por lo anterior, se recomienda evaluar conjuntamente en invernadero y campo dichas cepas para confirmar su efectividad.

R E S U M E N

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Suelos de la Facultad de Agronomía de la UANL, en el municipio de Marín, N.L. durante el período comprendido entre marzo y abril de 1988.

Los objetivos planteados fueron los siguientes:

1. Cuantificar y determinar qué inoculantes son mejores para cada una de las variables analizadas.
2. Evaluar las mejores cepas en función de su procedencia.

Las hipótesis planteadas en este trabajo de investigación fueron:

Ho: No existe diferencia en la concentración de algún elemento entre diferentes cepas bacterianas.

Ha: Existe diferencia cuando menos en algún elemento para alguna cepa bacteriana.

En el experimento se utilizó el diseño Completamente al Azar (DCA) el cual consta de 34 tratamientos con seis repeticiones para cada tratamiento respectivamente, generando 204 unidades experimentales, cuantificando la concentración de cada una de las variables en el Espectrofotómetro de Absorción Atómica.

Las variables analizadas son las siguientes:

Concentración de Molibdeno
 Concentración de Cobre
 Concentración de Fierro
 Concentración de Manganeso
 Concentración de Zinc
 Concentración de Calcio
 Concentración de Magnesio
 Concentración de Sodio
 Concentración de Potasio

NOTA: Cada una de las variables fueron analizadas en absorbancia.

El material que se utilizó fue el siguiente:

1. Treinta y cuatro inoculantes (del género Rhizobium)

Tratamiento	Cepas	Tratamiento	Cepas
1	14	18	N.M. 31
2	138	19	N.M. 35
3	167	20	N.M. 1
4	114	21	N.M. 6
5	171	22	N.M. 7
6	121	23	N.M. 9
7	332	24	N.M. 11
8	318	25	N.M. 12
9	329	26	425-4
10	335	27	138-1
11	330	28	4-6
12	319	29	3-7
13	Nitrobiol	30	138
14	N.M. 33	31	167
15	N.M. 36	32	114
16	N.M. 19	33	Co Qo
17	N.M. 32	34	330

2. Espectrofotómetro de Absorción Atómica FM D4

3. Material de laboratorio necesario

En base a los análisis estadísticos realizados para cada una de las variables bajo estudio, se encontró que hubo una diferencia estadística altamente significativa para cada variable. Esto hace suponer que tanto el análisis del laboratorio como el diseño estadístico (DCA) son confiables, ya que arroja resultados afirmativos.

B I B L I O G R A F I A

1. ALEXANDER, M. 1980. Introducción a la Microbiología del Suelo. Trad. al español por Peña Cabriales, J. AGT Editor, S.A. pp. 327-351.
2. BENET IGLESIAS, J. 1984. Efecto de la persistencia de cepas de Rhizobium phaseoli en base a la nodulación en el cultivo de frijol. Tesis profesional U.A.A.A.N. Saltillo, Coahuila, México. pp. 31-40.
3. BLACK, C.A. 1975. Relaciones suelo-planta. Vol. II. Ed. Hemisferio Sur. Argentina. pp. 562-563.
4. BROCK, T.D. 1978. Biología de los Microorganismos. Ed. Omega. Barcelona España. pp. 406-441.
5. BUCKMAN O., H. y BRADY C., N. 1970. Naturaleza y propiedades del suelo. Ed. Montaner y Simon, S.A. Barcelona, España. pp. 296-297.
6. BUENO J., J.E. 1981. Efecto de tres inoculantes y sus interacciones con niveles de Nitrógeno y Fósforo sobre el rendimiento y contenido de proteína en soya (Glycine max L. Merr.) var. Tropicana. Tesis M.C. Colegio de postgraduados. Chapingo, México.
7. BURROWS, W. 1974. Tratado de Microbiología. 2a. Edición. Editorial Interamericana, México. pp. 195.
8. BURGESS, A. 1960. Introducción a la Microbiología del Suelo. Ed. Acribia pp. 102, 152-153.
9. BURTON, J.C. 1967. Rhizobium culture and use. Microbial technology. Index 450. pp. 1-33.
10. CRONQUIST, A. 1986. Botánica Básica. trad. al español por Marino Ambrosio, A. ed. C.E.C.S.A. México. pp. 442.
11. DAY, M.J. 1976. Influencia de los factores ambientales en la fijación de nitrógeno por las leguminosas. VIII Relar. Cali-Colombia. pp. 90-102.
12. DE LA LOMA, J.L. 1966. Experimentación Agrícola. Ed. UTHEA. pp. 122-125.
13. DEVLIN, M.R. 1975. Fisiología Vegetal. Ed. Omega. Barcelona, España. pp. 280-281.

14. ERDMAN, L. W. 1967. Legume inoculation what it is, what it does, U.S. Department of Agriculture. Farmer's Bulletin. No. 2003.
15. GRAHAM, S.P. 1977. Sistema de producción de frijol. CIAT. Prog. de frijol.
16. MENGEL, J.; M.H. REZA and K. KOCH. 1974. The effect of potassium on the fixation of molecular nitrogen by root nodules of Vicia faba. Plant Physiology. 54:535-538.
17. ODUM, E.P. 1982. Ecología. Ed. C.E.C.S.A. México. pp. 128.
18. ROBLES SANCHEZ, R. 1981. Producción de granos y forrajes. 2a. edición. LIMUSA. México. pp. 541-556.
19. RUSELL, E.J. y RUSELL, E.W. 1968. Condiciones del suelo y el crecimiento de las plantas. Ediciones Aguilar, S.A. Madrid, España. pp. 375-405.
20. SALISBURY B., F.; y C.W., ROS. 1978. Plant physiology. 1a. edición. Ed. Wadsworth, U.S.A. pp. 192-196.
21. SALLE A., J. 1965. Bacteriología. 2a. edición. Ed. Gustavo Gili. Barcelona. España. pp. 679-724.
22. SANCHEZ, M.A. 1964. Microbiología Agrícola. Escuela Nacional Agrícola. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. pp. 128-232.
23. THOMPSON, L.M.; NELSON, L.W. 1962. El suelo y su fertilidad. Ed. Reverté S.A. Barcelona, España. Buenos Aires-México. pp. 206-212.
24. TISDALE, L.W. y NELSON, L.W. 1982. Fertilidad de los suelos y fertilizantes. Ed. UTEHA, S.A. de C.V. Barcelona, España. pp. 139-160.
25. VIRGIL, L.A. and McLEAN, R.A. 1974. Design of experiments. Copyright dekker Marcel, Inc. All rights Reserved. Vol. 5. pp. 396-397.
26. VINCENT J., M. 1975. Manual práctico de Rizobiología. 1a. edición. Hemisferio Sur. Buenos Aires pp. 92, 106-107; 162-163.
27. WHYTE, R.O. y TRUMBLE, H.C. 1968. Las leguminosas en la agricultura. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Yugoslavia. pp. 193-208.

A P E N D I C E

Cuadro 1. Presentación de medias por tratamiento para la variable, Concentración de Molibdeno.

Tratamiento	Media	Tratamiento	Media	Tratamiento	Media
1	45.00	13	30.00	24	50.00
2	43.33	14	28.33	25	56.67
3	33.33	15	35.00	26	38.33
4	31.67	16	33.33	27	38.33
5	50.00	17	26.67	28	38.33
6	31.67	18	23.33	29	31.67
7	35.00	19	30.00	30	40.00
8	45.00	20	40.00	31	41.67
9	38.33	21	53.33	32	41.67
10	43.33	22	48.33	33	50.00
11	30.00	23	50.00	34	53.33
12	36.67				

Media general: 39.46

Cuadro 1a. Análisis de varianza para la variable concentración de Molibdeno.

F.V.	G. de L.	S.C.	C.M.	F.cal.	F. teórica	
					$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
Tratamientos	33	14590.686	442.142	3.289**	1.49	1.75
Error	170	22849.990	134.412			
Total	203	37440.676				

** Altamente significativo

* Significativo

C.V. = 29.38

NS No significativo

NOTA: Los valores de las concentraciones de Molibdeno están dados en absorbancia y multiplicados por diez mil, esto último con el fin de facilitar el análisis, ya que los valores son muy pequeños.

Cuadro 2. Presentación de medias por tratamientos para la variable, concentración de Cobre.

Tratamiento	Media	Tratamiento	Media	Tratamiento	Media
1	28.33	13	43.33	24	28.33
2	33.33	14	35.00	25	21.67
3	30.00	15	36.67	26	78.33
4	36.67	16	20.00	27	61.67
5	28.33	17	25.00	28	63.33
6	26.67	18	38.33	29	66.67
7	50.00	19	41.67	30	51.67
8	33.33	20	16.67	31	50.00
9	30.00	21	18.33	32	48.33
10	30.00	22	30.00	33	76.67
11	18.33	23	25.00	34	58.33
12	36.67				

Media general: 38.73

Cuadro 2a. Análisis de varianza para la variable, concentración de Cobre.

F.V.	G. de L.	S.C.	C.M.	F. cal.	F. teórica	
					$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
Tratamientos	33	54268.629	1644.504	15.531**	1.49	1.75
Error	170	18000.000	105.882			
Total	203	72268.633				

** Altamente significativo

* Significativo

C.V. = 26.56

NS No significativo

NOTA: Los valores de las concentraciones de Cobre están dados en absorbancia y multiplicados por diez mil, esto último con el fin de facilitar el análisis, ya que los valores son muy pequeños.

Cuadro 3. Presentación de medias por tratamiento para la variable, concentración de Fierro.

Tratamiento	Media	Tratamiento	Media	Tratamiento	Media
1	2895.00	13	2066.67	24	476.67
2	2825.00	14	721.67	25	655.00
3	3033.33	15	543.33	26	4298.33
4	2926.67	16	571.67	27	4005.00
5	2195.00	17	586.67	28	3963.33
6	3156.67	18	646.67	29	3875.00
7	3303.33	19	635.00	30	4098.33
8	2858.33	20	326.67	31	3856.67
9	2940.00	21	340.00	32	3876.67
10	2665.00	22	368.33	33	4223.33
11	1971.67	23	325.00	34	4333.33
12	1850.00				

Media general: 2279.80

Cuadro 3a. Análisis de varianza para la variable, concentración de Fierro.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	F. teórica	
					$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
Tratamientos	33	428638880.000	12989057.000	186.598**	1.49	1.75
Error	170	11833696.000	69609.977			
Total	203	440472576.00				

** Altamente significativo

* Significativo

C.V. = 11.57

NS No significativo

NOTA. Los valores de las concentraciones de Fierro están dados en absorbancia y multiplicados por diez mil, ésto último con el fin de facilitar el análisis, ya que los valores son muy pequeños.

Cuadro 4. Presentación de medias por tratamiento para la variable concentración de Manganeso.

Tratamiento	Media	Tratamiento	Media	Tratamiento	Media
1	701.67	13	761.67	24	80.00
2	665.00	14	133.33	25	106.67
3	771.67	15	133.33	26	2555.00
4	680.00	16	145.00	27	1713.33
5	470.00	17	76.67	28	1566.67
6	736.67	18	86.67	29	1466.67
7	1091.67	19	105.00	30	1655.00
8	731.67	20	96.67	31	1393.33
9	811.67	21	103.33	32	1316.67
10	740.00	22	106.67	33	2300.00
11	886.67	23	75.00	34	2518.33
12	743.33				

Media general: 809.56

Cuadro 4a. Análisis de varianza para la variable, concentración de Manganeso.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.cal.	F. teórica	
					$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
Tratamientos	33	105456856.00	3195662.250	36.552**	1.49	1.75
Error	170	14862600.00	87247.063			
Total	203	120319456.00				

** Altamente significativo

* Significativo

C.V. = 36.52

NS No significativo

NOTA: Los valores de las concentraciones de Manganeso están dados en absorbancia y multiplicados por diez mil, esto último con el fin de facilitar el análisis, ya que los valores son muy pequeños.

Cuadro 5. Presentación de medias por tratamiento para la variable concentración de Zinc.

Tratamiento	Media	Tratamiento	Media	Tratamiento	Media
1	298.33	13	330.00	24	175.00
2	226.67	14	168.33	25	191.67
3	220.00	15	140.00	26	415.00
4	245.00	16	141.67	27	276.67
5	203.33	17	128.33	28	406.67
6	223.33	18	140.00	29	420.00
7	198.33	19	140.00	30	411.67
8	220.00	20	176.67	31	346.67
9	228.33	21	178.33	32	316.67
10	175.00	22	183.33	33	466.67
11	156.67	23	161.67	34	418.33
12	90.00				

Media general: 240.88

Cuadro 5a. Análisis de varianza para la variable concentración de Zinc.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F. cal.	F. teórica	
					$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
Tratamientos	33	2173274.750	65856.813	15.081**	1.49	1.75
Error	170	742367.250	4366.866			
Total	203	2915642.000				

** Altamente significativo

* Significativo

C.V. = 27.43

NS No significativo

NOTA: Los valores de las concentraciones de Zinc están dados en absorbancia y multiplicados por diez mil, esto último con el fin de facilitar el análisis, ya que los valores son muy pequeños.

Cuadro 6. Presentación de medias por tratamiento para la variable concentración de Calcio.

Tratamiento	Media	Tratamiento	Media	Tratamiento	Media
1	878.33	13	1610.00	24	1043.33
2	956.67	14	1561.67	25	1081.67
3	1023.33	15	1351.67	26	2570.00
4	931.67	16	1170.00	27	1421.67
5	581.67	17	1588.33	28	1313.33
6	966.67	18	1978.33	29	1723.33
7	2540.33	19	2745.00	30	4518.33
8	1883.33	20	830.00	31	3736.67
9	2271.67	21	828.33	32	3460.00
10	1766.67	22	853.33	33	3178.33
11	733.33	23	860.00	34	5748.33
12	998.33				

Media General : 1785.39

Cuadro 6a. Análisis de varianza para la variable, concentración de Calcio.

F.V.	Gl.	S.C.	C.M.	F: cal.	F. teórica $\alpha=0.05$	F. teórica $\alpha=0.01$
Tratamiento	33	278551808.00	8440964.00	30.904**	1.49	1.75
Error	170	46433088.00	273135.812			
Total	203	324984896.00				

** Altamente significativo

* Significativo

C.V. = 29.27

NS No significativo

NOTA: Los valores de las concentraciones de Calcio están dados en absorbancia y multiplicados por diez mil, esto último con el fin de facilitar el análisis, ya que los valores son muy pequeños.

Cuadro 7. Presentación de medias por tratamiento para la variable, concentración de Magnesio.

Tratamiento	Media	Tratamiento	Media	Tratamiento	Media
1	1933.34	13	4310.00	24	918.33
2	1826.67	14	1206.67	25	1036.67
3	1865.00	15	1161.67	26	3873.33
4	1743.33	16	870.00	27	2683.33
5	933.33	17	1185.00	28	2990.00
6	1818.33	18	1550.00	29	2665.00
7	3233.33	19	2438.33	30	3430.00
8	2506.67	20	965.00	31	2815.00
9	2321.67	21	956.67	32	2761.67
10	2400.00	22	961.67	33	3585.00
11	1948.33	23	881.67	34	4340.00
12	1613.33				

Media General = 2109.66

Cuadro 7a. Análisis de varianza para la variable, concentración de Magnesio.

F.V.	Gl.	S.C.	C.M.	F. cal.	F. teórica	
					$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
Tratamientos	33	212042256.00	6425523.00	19.373**	1.49	1.75
Error	170	56383376.00	331666.906			
Total	203	268425648.0				

** Altamente significativo

* Significativo

C.V. = 27.29

NS No significativo

NOTA: Los valores de las concentraciones de Magnesio están dados en absorbancia y multiplicados por diez mil, esto último con el fin de facilitar el análisis, ya que los valores son muy pequeños.

Cuadro 8. Presentación de medias por tratamiento para la variable concentración de Sodio.

Tratamiento	Media	Tratamiento	Media	Tratamiento	Media
1	291.67	13	1047.67	24	1046.67
2	326.67	14	331.67	25	1085.00
3	346.67	15	468.33	26	583.33
4	421.67	16	383.33	27	176.67
5	345.00	17	378.33	28	460.00
6	381.67	18	630.00	29	441.67
7	776.67	19	786.67	30	585.00
8	930.00	20	1040.00	31	508.33
9	788.33	21	1021.67	32	461.67
10	855.00	22	1031.67	33	685.00
11	300.00	23	1095.00	34	800.00
12	351.67				

Media General: 622.25

Cuadro 8a. Análisis de varianza para la variable, concentración de Sodio.

F.V.	Gl.	S.C.	C.M.	F. cal.	F. teórica	
					$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
Tratamientos	33	16240630.00	492140.312	26.367**	1.49	1.75
Error	170	3171931.00	18658.418			
Total	203	19412562.00				

** Altamente significativo

* Significativo

C.V. = 21.95

NS No significativo

NOTA: Los valores de las concentraciones de Sodio están dados en absorbancia y multiplicados por diez mil, esto último con el fin de facilitar el análisis, ya que los valores son muy pequeños.

Cuadro 9. Presentación de medias por tratamiento para la variable concentración de Potasio.

Tratamiento	Media	Tratamiento	Media	Tratamiento	Media
1	36.67	13	113.33	24	106.67
2	58.33	14	26.67	25	80.00
3	33.33	15	25.00	26	2187.33
4	45.00	16	30.00	27	2530.00
5	41.67	17	33.33	28	2303.33
6	38.33	18	30.00	29	1753.33
7	36.67	19	38.33	30	3045.00
8	60.00	20	58.33	31	3453.33
9	46.67	21	135.00	32	4526.67
10	61.67	22	121.67	33	6418.33
11	23.33	23	65.00	34	8763.33
12	33.33				

Media General: 1069.12

Cuadro 9a. Análisis de varianza para la variable, concentración de Potasio.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.cal.	F.teórica $\alpha=0.05$ $\alpha=0.01$	
Tratamientos	33	842658432.000	25535104.000	81.345**	1.49	1.75
Error	170	53364608.000	313903.469			
Total	203	896023040.000				

** Altamente significativo

* Significativo

C.V. = 52.40

NS No significativo

NOTA: Los valores de las concentraciones de Potasio están dados en absorbancia y multiplicados por diez mil, esto último con el fin de facilitar el análisis, ya que los valores son muy pequeños.

Cuadro 10. Conversión de las absorbancias a ppm para cada uno de los elementos con sus respectivas betas.

Elemento	B ₀	B ₁	Absorbancia	Conversión a ppm
Mo	0.0045788	0.0007454	Y ₁ 45.00 ÷ 10000 Y ₂ 43.33 ÷ 10000	
Cu	-0.001669361	0.051667993	Y ₁ 28.33 ÷ 10000 Y ₂ 33.33 ÷ 10000	21.627 24.047
Fe	-0.0006	0.013	Y ₁ 2895.00 ÷ 10000 Y ₂ 2825.00 ÷ 10000	5578.84 5444.25
Mn	-0.0021465	0.0404671	Y ₁ 701.67 ÷ 10000, Y ₂ 665.00 ÷ 10000	446.94 424.08
Zn	-0.0077725	0.1113503	Y ₁ 298.33 ÷ 10000 Y ₂ 226.67 ÷ 10000	84.35 68.41
Ca	0.07319998	0.01545385	Y ₁ 878.33 ÷ 10000 Y ₂ 956.67 ÷ 10000	4723.74 7279.74
Mg	0.1081819	0.1162954	Y ₁ 1933.34 ÷ 10000 Y ₂ 1826.67 ÷ 10000	4574.45 4004.78
Na	-0.0171905	0.1091786	Y ₁ 291.67 ÷ 10000 Y ₂ 326.67 ÷ 10000	2655.65 2856.01
K	-0.0371789	0.0341684	Y ₁ 36.67 ÷ 10000 Y ₂ 58.33 ÷ 10000	7477.46 7861.59

$$X_1 = \frac{Y_1 - B_0}{B_1} = X_1 = \text{ppm en la curva}$$

ppm en la curva X fd = ppm total

Donde Y₁, Y₂ = Lect. en absorbancia
 fd para Cu, Ma, Fe y Zn es 250
 fd para Ca es 5000
 fd para Mg, Na, K es 6250
 fd = factor de dilución.

NOTA. Para ejemplificar el Mo, los valores en la curva de calibración salen negativos, por tal motivo no se exponen en la conversión, tal vez aumentando el peso de la muestra nos den resultados positivo.

.NOTA: Los valores para cada una de las variables que a continuación se presentan están dados en absorbancia y multiplicados por diez mil, esto último con el fin de facilitar el análisis (estadístico), ya que los valores son muy pequeños.

Cuadro 11. Resultados de la prueba de Tukey para determinar la mejor cepa para la variable Molibdeno.

25 = 56.67	a			
21 = 53.33	a	b		
34 = 53.33	a	b		
33 = 50.00	a	b	c	
5 = 50.00	a	b	c	
23 = 50.00	a	b	c	
24 = 50.00	a	b	c	
22 = 48.33	a	b	c	d
1 = 45.00	a	b	c	d
8 = 45.00	a	b	c	d
2 = 43.33	a	b	c	d
10 = 43.33	a	b	c	d
31 = 41.67	a	b	c	d
32 = 41.67	a	b	c	d
20 = 40.00	a	b	c	d
30 = 40.00	a	b	c	d
27 = 38.33	a	b	c	d
28 = 38.33	a	b	c	d
26 = 38.33	a	b	c	d
9 = 38.33	a	b	c	d
12 = 36.67	a	b	c	d
7 = 35.00	a	b	c	d
15 = 35.00	a	b	c	d
3 = 33.33	a	b	c	d
16 = 33.33	a	b	c	d
4 = 31.67	a	b	c	d
6 = 31.67	a	b	c	d
29 = 31.67	a	b	c	d
11 = 30.00		b	c	d
13 = 30.00		b	c	d
19 = 30.00		b	c	d
14 = 28.33		b	c	d
17 = 26.67			c	d
18 = 23.33				d

Cuadro 13. Resultados de la prueba de Tukey para determinar la mejor cepa para la variable Fierro.

34 = 4333.33	a								
33 = 4323.33	a								
26 = 4298.33	a								
30 = 4098.33	a								
27 = 4005.00	a								
28 = 3963.33	a								
32 = 3876.67	a	b							
29 = 3875.00	a	b							
31 = 3856.67	a	b							
7 = 3303.33		b	c						
6 = 3156.67			c	d					
3 = 3033.33			c	d					
9 = 2940.00			c	d					
4 = 2926.67			c	d					
1 = 2895.00			c	d					
8 = 2858.33			c	d					
2 = 2825.00				d					
10 = 2667.00				d	e				
5 = 2195.00					e	f			
13 = 2066.67						f			
11 = 1971.67						f			
12 = 1850.00						f			
14 = 721.67							g		
25 = 655.00							g		
18 = 646.67							g		
19 = 635.00							g		
17 = 586.67							g		
16 = 571.67							g		
15 = 543.33							g		
24 = 476.67							g		
22 = 368.33							g		
21 = 340.33							g		
20 = 326.67							g		
23 = 325.00							g		

Cuadro 19. Resultados de la prueba de Tukey para determinar la mejor cepa para la variable Potasio.

34 = 8763.33	a					
33 = 6418.33		b				
32 = 4526.67			c			
31 = 3453.33			c	d		
30 = 3045.00				d	e	
27 = 2530.00				d	e	f
28 = 2303.33				d	e	f
26 = 2178.33					e	f
29 = 1753.33						f
21 = 135.00						g
22 = 121.67						g
13 = 113.33						g
24 = 106.67						g
25 = 80.00						g
23 = 65.00						g
10 = 61.67						g
8 = 60.00						g
2 = 58.33						g
20 = 58.33						g
9 = 46.67						g
4 = 45.00						g
5 = 41.67						g
6 = 38.33						g
19 = 38.33						g
1 = 36.67						g
7 = 36.67						g
12 = 33.33						g
17 = 33.33						g
3 = 33.33						g
16 = 30.00						g
18 = 30.00						g
14 = 26.67						g
15 = 25.00						g
11 = 23.33						g

Cuadro 20. Análisis de correlación para cada una de las variables evaluadas.

	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₈	X ₉
		0.0953	0.0382	0.0976	0.1480	0.1025	-0.0255	0.2707**	0.1995**
		0.175	0.588	0.165	0.035	0.144	0.717	0.000	0.004
			0.6442**	0.7718**	0.6778**	0.5266**	0.6380**	-0.1393	0.5942**
			0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.647	0.000
				0.8708**	0.7197**	0.5290**	0.7439**	-0.3197	0.6105**
				0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
					0.8096**	0.6437**	0.8050**	-0.1562	0.7452**
					0.000	0.000	0.000	0.026	0.000
						0.5315**	0.6806**	-0.0209	0.6440**
						0.000	0.000	0.767	0.000
							0.7057**	0.1285	0.7386**
							0.000	0.067	0.000
								0.1117	0.6053**
								0.112	0.000
									-0.0128
									0.885
									X ₉
Variables:									
X ₁ Molibdeno									
X ₂ Cobre									
X ₃ Hierro									
X ₄ Manganeso									
X ₅ Zinc									
X ₆ Calcio									
X ₇ Magnesio									
X ₈ Sodio									
X ₉ Potasio									

Cuadro 21. Concentración de niveles de los tratamientos.

Elementos Niveles	Molibdeno	Cobre	Hierro	Manganeso	Zinc
Altos	25, 21, 34, 33, 5, 23, 24, 22, 1, 8, 2, 10	26, 33, 39, 28, 27, 34, 30, 31, 7, 32, 13, 19	34, 33, 26, 30, 27, 28, 32, 29, 31, 7, 6, 3,	26, 34, 33, 27, 30, 28, 29, 31, 32, 7, 11, 9,	33, 29, 34, 30, 26, 28, 31, 13, 32, 1, 27, 4,
Medios	31, 32, 20, 30, 27, 28, 26, 9, 12, 7, 15,	18, 4, 12, 15, 14, 2, 8, 3, 9, 10, 22,	9, 4, 1, 8, 2, 10, 5, 13, 11, 12, 14,	3, 13, 12, 10, 6, 8, 1, 4, 2, 5, 16, 21, 20,	9, 2, 6, 3, 8, 5, 7, 25, 22, 21, 20,
Bajos	3, 16, 4, 6, 29, 11, 13, 19, 14, 17, 18,	5, 24, 1, 1, 17, 23, 25, 16, 11, 21, 20,	25, 18, 19, 17, 16, 15, 24, 22, 21, 20, 23,	14, 15, 22, 25, 19, 21, 20, 18, 24, 17, 23,	10, 24, 14, 23, 11, 16, 15, 19, 17, 18, 12,
		Calcio	Sodio	Potasio	
Altos	30, 34, 31, 32, 33, 19, 26, 7, 9, 18, 8, 10,	34, 13, 26, 33, 30, 7, 28, 31, 32, 27, 28, 8,	23, 25, 24, 13, 20, 22, 21, 8, 10, 34, 9, 19,	34, 33, 32, 31, 30, 27, 28, 26, 29, 21, 22, 13,	
Medios	29, 13, 17, 14, 27, 15, 28, 16, 25, 24, 3,	19, 10, 9, 11, 1, 3, 2, 6, 4, 12, 18,	7, 33, 18, 30, 26, 31, 15, 32, 28, 29, 4,	24, 25, 23, 10, 8, 2, 20, 9, 4, 5, 6,	
Bajos	12, 6, 2, 4, 1, 23, 22, 20, 21, 11, 5,	14, 17, 15, 25, 20, 22, 21, 5, 24, 23, 16,	16, 6, 17, 12, 3, 5, 14, 2, 11, 1, 27,	19, 1, 7, 12, 17, 3, 16, 18, 14, 15, 11,	

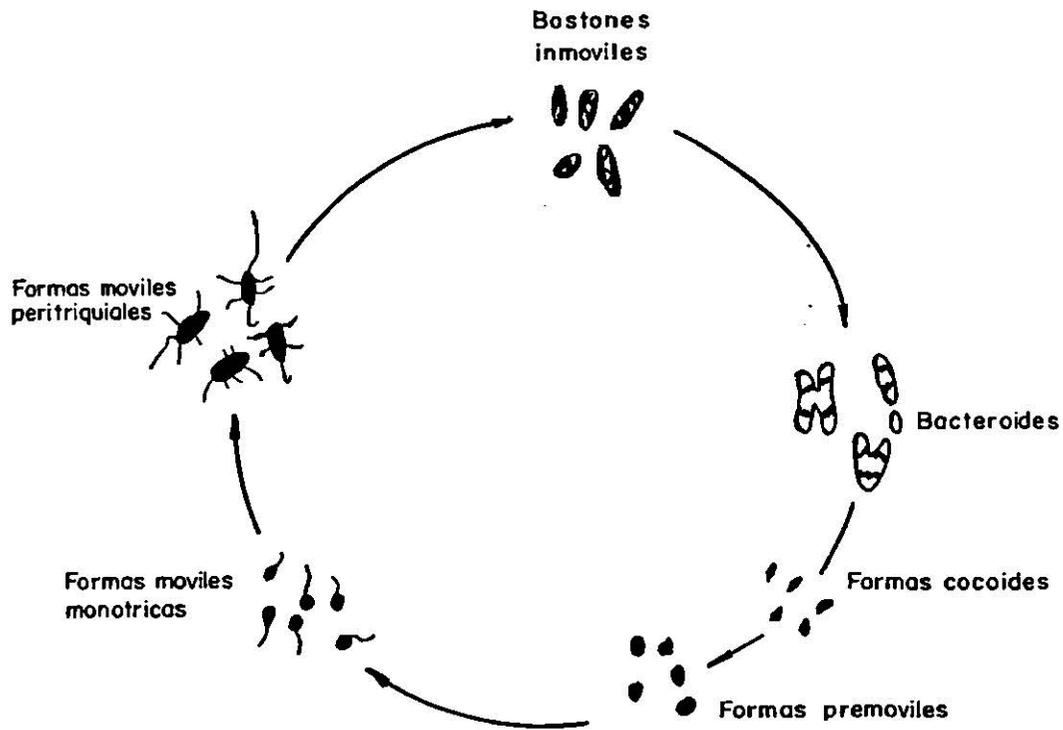


Figura 1. Ciclo del *Rhizobium leguminosarum* mostrando su pleomorfismo (Rubio y Tijerina, citados por Sánchez 1964).

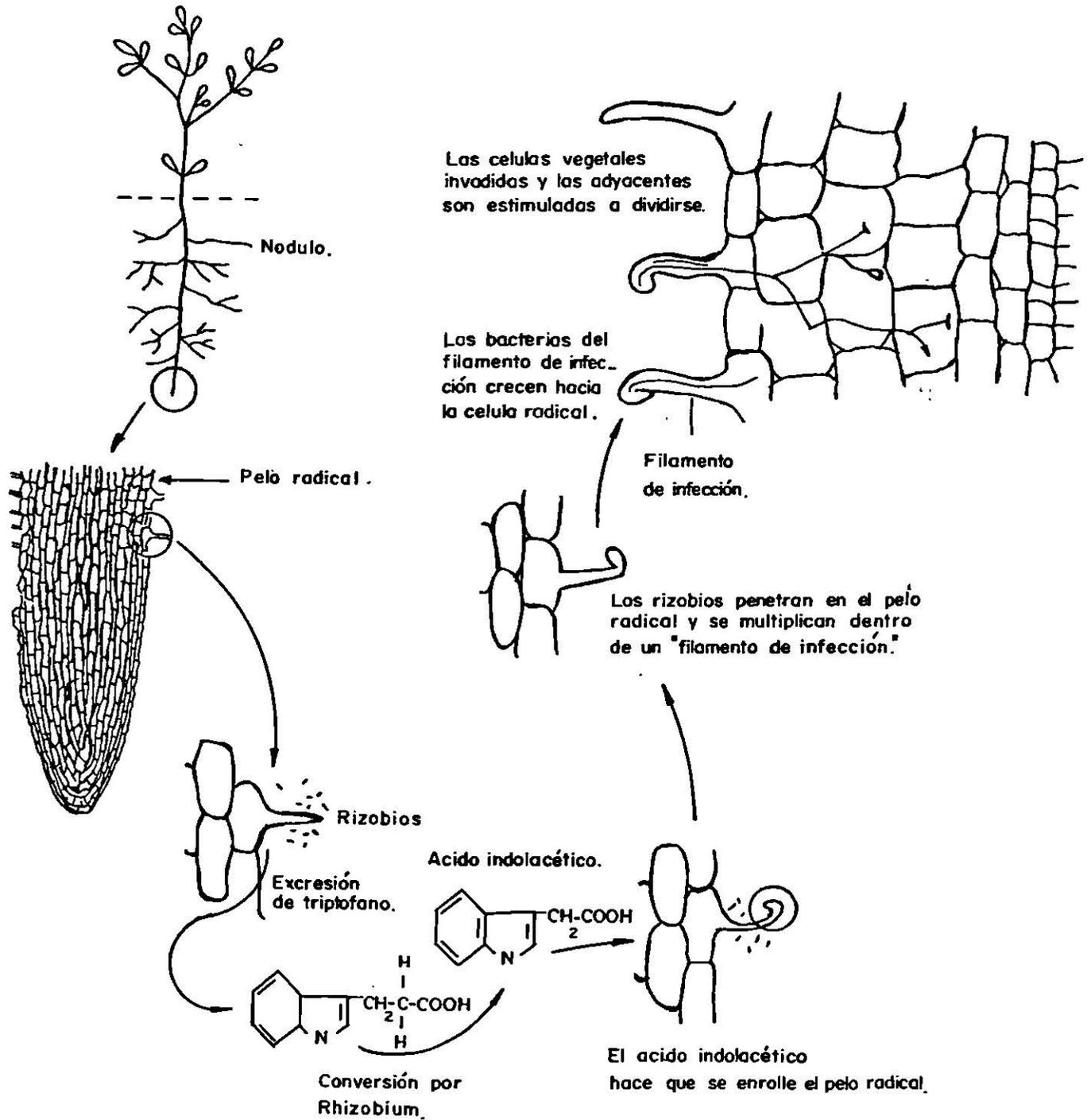


Figura 2. Etapas de la infección y desarrollo de los nódulos radiculares (Brock, 1978) (5).

