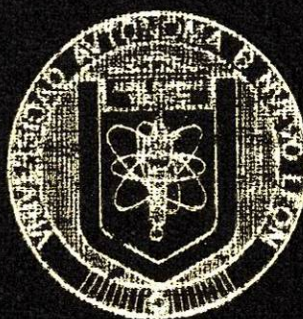


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA



EVALUACION DE 5 CEPAS DE Rhizobium
japonicum EN SOYA (Glycine max L. Merrill)
EN MARIN, N. L.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA

PRESENTA
ABIEL GARZA LOPEZ

MARIN, N. L.

AGOSTO DE 1985

T

SB205

.S7

G371

C.1



1080062452

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA



EVALUACION DE 5 CEPAS DE Rhizobium
japonicum EN SOYA (Glycine max L. Merrill)
EN MARIN, N. L.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA

PRESENTA
ABIEL GARZA LOPEZ

MARIN, N. L.

AGOSTO DE 1985

2700 *Bm*

T/
SB205
.57
.G371



040.635

FA11

1985

C.5

CON GRAN AMOR

A MIS PADRES:

SR. ANDRES GARZA MORALES
SRA. OLIVIA LOPEZ DE GARZA

Por su eterna confianza en mí y por haberme
dado sus consejos, comprensión y sobre todo
su amor, logrando guiarme por un sendero
luminoso de los que tiene la vida.

MIS HERMANOS:

OLIVIA

ANDRES

BENITO

AMERICO

Quienes con su gran apoyo
hicieron posible la culmi
nación de mi carrera.

A MIS CUÑADAS:

M^a del PILAR MARTINEZ

M^a de los ANGELES PASCACIO

A MIS SOBRINAS (OS):

LAURA OLIVIA

BRICHEIDY EMERISELA

DEAR HATZIEL

HECTOR PAVEL

ANNYA KORINNA

ABRIL NICTE

A MIS TIAS:

Srita. ECILIA LOPEZ GARCIA

Sra. AGUSTINA GARZA Vda de T.

A MI ASESOR:

Ing. RONALD JORGE LECEA JUAREZ

Por sus valiosas sugerencias en la planeación,
dirección y revisión del presente trabajo.

A LOS MAESTROS:

Dr. RIGOBERTO E. VAZQUEZ ALVARADO

Ing. FRANCISCO RODRIGUEZ ESQUIVEL

Por sus acertadas sugerencias y facilidades
prestadas para la elaboración de este trabajo.

A MIS Maestros, Compañeros y Amigos,
con quienes compartí una etapa muy
importante de mi vida.

II.DICE

	Pag.
I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	3
III. REVISION BIBLIOGRAFICA	8
3.1 Importancia del cultivo de soya	8
3.2 Historia y origen geográfico	9
3.3 Clasificación	10
3.4 Descripción botánica	12
3.5 Factores limitantes en la producción de soya	15
3.6 Conocimientos generales sobre el género <u>Rhizobium</u>	16
3.7 Fijación simbiótica de nitrógeno	19
3.8 Factores que afectan la fijación de nitrógeno	25
IV. OBJETIVOS E HIPOTESIS	29
V. MATERIALES Y METODOS	30
5.1 Localización del sitio experimental	30
5.2 Características agronómicas de la variedad Júpiter	31
5.3 Diseño experimental y descripción de tratamientos	32
5.4 Preparación del terreno	33
5.5 Inoculación	33
5.6 Siembra	34

	Pag.
5.7 Labores culturales	34
5.8 Riegos	35
5.9 Cosecha	35
5.10 Variables estudiadas	35
VI. RESULTADOS	37
VII. DISCUSION Y CONCLUSIONES	40
VIII. RECOMENDACIONES	42
IX. RESUMEN	43
X. BIBLIOGRAFIA	45
XI. APENDICE	54

INDICE DE TABLAS, FIGURAS Y CUADROS

	Pag.
Tabla I. Análisis de la composición de la semilla de soya	54
Tabla II. Las distintas especies de <u>Rhizobium</u> y sus hospedantes	55
Tabla III Temperaturas máximas, mínima y media (grados centígrados) registradas durante el desarrollo del experimen to. Obtenidos de la estación meteo rológica de la F. A. U. A. N. L. Marín, N. L. 1984	56
Tabla IV. Precipitación registrada (milímetros) durante el desarrollo del experimento. Obtenidas de la estación meteorológica de la F. A. U. A. N. L. Marín, N. L. 1984	56
Tabla V. Determinación de las propiedades promedio físicas y químicas del suelo y subsuelo del sitio experimental	57
Figura 1. Infección de una raíz por <u>Rhizobium</u> a partir del extremo radical.	58
Figura 2. Fijación del nitrógeno: Pasos en la reducción de N_2 a $1.H_3$	59
Figura 3. Distribución de los tratamientos al azar en el sitio experimental. Evaluación de 5 cepas de <u>Rhizobium japonicum</u> en soya.	60

Cuadro 1.	Concentración de datos tomados en la evaluación de 5 cepas de <u>Rhizobium japonicum</u> en soya (<u>Glycine max</u> L. Merril). Marín, N. L.	61
Cuadro 2.	Análisis de varianza para peso de los granos. Evaluación de 5 cepas de <u>Rhizobium japonicum</u> en soya kg/ha.	62
Cuadro 3.	Análisis de varianza para peso de plantas. Evaluación de 5 cepas de <u>Rhizobium japonicum</u> en soya.	62
Cuadro 4.	Análisis de varianza para número de vainas. Evaluación de 5 cepas <u>Rhizobium japonicum</u> en soya	63
Cuadro 5.	Análisis de varianza para peso de vainas con grano. Evaluación de 5 cepas de <u>Rhizobium japonicum</u> en soya. (gramos/vaina con grano).	63
Cuadro 6.	Análisis de varianza para número de granos por vaina. Evaluación de 5 cepas de <u>Rhizobium japonicum</u> en soya.	64
Cuadro 7.	Análisis de varianza para porcentaje de nitrógeno de la parte aérea de la planta. Evaluación de 5 cepas de <u>Rhizobium japonicum</u> en soya.	64

Cuadro 8.	Determinación de nitrógeno de la parte aérea de la planta	65
Cuadro 9.	Determinación de nitrógeno consumido por la planta del suelo	66
Cuadro 10.	Determinación de nitrógeno fijado por la planta	67

I. INTRODUCCION

El cultivo de la soya (Glycine max L. Merril), por sus propiedades alimenticias e industriales, ocupa un lugar importante en la agricultura mundial, debido a que la demanda de aceites--comestibles y materias primas con alto contenido de proteínas--aumenta cada año en forma considerable.

En nuestro país este cultivo se encuentra perfectamente --establecido en la región noroeste y próximo a cultivarse en ---áreas potencialmente adecuadas a ésta leguminosa, propósito que obedece a dos razones principalmente: Satisfacer la demanda de aceites comestibles y enriquecer una dieta alimenticia deficiente en proteínas, tanto en la alimentación humana como animal.(62)

La soya, como toda leguminosa, es gran consumidora de nitrógeno, ésta característica puede presentar un serio problema para el establecimiento de este cultivo en áreas potenciales, debido--al alto costo de los fertilizantes nitrogenados. Pero, las plantas pertenecientes a ésta familia poseen la facultad para fijar el nitrógeno atmosférico a partir de la simbiosis con bacterias del género Rhizobium, evitando en muchos casos el uso de fertilizantes nitrogenados, reduciendo así sus costos de producción.

Durante 1980 se obtuvo una producción de 311,668 toneladas,

teniendose un consumo nacional de 833,220 toneladas, creandose un déficit de 521,552 toneladas. Como se ve ésta producción ha sido insuficiente para satisfacer el consumo nacional, el cual muestra un crecimiento mayor al de la producción.

Ante ésta panorámica y tomando en cuenta la importancia de la soya en la alimentación y economía Mexicana, es importante -- llevar a cabo la promoción y expansión del cultivo en superficies con posibilidades de adaptarse.

Por lo anterior, el presente trabajo tuvo como finalidad la evaluación de 5 cepas del género Rhizobium en el cultivo de soya para la región de Marín Nuevo León.

II. ANTECEDENTES

La fijación de nitrógeno por medios biológicos es una de las alternativas con que pudiera contar el hombre en el futuro como un sustituto a el empleo de fertilizantes nitrogenados,

Existen reportes que señalan la factibilidad del uso de -- cepas eficazes de Rhizobium en el reemplazo del nitrógeno fertilizante y en el incremento del rendimiento económico de las plantas leguminosas.

INIA (1967), reporta en base a 50 publicaciones, valores -- medios de nitrógeno fijado por hectárea y por año, correspondiendo al cultivo de soya la cantidad de 94 kilogramos.

Mientras que Vincent(1976) señala que la simbiosis ----- Rhizobium - Leguminosa, es capaz de fijar de 200 a 400 kgs, de nitrógeno por hectárea en un ciclo de cultivo. Cantidad que puede llegar a ser suficiente para cubrir su ciclo biológico.

La importancia de estudiar la relación planta - bacteria se puede justificar tomando en cuenta la cantidad de fertilizante nitrogenado que se puede ahorrar anualmente por éste concepto.

Los primeros hallazgos sobre ésta relación simbiótica se -- llevaron a cabo por el año de 1800, cuando el ruso Sergio Winogradsky descubrió la importancia de las bacterias fijadoras de -

nitrógeno atmosférico que combinados con otros elementos lo tornaban aprovechable para la planta.

En 1838, Boussingault estableció un experimento con dos -- leguminosas (chicharo y trébol) y una gramínea (trigo) encontrando que el nitrógeno de las semillas cosechadas se incrementó significativamente con respecto al de las semillas de leguminosa sembrada, más no en el trigo; este nitrógeno por lo visto fué -- tomado del aire. Broun, et al. (1932): Citado por Mejía (1982).

Beijerinck en 1888, logró aislar el organismo del nódulo --- radicular, al que denominó Bacillus radicicola, que posteriormente se le designó con el nombre genérico de Rhizobium. (10). En ése mismo año Hellriegel y Willfarth demostraron la existencia de una asociación simbiótica entre leguminosas y bacterias del género Rhizobium. (3).

Como la soya es uno de los cultivos que manifiesta excelente respuesta a la inoculación con cepas específicas, se han hecho en México estudios más detallados sobre la simbiosis llevada a cabo entre la soya y Rhizobium japonicum, destacando los siguientes:

Crispín et al (1964), realizando estudios en la región - del Bajío sobre el efecto combinado de inoculantes y fertilizadores.

ción en soya, encontró que los rendimientos de las parcelas sin fertilizar se incrementaron de 993 a 2 735 kg/ha. Únicamente empleando los inoculantes.

García y Moncada (1969), realizaron experimentos durante tres años en suelos de las series Bachimba y Delicias; con el -- objetivo de evaluar efectos de inoculación y fertilización, obteniendo las siguientes conclusiones: (1) La practica de inoculación de la semilla de soya, originó incrementos considerables en el rendimiento de grano; (2) Existen respuestas a la aplicación de fertilizantes químicos nitrogenados y fosfatados; (3) En las dos series de suelos, es necesaria la practica combinada de inoculantes y fertilización para obtener los óptimos rendimientos desde la interacción significativa que existe entre los dos factores en estudio; (4) Para siembra de soya después de trigo en suelos de la serie Bachimba y Delicias, la fertilización óptima resultó ser 30 - 40 - 00; (5) Para siembra de soya después de -- sorgo en suelos de la serie Bachimba la fertilización óptima -- resultó ser de 60 - 40 - 00.

Abel et al (1976), indica que la inoculación en soya con líneas eficientes de Rhizobium japonicum incrementa la producción de grano en suelos donde la bacteria está ausente ó en baja cantidad, dado que en experimentos realizados en suelos -- donde la soya había sido cultivada en años anteriores, no se -- obtuvieron incrementos en la producción por efecto de inoculación.

INIA (1976), menciona que en experimentos realizados en la región de la Huasteca, se obtuvieron mejores resultados con la práctica de inoculantes en lugares donde no se haya sembrado esta leguminosa. Observando que en el caso de terrenos que se han sembrado el año anterior con soya inoculada, no se ha encontrado respuesta a la inoculación, lo cual se debe a que el inóculo (Rhizobium japonicum) sobrevive en el suelo.

Freire (1978), realizó un experimento con 5 variedades de soya en suelo de primer plantío sin Rhizobio nativo, además de un inoculante mixto, constituido por tres cepas de Rhizobium japonicum, en tratamientos de inoculación y no inoculación. Los resultados mostraron que existió incremento en la producción de grano (promedio de las 5 variedades probadas) del 50 % por efecto atribuible a la inoculación.

Férrera - Cerrato y Jalpa (1980), establecieron 2 experimentos, uno en Tepeitic y otro en Yohualichan en el estado de Puebla, probando cuatro inoculantes específicos para soya (Cp_2 , Cp_8 , Cp_9 , y Cp_{21}) utilizando la variedad Cajeme. Reportaron incrementos en el rendimiento de grano con el empleo de inoculantes sobre los tratamientos sin inoculación. Para Tepeitic, comparando la fórmula de fertilización (00-60-00) sin y con aplicación de inoculantes se incrementaron los rendimientos a favor de los cuatro inoculantes; siendo significativo únicamente el incremento obtenido cuando la semilla fué inoculada con la cepa Cp_{21} . Sin embargo, comparando los mismos tratamientos; los aumentos obtenidos con la inoculación en Yohualichan no fueron significativos.

III. REVISION BIBLIOGRAFICA

3.1 Importancia del cultivo de soya

Dentro del sistema económico de México la soya representa un aspecto estratégico importante, ya que además de suministrar un elemento fundamental en la dieta de la población, proporciona el insumo principal a la industria de alimentos balanceados.

La soya por contener de 36.8 a 48.5 % de proteína es considerada como uno de los nutrimentos vegetales de más alto contenido proteínico. La proteína de la soya es considerada completa, esto significa que está formada por los ocho aminoácidos esenciales, además de resultar un cultivo en especial benéfico para el enriquecimiento de los suelos; debido a que es capaz de producir una simbiosis con la bacteria Rhizobium, y cuya acción biológica en conjunto, puede volver al suelo más fértil y productivo; de aquí que ha llegado a llamarse el alimento del futuro. (56,59)

La importancia y valor de la soya fueron realmente apreciados a partir de la gran demanda del ejército en alimentos ricos en proteínas durante la segunda guerra mundial. Otro valor histórico de este cultivo es situado en Europa y Asia, cuando se usaron grandes cantidades de harina de soya para alimentar a millones de gentes muriendo de hambre en estos continentes.

Pero a pesar de que la soya día con día esta ganando popularidad para su uso en dietas balanceadas para animales, y ahora más directamente o mezclada con otros componentes para consumo humano, la escasez de aceites comestibles y proteínas se acentúan a medida que transcurren los años. Esto, aunado con el creciente aumento de población, hace necesario tomar en cuenta el cultivo de la soya, ya que mediante el estudio de todas sus fases culturales, agronómicas, industriales y domésticas podrá llegar a ser una fuente principal de proteína vegetal que estará al alcance de todos los sectores.

3.2 HISTORIA Y ORIGEN GEOGRAFICO

La soya (Glycine max L. Merrill), según Vavilov, es originaria de china, desde donde se extendió a gran parte de los países Asiáticos y algunos Europeos para posteriormente pasar al continente Americano por el año de 1712, haciendose en éste mismo año la primera descripción de la planta por Mease. (55)

La primera mención que se hace de la soya se encuentra en una publicación médica, escrita por el emperador Sheng Nung en el año de 2838 a.c. en donde describe las plantas de China. (59)

Linneo (1737), bautizó a la soya con el nombre de ----

Phaseolus max por su gran parecido al frijol común de América, después de muchos años Moench la denominó Soja max, durando con este nombre casi cien años, después de los cuales se le cambió a Glycine max que es con el que se le conoce actualmente. (55)

En México, es un cultivo de reciente introducción y las primeras noticias que se tienen datan de 1911, cuando la Secretaría de Agricultura y Fomento la introdujo de manera experimental, pero debido al poco interés mostrado por los campesinos y pequeños propietarios, los trabajos fueron abandonados. Siendo hasta el año de 1959 cuando se logró establecer comercialmente en el valle del Yaqui, llegando a sembrarse una superficie de 1600 hectáreas. (59)

Actualmente la soya se encuentra distribuida en los siguientes estados: Aguascalientes, Baja California, Coahuila, Chiapas, Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Sinaloa, Sonora, Yucatán.

3.3 CLASIFICACION

3.3.1. Origen Citogénético

La soya (Glycine max L. Merrill), se cree que fué derivandose de la especie silvestre Glycine ussuriensis, que es una -- planta delgada, de guía de crecimiento bajo, de semilla peque

Ha y se encuentra en países como Japón, Manchurría y Corea. Hay una tercera especie, la G. gracilis que es intermedia entre -- G. max y G. ussuriensis, encontrándose en forma silvestre y cultivada en Manchúrria. Las tres especies tienen un número cromomómico de $2n: 40$, pudiendo producir cruza^s fértiles. (38)

De acuerdo con Mateo Box, El género Glycine comprende de 12 a 15 especies, siendo G. max una de las de mayor importancia ecónómica. (55)

3.3.2 TAXONOMIA

El cultivo de soya se clasifica de la siguiente manera:

Reino :	Vegetal
Subreino :	Embryophyta
División :	Tracheophyta
Subdivisión :	Pteropsidae
Clase :	Angiospermae
Subclase :	Dicotyledoneae
Orden :	Rosales
Familia :	Leguminosae
Subfamilia :	Papilionideae
Tribu :	Phaseoleae

Género: Glycine

Especie: max

3.4 DESCRIPCION BOTANICA

La soya es una planta herbácea, anual, tipo erecto de mata y con follaje abundante; puede variar en altura de 30.5 a 98 cms dependiendo de la variedad y de las condiciones en que se desarrolla.

Algunas variedades son de crecimiento indeterminado, otras son de crecimiento determinado, la mayor parte de las variedades tienen una pubescencia café o gris tanto en los tallos como en las vainas y en las hojas. (63)

3.4.1. RAIZ

Tiene un sistema bien desarrollado y abundante nodulación, es pivotante con ramificaciones laterales; la raíz central de la planta es menos pronunciada que en otras leguminosas. Al finalizar su ciclo de crecimiento penetra hasta una profundidad de 1.5 metros o más, en suelos bien drenados. (63)

La mayor cantidad de raíces se encontrará en los 30 cms. más próximos a la superficie, con un desarrollo notable en los 15 cms. superiores. Los primeros nódulos aparecen en el curso de la

semana posterior al afloramiento de la plántula. (2) .

3.4.2. TALLO

Posee un tallo principal dominante con ramificación, cuyo número, ubicación y longitud da a la planta su porte característico. En suelos fértiles y húmedos el tallo tiene un crecimiento desmezurado con entre nudos largos y escasas ramificaciones. (55,63)

3.4.3. HOJAS

La hoja es compuesta y está integrada por tres folíolos de forma oval, oval acuminada, u oval lanceolada de unos 5 a 10 cms. de largo cada uno. Tienen borde entero aunque parece finamente acerrado u ondulado. (55)

Las hojas se vuelven amarillas y caen cuando las vainas -- están maduras. El pecíolo es acanalado en su parte superior y engrosado en su base, donde se pueden observar unas pequeñas -- estípulas. (2,63)

3.4.4. FLORES

Se encuentran en inflorescencias racimosas, muy pequeñas -- en un número bastante elevado, son de color púrpura y blanquecinas, (54); Aparecen en las axilas de las ramificaciones y/o

raquis de las hojas, dispuestas sobre una inflorescencia llamada racimo ó ramillete de uno a tres cms. de largo y sostiene - de 5 a 10 flores, (63).

Sus organos sexuales son muy pequeños, ésta dificulta el cruzamiento artificial, las flores pueden emascularse y polinizarse el mismo día, obteniendose los mejores resultados generallmente entre las 3 y 7 de la tarde. (2)

3.4.5. FRUTO

Es denominado vaina o legumbre y se encuentra pendiente y agrupado de 2 a 3 por cada ramillete. El número de semillas por vaina puede variar de 1 a 5; pero las variedades comerciales -- tienen normalmente de 2 a 3 semillas por vaina. (63)

El tamaño de la semilla varía tanto como el peso de la misma; 100 semillas pueden variar de 5 a 35 gramos, a la madurez - del fruto toma un color amarillo pajizo ^y/o parma y pierde la Pubescencia.(59)

La semilla es esférica u oval, su tamaño depende de la variedad y condiciones favorables, su diámetro varía de 3 a 8 mm. y está compuesta de 2 cotiledones amarillentos, muy pocas variedades lo poseen verde y són las preferidas para consumo humano.

La semilla de soya se diferencia de las de las otras leguminosas por la mínima presencia de almidón y por la riqueza de sustancias nitrogenadas y grasa. (tabla 1)

3.5. FACTORES LIMITANTES EN LA PRODUCCION DE SOYA

Las plantas de soya parecen ser peculiarmente susceptibles a cambios de clima, son resistentes a las heladas durante una gran parte de su desarrollo. Algunas variedades toleran temperaturas hasta de 4°C sin llegar a presentar daños en las hojas. Si no hay heladas antes de que las vainas estén medianamente llenas, éstas maduran satisfactoriamente.

Desde el punto de vista de sus exigencias de humedad, el período de germinación es el más crítico, después de iniciado su crecimiento, las plantas pueden tolerar períodos cortos de sequía; un período lluvioso no perjudica seriamente su crecimiento ni su rendimiento. (55)

La soya es muy sensible a la duración del día y a este respecto se ha clasificado como planta de días cortos. Esta característica determina que las variedades tengan un área de adaptación limitada y que sea muy amplia la gama varietal en los países en donde el cultivo es de importancia económica. (63)

La soya prospera en casi todos los tipos de suelo, excepto en los muy arenosos; los mejores rendimientos se obtienen en -- suelos de alta fertilidad ó en suelos ácidos (pH 6.0 - 6.5). Sin embargo, a prosperado en suelos del noroeste de México donde de los suelos tienen un pH que varía de 8.0 a 8.5.

Es susceptible a las sales solubles, por lo cuál a veces -- sirve como indicador de éstas en el suelo o en el agua de riego. (59)

3.6. CONOCIMIENTOS GENERALES SOBRE EL GENERO Rhizobium

El género Rhizobium pertenece al orden de los Eubacteriales ó " Bacterias Reales ", el cuál es bastante amplio e incluye bacterias muy importantes para el hombre. Dentro de éste orden hay 13 familias con 63 géneros entre las que destaca la familia Rhizobiaceae. (19)

El nombre de ésta familia proviene de las raíces griegas - " Riza " : raíz y " Bios ": vida; comprendiendo en ella tres - géneros: Rhizobium, Agrobacterium y Chromobacterium, son tambien conocidas como bacterias fijadoras de nitrógeno. (7)

Las especies del género Rhizobium son capaces de fijar el nitrógeno del aire ya que crecen en relación simbiótica con las

leguminosas. Invaden las raíces y producen nódulos en los que se multiplican las bacterias, utilizando nitrógeno atmosférico del suelo y energía obtenida por oxidación de sustancias vegetales, permaneciendo en el suelo los constituyentes nitrogenados formados por las bacterias, quedando de ésta manera a disposición de la planta, facilitando así la alimentación de la misma. (19)

Las bacterias del género Rhizobium son bacilos gramnegativos, de 0.5 a 0.9 μ de ancho y de 1.2 a 3.0 μ de largo, no forman esporas, son aerobias y se encuentran en casi todos los suelos. Tienen de 2 a 5 flagelos peritricos sobre la superficie y uno de ellos subpolar, en la mayoría de los casos los flagelos peritricos se desprenden fácilmente, lo que no sucede con el flagelo subpolar. Tienen la capacidad de cambiar dentro del tejido nodular a una forma bacteroidal lo cual puede suceder en medios de cultivo bajo condiciones adversas. (3, 25)

Jensen (1952), citado por Allen y Allen (1958), basandose en la morfología ramificada de los bacteroides sugirió que Rhizobium pudiera tener su origen en las Corinebacterias, probablemente entre los organismos móviles y patógenos de las plantas. Norris (1956), considera una evolución paralela entre

las plantas y la bacteria, proponiendo que la bacteria de " Cow pea ", asociada con leguminosas tropicales, representa el tipo ancestral. Graham (1963), en desacuerdo con la hipótesis de -- Norris, considera la velocidad de crecimiento de las cepas, ya que si tuvieran el mismo origen, deberían mostrar alguna rela ción serológica, la cual no ha sido encontrada.

Acercas del ciclo de vida de Rhizobium se han descrito com plicados ciclos biológicos. Mientras que en algunas especies -- hay un notable pleomorfismo, las pruebas en cuanto a la existen cia de un verdadero ciclo biológico son incompletas. La signifi cación usualmente aceptada del término ciclo biológico lleva -- consigo el acontecimiento de una serie cíclica de fases en obli gada sucesión y el hecho de que la terminación de ésta secuenc cia es esencial para completar alguna actividad importante, co mo la reproducción, la recombinación genética o la dispersión. Estos ciclos biológicos son frecuentes en los organismos super iores, pero en el estado actual de los conocimientos, es impo sible saber con exactitud si suceden en las verdaderas bacterias. Debido a lo anterior se han propuesto dos teorías sobre el ciclo de vida, una de ellas llamada ciclo " reducido " en plantas cul tivadas y el ciclo "completo" para plantas silvestres y de jar

dín. (9, 35)

La clasificación de las bacterias Rhizobium es actualmente caótica. Se han descrito gran variedad de géneros basándose en varios aspectos de carácter estructural y fisiológico. Aceptándose generalmente la clasificación grupos de inoculación -- cruzada (tabla 2). Esta agrupación se refiere sólo a la relación organismo - planta, no tomando en cuenta las características individuales de la bacteria. (3, 15, 48)

Las distintas especies de Rhizobium se distinguen entre sí por ligeras diferencias morfológicas ó bioquímicas, y sobre todo por la naturaleza de las plantas hospedantes que pueden infectar. Además de leguminosas, las bacterias de Rhizobium pueden infectar otras plantas en las cuales se ha demostrado que algunas fijan nitrógeno, tal es el caso de los géneros Albus y --- Cycas. (64)

3.7. FIJACION SIMBIOTICA DE NITROGENO

3.7.1. Relación leguminosa - Rhizobium.

Las leguminosas constituyen un gran grupo de plantas al que pertenecen vegetales importantes económicamente como la soya, -- Rhizobium es un bacilo gramnegativo. La infección de las raíces

de ésta leguminosa con la cepa adecuada de Rhizobium conduce a la formación de nódulos radicales, capaces de convertir el ni-trógeno gaseoso en nitrógeno combinado en un proceso llamado -- fijación del nitrógeno. Tanto las leguminosas como el Rhizobium pueden fijar el nitrógeno por sí solos, pero la interacción de ambos produce una fijación de éste elemento en cantidades consiiderables, de tal modo que ésta relación es de considerable importancia en la agricultura, encunto a que conduce a un aumento - muy significativo en la cantidad de nitrógeno combinado en el - suelo. (12)

3.7.2. Interacción inicial.

Las raíces de las leguminosas segregan diversos materiales orgánicos que estimulan el crecimiento de una microflora de la rizosfera, debido que para la infección de las raíces por los - rizobios, es necesaria la presencia de grandes cantidades de -- Rhizobium libres (10^6 a 10^9 células por ml.). Cantidades que se llegan a registrar de los 3 a 10 días después de la germinación de la semilla.

Rovira (1962), menciona que en análisis de los materiales orgánicos secretados por las raíces se han encontrado: Aminoácidos, azúcares, enzimas y vitaminas, siendo en mayores cantidades las encontradas en las leguminosas.

Una de las secreciones de la raíz es el triptófano, que es transformado por los rizobios en ácido indolacético. Esta hormona induce el encorvamiento de algunos pelos radicales, proceso que es el preludio de la infección. (12, 64)

3.7.3. Etapas de la formación del nódulo.

La infección de la raíz se realiza a través del extremo de los pelos radicales, cuya pared es digerida mediante una pectinasa, permitiendo la entrada a las bacterias que se van deslizando a través de la pared del pelo radical y penetran en el citoplasma. Una vez dentro de la raíz, las bacterias se disponen en largas cadenas paralelas formando el llamado filamento de infección, este filamento está rodeado de una membrana celular que se origina por invaginación de la pared externa del pelo radical. Este filamento va alargandose, ramificandose y atravezando, célula tras célula, los tejidos de la raíz, (fig.1). Las bacterias que se encuentran en el interior del filamento adquieren formas extrañas, de bacilos gigantes, en maza, en X, en Y, características de los bacteroides. El nódulo se origina por la proliferación de células vegetales, reacción pseudotumoral específica debida a la presencia de unas pocas células tetraploides existentes siempre en los tejidos de la raíz. Si -

éstas células fueran diploides, normales, serían destruidas por la infección, sufriendo necrosis y degeneración, de tal manera que el nódulo queda constituido por una masa de células tetraploides rodeado de una corteza de células diploides. Esa formación del nódulo va acompañada de la producción y secreción de auxinas (ácido indolacético) por la planta.

Los nódulos fijadores de nitrógeno son de intenso color rosa, debido a que poseen un pigmento con propiedades y espectro de absorción análogos a los de la hemoglobina de animales superiores, llamada por ello leghemoglobina. La estructura de ésta hemoproteína y su función en la fijación del nitrógeno se desconocen todavía. Ni Rhizobium ni la planta sintetizan leghemoglobina por sí solos, pero la formación es inducida de algún modo por la interacción simbiótica de estos dos organismos. (12) {64}.

3.7.4. Fijación del nitrógeno en los nodulos.

En el proceso de fijación el N_2 es reducido a amoníaco y éste es convertido en la forma orgánica, el proceso de reducción es catalizado por la enzima nitrogenasa, que consiste en 2 componentes proteínicos separados, llamados componentes I y II. Los dos componentes contienen hierro, y el componente I además con

tiene molibdeno. Los componentes de la nitrogenasa son inactivados por el oxígeno y capaces de reducir el acetileno, así como también al N_2 . La leghemoglobina probablemente juega un papel indirecto en la fijación de nitrógeno, quizás porque mantiene un potencial redox reducido en el entorno del nódulo. La nitrogenasa se encuentra dentro de los mismos bacteroides y presumiblemente es sintetizada por ellos, si bien no ha sido comprobado el lugar de la síntesis.

Los azúcares sintetizados por las hojas de la planta son trasladados a las raíces y son utilizados directamente o bien, después de su conversión a ácidos orgánicos, como donadores de electrones para la fijación de nitrógeno. No se conoce el reductante preciso, pero los pasos bioquímicos son quizás similares a los sistemas de vida libre fijadores de nitrógeno, (fig 2). Como en los demás sistemas, para la fijación de N_2 por los bacteroides se requiere ATP. El primer producto de ésta fijación de -- N_2 a NH_3 ; éste es convertido en aminoácidos, y estos, a su vez, son transferidos del bacteroide a las células radicales de la planta y luego a toda la planta. (12, 64)

3.7.5. Especificidad.

Es conveniente seleccionar cepas que produzcan asociaciones

efectivas con tantas especies y variedades como sea posible para poder contrarrestar una extremada especificidad entre el -- Rhizobium y el huésped. (68)

La cepa ó cepas escogidas deben ser capaces de realizar - simbiosis efectiva con una planta huésped, en condiciones de - campo, y competir con las cepas nativas que pudieran estar presentes en el suelo donde se vayan a utilizar. La inoculación con una cepa adecuada permite a las plantas tener nódulos rápidos y efectivos. (58,69)

La selección de cepas para llevar a cabo la inoculación - es una decisión muy importante y al respecto Burton (1979), señala las cualidades que deben reunir las cepas de Rhizobium spp:

- (a) Deben de fijar nitrógeno sobre una planta en particular y proporcionar un adecuado suministro de nitrógeno;
- (b) Tienen que ser competitivas, ó sea, capaz de nodular el huésped en presencia de otras cepas de Rhizobium que sean altamente infectivas;
- (c) La nódulación debe ocurrir en el rango de temperaturas bajo la cuál la planta se desarrollará;
- (d) La cepa de Rhizobium debe ser capaz de crecer bien en el medio de cultivo, en el medio de soporte, y en el

suelo después de sembrada la semilla;

- (e) El organismo deberá ser capaz de sobrevivir en el suelo de una estación a la otra.

3.8. FACTORES QUE AFECTAN LA FIJACION DE NITROGENO

3.8.1. Factores químicos.

Las bacterias del genero Rhizobium, así como los microorganismos de fijación libre, requieren de elementos químicos como Fe, Mo, Co, N y otros. (26)

Para la producción de leghemoglobina es necesaria la presencia de Hierro en los nódulos, así como en otros compuestos necesarios para llevar a cabo el proceso de maduración de los nódulos. (8)

Con respecto a la presencia de molibdeno, ésta se considera muy importante, ya que se ha determinado que las necesidades de este elemento son establecidas por las bacterias simbióticas. También es señalado que en deficiencias de molibdeno la mayor cantidad de éste, se acumula en los nódulos, especialmente en el "tejido nodular". (26, 65)

Según Bonnier (1960), una de las principales funciones de este elemento es de un efecto catalítico en la reducción de nitratos, también señala que la disponibilidad de Molibdeno --

para las leguminosas en suelos tropicales, depende mucho de la acidez.

En la fijación de nitrógeno por medios biológicos, el cobalto se hace necesario debido a que forma parte esencial de la vitamina B₁₂, la que puede ser indispensable en la biosíntesis de la leghemoglobina.

Stewart (1966), señala que el aumento en la fijación de nitrógeno puede estar asociado con el aumento de la vitamina - B₁₂ y con el contenido de leghemoglobina en el nódulo.

Jensen (1944), menciona que 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.

El calcio además de modificar el pH del suelo, influye de manera categórica en la absorción de elementos como el boro, rubideno y fósforo necesarios para la planta y la bacteria. (21)

3.8.2. Factores físicos.

La temperatura es considerada como un factor importante en la fijación de nitrógeno, así como para el proceso de nodulación,

ya que puede darse el caso de que una temperatura óptima para la nodulación puede ser diferente a la del proceso de fijación. Gukova (1945), encontró que las bacterias nodulares en simbiosis son más sensibles a una elevación que a un descenso de temperatura.

Gómez (1963), experimentando con tres niveles de temperatura del suelo (30, 35, 40 °C) e inoculante comercial y dos valores de pH, encontró que la mayor nodulación fué a los 30°C y un pH de 7.3, mientras que a 40°C no encontró nodulos.

En otro experimento, Gukova (1962), observó que aumentando la temperatura de 20 a 30°C por espacio de 20 días la utilización del nitrógeno atmosférico decrece de un 50 a un 60 %. Se puede decir que la temperatura óptima tanto para la fijación de nitrógeno como para la nodulación, se encuentra estrechamente relacionada con el tipo de planta y cepa utilizada.

En un experimento realizado por Lie (1971), éste concluye que la luz tiene efecto sobre la nodulación, y que cuando aumentó de 10 000 a 15 000 ergs/cm²/seg, el número de nódulos aumentó, disminuyendo a intensidades de 20 000 ergs/cm²/seg.

3.8.3. Factores biológicos.

Dentro de estos factores podemos mencionar los daños pro

ducidos por: nemátodos, protozoarios, hongos, bacteriófagos, virus y la presencia de cepas de Rhizobium nativas.

Kleezowska, 1950; Citado por Vargas (1969), encontró que los bacteriófagos producen mutaciones en Rhizobium que pueden modificar el proceso de fijación de nitrógeno.

La disminución de la población de Rhizobium en la rizosfera es provocada por la aparición de la " lisis " en estas bacterias, provocada por los bacteriófagos cuando se encuentran en cantidades considerables en el suelo.

Las cepas nativas de Rhizobium presentes en el suelo pueden impedir la multiplicación de cepas específicas, agregadas en los inoculantes, sobre todo cuando las nativas tienen una velocidad de crecimiento mayor que las agregadas.

IV. OBJETIVOS E HIPOTESIS

4.1. Objetivos.

Los objetivos planteados para el presente trabajo son los siguientes:

- 1.- Determinar la mejor cepa de Rhizobium japonicum para la soya en base al rendimiento.
- 2.- Observar el comportamiento de cada una de las cepas en base a las variables estudiadas.
- 3.- Conocer el nitrógeno total acumulado, así como el nitrógeno disponible para el siguiente ciclo.

El experimento para llevar a cabo estos objetivos se desarrolló bajo las condiciones ecológicas del municipio de ---
Marín, Nuevo León.

4.2. Hipótesis

- 1.- Existe diferencia entre las cepas de Rhizobium japonicum para soya en cuanto al rendimiento en grano, peso de plantas, número de granos por vaina, peso de vainas con grano, número de vainas y contenido de porcentaje de nitrógeno en la parte aérea de la planta.

V. MATERIALES Y METODOS

5.1. Localización del sitio experimental

El experimento se estableció en el campo agrícola experimental de la Facultad de Agronomía de la U.A.N.L., situado en el municipio de Marín N.L. sobre el Km 17 de la carretera ----- Zuazua - Marín, con coordenadas geográficas de $25^{\circ} 53'$ Latitud norte y $100^{\circ} 03'$ Longitud oeste, a una altitud de 367.5 m.s.n.m.

El clima, de acuerdo a la clasificación de Koppen, modificada por García (1973) es: BS (h') hx' (e'). La temperatura promedio de la región es de 22.5°C . con una media anual máxima de 29.02°C . y mínima de 15.96°C . La precipitación pluvial es de 400 - 500 mm. anuales. (Datos obtenidos de la estación meteorológica de la F.A.U.A.N.L.)

Los datos promedio de temperatura y precipitación registrados durante el desarrollo del experimento se muestran en las -- tablas 3 y 4 respectivamente.

5.2. Características agronómicas de la variedad Júpiter.

Proviene de una cruza hecha en Florida E.U.A., cuando es sembrada en la época recomendada puede alcanzar una altura de 80 a 90 cms. con rendimientos superiores a 2.0 tons. por hectárea. Su ciclo vegetativo es de 130 a 140 días, pubescencia café, florea de los 35 a 40 días después de la siembra, y sus flores son moradas.

Se sugiere realizar un barbecho con una profundidad de 20 a 30 cms., uno o dos pasos de rastra y, en caso de ser necesario, realizar la cruza. Es recomendado sembrar en surcos separados a 80 cms. y una profundidad máxima de 7 a 9 cms. en suelos arenosos. En arcillosos, la profundidad no debe exceder de 4 centímetros.

El combate de malas hierbas se debe dar durante los primeros treinta días de nacidas las plantas, con una o dos labores mecánicas, complementadas con un deshierbe en caso de ser necesarios.

Se recomienda iniciar la cosecha cuando la mayoría de las

hojas empiecen a caer y su tallo principal esté seco; éste es un claro indicio de que el grano de soya está listo para la cosecha. La paja puede ser incorporada al suelo ó utilizada como forraje.

5.3. Diseño experimental y descripción de tratamientos.

El diseño experimental utilizado fué el bloques completos al azar, con seis tratamientos y cuatro repeticiones, generando se 24 unidades experimentales.

Cada unidad experimental constó de 6 surcos y uno de separación entre cada unidad experimental, cada surco de 6 mts. de longitud y una distancia entre cada uno de 80 cms. Como parcela útil se consideró a los dos surcos centrales, de los cuales se eliminó un metro de cada extremo. Cosechándose sólo 10 plantas de ésta parcela.

El modelo utilizado es el siguiente:

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

Donde:

Y_{ij} = Es la variable bajo estudio.

μ = Es la media verdadera general.

T_i = Es el efecto verdadero del i-ésimo tratamiento.

β_j = Es el efecto verdadero del j-ésimo bloque.

E_{ij} = Es el error aleatorio asociado a la ij-ésima unidad experimental, surge por el efecto conjunto de todos los factores no controlados por el diseño y que causan heterogeneidad en las observaciones.

Los tratamientos fueron los siguientes:

T_1 : Cepa 1^a FM 138

T_2 : Cepa 2^a FAHQL - 8- FM 170

T_3 : Cepa 3^a FM 171

T_4 : Cepa 4^a 425 - FM 172

T_5 : Cepa 5^a 428

T_6 : Testigo

5.4. Preparación del terreno.

Se realizó el barbecho un mes antes de la siembra a una profundidad de 25 a 30 cms. con el fin de retirar la maleza y residuos existentes del cultivo anterior. A continuación se dió un paso de rastra izquierda se cruzó con el propósito de lograr una buena pulverización de los terrones. El surcado se realizó con tractor a una distancia de 80 cm.

5.5. Inoculación.

Las cepas utilizadas fueron obtenidas de Fertimex, produ -

cidas con fecha 15 de agosto de 1983 y utilizadas el día de la siembra.

La inoculación fué efectuada en el laboratorio de suelos de la Facultad para proteger la bacteria de los rayos solares y evitar que perdiera viabilidad. La dosis de inoculación fué de un gramo de cepa en un litro de Agua por 0.8 Kg de semilla usando goma arábica como adherente.

5.6. Siembra.

La variedad utilizada fué la Júpiter, sembrandose el día 15 de Agosto de 1984, a una distancia entre plantas de 5 cm.- en la costilla del surco y una profundidad aproximada de 5 cm. La semilla fué adquirida en la sucursal de la Productora Nacional de Semillas (Pronase) de Río Bravo Tamps. con calidad -- Certificada.

5.7. Labores culturales.

A los 20 días después de la siembra se llevo a cabo un -- deshierbe manual y con azadón, con la intención de conservar - el experimento libre de malezas. El segundo deshierbe se realizó el día 2 de Octubre. Debido a la incidencia de malezas el 15 de Octubre se volvió a hacer un deshierbe, para posteriormente realizar el aporque el día 17 de éste mismo mes.

5.8. Riegos.

El día 9 de Agosto se realizó un riego con la finalidad de que se tuviera un suelo con buen contenido de humedad en el momento de realizar la siembra.

Para asegurar un buen desarrollo de la plántula se dió un riego de auxilio el día 29 de Agosto. Durante los meses de Septiembre y Octubre se presento buena precipitación (ver tabla No 4), realizandose el 2^o riego de auxilio el 9 de Noviembre.

5.9. Cosecha.

Se efectuó en forma manual el día 20 de Diciembre de 1984, tomandose 10 plantas de la parcela útil, para posteriormente - llevarlas al laboratorio y efectuar las tomas de datos correspondientes.

5.10. Variables estudiadas.

Para la evaluación de la mejor cepa se determinaron las - siguientes características para cada una de las plantas:

- Peso de la planta
- Número de vainas
- Número de granos por vaina
- Peso de los granos

- Peso de vainas con grano
- Nitrógeno de la parte aérea
- Relación de materia seca con
nitrógeno de la parte aérea
e inferir ganancia neta.

VI. RESULTADOS

Para llegar a los objetivos propuestos en el presente experimento se determinarán las siguientes características: Rendimiento de grano, peso de planta, número de vainas por planta, peso de vainas con grano, número de granos por vaina, porcentaje de nitrógeno en la parte aérea. De las cuáles a continuación se presentan los resultados obtenidos.

6.1. Rendimiento en grano.

En lo referente a ésta característica, el tratamiento que obtuvo mejores resultados fué el número 4 (cepa 4^a 425 - FM 172) con un rendimiento de 533.4 kg/ha. El tratamiento 2 que corresponde a la cepa 2^a FAHQL - 8 - FM 170 el menor rendimiento con 267.3 kg/ha. Cuadro 1.

En el análisis de varianza realizado no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos. Cuadro 2.

6.2. Peso de la planta.

En relación a ésta determinación el tratamiento que obtuvo el mayor peso fué el número 4 con un peso de 49.03 grs/40 plantas muestreadas. Registrando el menor peso el tratamiento 6, correspondiente al testigo, con 30.65 grs/40 plantas muestreadas. Cuadro 1.

El análisis de varianza que se realizó no reportó diferencia significativa entre tratamientos. Cuadro 3.

6.3. Número de vainas por planta

La cepa con mayor número de vainas por planta fué la ---- correspondiente al tratamiento 4 (4^a 425 - FM 172), con un total de 19. Resultando con 11 vainas por planta el tratamiento número 6 (testigo), para de ésta manera, ser el más bajo en cuanto a ésta característica. Cuadro 1.

No hubo diferencia significativa entre los tratamientos, según lo demuestra el análisis de varianza realizado (Cuadro 4)

6.4. Peso de vaina con grano.

En lo referente a ésta característica se encontró que el tratamiento 4 fué el más sobresaliente, con un peso de 7 gr/vainas con grano. El testigo reportó el peso más bajo con 4 gr/vainas con grano, Cuadro 1.

De acuerdo al análisis de varianza no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos. Cuadro 5.

6.5. Número de granos por vaina.

Por lo que respecta a esta determinación el tratamiento más sobresaliente fué el número 4 con 1.7 gr/vaina. Obteniendo el menor valor la cepa 3^a FM 171 (tratamiento 3) con 1.2 grs. por vaina. Cuadro 1

Según el análisis de varianza, no hubo significancia entre tratamientos. Cuadro 6.

6.6. Porciento de nitrógeno.

Encuanto a ésta característica, el mayor porciento de ---

nitrógeno fué obtenido por el tratamiento número 4 con un total de 1.6 % de la parte aérea de la planta. El tratamiento 6 (testigo) fué el que obtuvo el valor más bajo con 1 % de --nitrógeno.

El análisis de varianza nos señaló que no hubo diferencia significativa entre los tratamientos. Cuadro 7.

VII. DISCUSION Y CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos y su relación con los objetivos trazados en el presente trabajo, se derivan las siguientes observaciones:

Uno de los objetivos planteados fué el de determinar la mejor cepa en base a rendimiento, encuanto a éste tópico, sobresalió el tratamiento 4 (cepa 4^a 425 - FM 172) con un rendimiento de 533.4 kg/ha, el cuál en una producción comercial se considera bajo, ésta producción se pudo deber a que la variedad escogida (Júpiter), no se haya sembrado en la fecha adecuada, ya que según reporta la literatura revisada, ésta variedad puede llegar a rendir hasta 2.0 toneladas por hectárea si la siembra se realiza en la época adecuada. Si se hubiese sembrado en la fecha adecuada, y no hubiera habido respuesta a la inoculación, el testigo nos hubiere reportado los mejores resultados. Lo anterior también es indicativo de que no hubo parasitismo entre las cepas introducidas y las nativas. Esto también demuestra que si hubo respuesta a la inoculación.

En lo referente al comportamiento específico de cada cepa todas demostraron que son capaces de fijar nitrógeno atmosférico en cantidades considerables, ya que los análisis realizados al suelo, antes de la siembra y después de la cosecha, demuestran que si hubo incremento de nitrógeno en el mismo, superando las cepas probadas, en éste incremento, al testigo (no inoculado).

En lo que respecta a la cantidad de nitrógeno acumulado, y del disponible para el siguiente ciclo. El tratamiento 4 -- (cepa 4^a 425 - FM 172) obtuvo los mejores resultados, esto nos vuelve a demostrar que no hubo parasitismo entre cepas in troducidas y las cepas nativas, porque si ésto hubiera ocurri do, no se hubiera encontrado incrementos relativos a éste ele mento. Lo anterior implica que las cepas introducidas si pudie ran llegar a expresar su potencialidad de formar nódulos efec tivos en suelos de la región donde fué llevado a cabo el pres ente experimento. Ya que como lo demuestran los resultados si hubo fijación de nitrógeno disponible para el siguiente ciclo de cultivo siendo el tratamiento 4 (cepa 4^a 425 - FM 172) la que logró mayor cantidad con 161.798 mg disponibles de nitróge no.

VIII. RECOMENDACIONES

- 1.- Realizar pruebas de competitividad y efectividad de cepas aloctóneas a utilizar en futuros experimentos en la región.
- 2.- Obtener y utilizar cepas nativas de la región a las cuales les haya sido probada su capacidad de infección y efectividad de nodulación.
- 3.- En virtud de que en el presente trabajo sólo se estudió -- una variedad de soya (Júpiter), se hace necesario realizar ensayos con un mayor número de variedades y en diferentes fechas de siembra.
- 4.- Continuar la línea de investigación en la inoculación de soya, experimentando con un mayor número de cepas a partir de las ya evaluadas, en diversos sitios experimentales dentro de la región de la región de influencia de Marín, Muevo León.

IX. RESUMEN

El experimento fué establecido en el campo agrícola experimental de la Facultad de Agronomía de la U. A. N. L. situado en el municipio de Ibrán, Nuevo León.

Los objetivos planteados en el presente trabajo son los siguientes:

- 1.- Determinar la mejor cepa de Rhizobium japonicum para la soya en base al rendimiento.
- 2.- Especificar el comportamiento de cada una de las cepas en base a las variables estudiadas.
- 3.- Conocer el nitrógeno total acumulado, así como el nitrógeno disponible para el siguiente ciclo.

De acuerdo a los objetivos se planteó la siguiente hipótesis:

Existe diferencia entre las cepas de Rhizobium japonicum para soya en cuanto al rendimiento en grano, peso de planta, número de granos por vaina, peso de vainas con grano, número de vainas y contenido de por ciento de nitrógeno de la parte aérea de la planta.

El diseño experimental utilizado fué Bloques Completos al Azar, con 6 tratamientos (5 cepas y un testigo) y 4 bloques, generandose 24 unidades experimentales. De cada unidad experimental se muestrearon 10 plantas a las cuales se les determinaron las siguientes características:

- Peso de planta
- Número de vainas
- Número de granos por vaina
- Peso de los granos
- Peso de vainas con grano
- Nitrógeno de la parte aérea
- Relación de materia seca con nitrógeno de la parte aérea e inferir ganancia neta

En los resultados obtenidos el tratamiento 4 fué el más sobresaliente de todas las características evaluadas. Aunque no hubo diferencia significativa entre tratamientos en los análisis de varianza realizados, se cree que se haya debido a - que la variedad utilizada (Júpiter) no se sembró en fecha indicada, por lo mismo es posible que la potencialidad de efectividad e infección de las cepas no se haya expresado al máximo, ya que , como lo demuestran los resultados obtenidos en cuanto a la cantidad de nitrógeno fijado si hubo respuesta a la inoculación.

X. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Alcantar, G. G. E. 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). Tesis M.C. Colegio de postgraduados, Chapingo México.
- 2.- Aldrich, S. R. y W. O. Scott. 1975. Producción moderna de la soja. Ed. Hemisferio Sur. A.I.D. Argentina.
- 3.- Alexander, M. 1980. Introducción a la Microbiología del Suelo. Ed. Agt. Editor, S.A. México.
- 4.- Alfonso, H. H. 1950. Trabajos preeliminares sobre la introducción del cultivo de la soya en México. Tesis sin publicar. Escuela de Agricultura, Chapingo México.
- 5.- Allen, E.K. and O. Allen N. 1958. Biological aspects of -- symbiotic nitrogen fixation. Encyclop. Plant -- Physiol. Ed. W. Ruhland, Springer - Verlag, -- Berlin.
- 6.- Bain, G.V. et al, 1975. Biología de los Microorganismos, -- Fundamentos de Agricultura Moderna - 4, Ed. Ag-- dos, Barcelona España.
- 7.- Bergey, S. 1975. Manual of determinate bacteriology 7th Ed.,

The Williams and Wilkins Co. Baltimore.

- 8.- Bergensen, F. J. 1963. Iron in the developing Soybean nodules. Aust. J. Biol. Sci.
- 9.- Bisset, K.A. 1952. Complete and reduced life cycle in --- Rhizobium. J. Gen. Microbiol. 7: 233-242.
- 10.- Black, C. A. 1975. Relaciones suelo-planta. Tomo II. Ed --- Hemisferio sur, Argentina.
- 11.- Bonnier, Ch. 1960. Symbiose Rhizobium legumineuses: Aspects particuliers aux regions tropicales. Annls Inst. Pasteur.
- 12.- Brock, T. D. 1978. Biología de los Microorganismos. Ed. Omega. Barcelona España. 441 - 445.
- 13.- 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) Merrill) var. Tropicana. Tesis M.C. Colegio de postgraduados, Chapingo México.
- 14.- Burdon, K. L., R. P. Williams. 1976. Microbiología. Ed Jac's S.A. México.

- 15.- Burton, J. C. 1967. Rhizobium culture and use. In Microbial technology. Ed. H. J. Pepper. Reinhold publishing Corporation. New York.
- 16.- Burton, J. C. 1979. Rhizobium species 2th Ed. Academic Press V.1. pp 29-58.
- 17.- Caldwell, B. E. 1973. Soybeans, Improvement, Production and Uses. Agronomy number 16. American Society of -- Agronomy. Inc. Publisher. U. S. A.
- 18.- Carbajal, H. M. A. 1981. Evaluación de rendimiento y aspectos bromatológico e industrial de dos variedades de soya (Glycine max L.). Comparando tres distancias de siembra: en el campo de multiplicación de semillas mejoradas del Itesm. Apodaca, T.L. Tesis I. T. E. S. M. Monterrey, México.
- 19.- Carpenter, Ph. L. 1969. Microbiología. 2da. Edición. Ed. -- Interamericana, México. 107-130.
- 20.- Cerne, V., J. Sintes. 1975. La soja, su cultivo, su valor -- nutritivo, sus virtudes dietéticas y curativas. Ed. Sintes S. A. España.
- 21.- Chávez, S. A. 1975. Efecto de la fertilización con N, P, K, 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 M. C. Colegio Postgraduados, Chapingo México.

- 22.- Chonay, P. J. J. 1981. Efecto de la fertilización foliar sobre la compensación de la fijación biológica de - Nitrógeno por Rhizobium phaseoli en frijol ----- (Phaseolus vulgaris L.). Tesis M.C. Colegio Post graduados, Chapingo México.
- 23.- Cochran, W. G., G. Cox M. 1965. Diseños experimentales Ed. Trillas, México.
- 24.- Cuautle, F. M. E. 1979. Efecto de la fertilización, fumigación del suelo e inoculación con Rhizobium, sobre la nodulación, contenido de nitrógeno y rendimiento de frijol (Phaseolus vulgaris L.) en Chapingo, -- México. Tesis M. C. Colegio de Postgraduados, Chapingo México.
- 25.- De Ley, J. and A. Rassel. 1965. DNA base composition, flagellation and taxonomy of the genus Rhizobium J. Gen, Microbiol. 41: 85-91.
- 26.- Epstein, E. 1972. Mineral nutrition of plants: Principles and perspectives. Ed. Wiley.
- 27.- Ferrera-Cerrato, R., B. D. Jalpa 1980. Inoculación de la soya (Glycine max L. Merrill) con diferentes cepas de -- Rhizobium japonicum, en Cuetzalan, Puebla. Tesis - M. C. Colegio postgraduados, Chapingo México.
- 28.- Freire, J. J. 1978. Fixacao simbiotica do nitrogenio en soja. IX Reunion Latinoamericana sobre Rhizobium, México. pp. 110-119.

- 29.- Gómez, A. A. 1963. Efecto del pH, M.O. y la temperatura del suelo sobre la nodulación en el frijol (Phaseolus vulgaris L.), causada por Rhizobium phaseoli. -- Tesis E. A. G. I.T.E.S.M.
- 30.- Gray, Y. G. 1969. Microbiología. Ed. Continental S. A. --- México.
- 31.- Graham, P. H. 1963. Antigenic affinities of the root nodule bacteria. *Antonie Von Leuwenhoeck*. 281-291.
- 32.- Graham, P. H. 1964. The application of computer techniques to the taxonomy of root-nodule.bacteria of legume. *J. GEN. Microbiol.* 511-517.
- 33.- Gukova, M. M. 1945. the effect of soil temperature on nitrogen fixation by nodule bacteria. *Soil and fert.* 9
- 34.- Gukova, M. M. 1962a Importance of temperature of utilization of nitrogen by plants. *Soil and fert.* 28
- 35.- Halker, L. E. et al. 1964. Elementos de microbiología general: Introducción a la biología de los microorganismos. Ed. Acribia. España.
- 36.- Hernandez, R. R.A. 1982. Adaptación y rendimiento de seis variedades de soya (Glycine max L. Merrill) en la región de Marín, N. L. Tesis F. A.U. A. L. L.
- 37.- Jensen, H. L. 1944. Nitrogen fixation inleguminous plants.V. Gains of nitrogen by Medicago and Trifolium in -- acid and alkaline soil. *Proc. Linn. N. S. W.* 229 - 237.

- 38.- Johnson, H. W., R. L. Bernard. 1962. Soybean genetics and - breeding, advances in agronomy 14.
- 39.- Lie, T.A. 1971. Modulation of rooted leaves in leguminous - plants. Plant and soil. 663-673.
- 40.- López, A. E. 1982. Generación de tecnología de producción y evaluación de cepas de Rhizobium phaseoli y ---- Rhizobium japonicum por su efecto en la producción de grano y economía de nitrógeno en los cultivos de frijol (Phaseolus vulgaris L.) y soya (Glycine max L. Merril) en la Mixteca Poblana. Tesis M. C. Colegio postgraduados, Chapingo México.
- 41.- Mateo Box, J. M. 1961. Leguminosas de grano. Salvat Editores, S.A. México. pp 550.
- 42.- Mejía, D. C. 1982. Inoculación con Rhizobium y su efecto en los componentes de rendimiento en 2 especies de - Phaseolus . Tesis, Chapingo México.
- 43.- Morse, W. J. 1950. History of soybean production. Soybean products. ED. K. S. Markley. Interscience Pub. - Inc. New York.
- 44.- Nerio, R. M. A. 1971. Determinación de la mejor distancia - entre surcos en el cultivo del frijol soya (Glycine max). Variedad Hood en la región de Escobedo N.L. Tesis Facultad de Agronomía U.A.N.L.
- 45.- Morris, D. O. 1956. Legumes and Rhizobium symbiosis. Emp. J. Exp. Agric. 247-270.

- 46.- Ochse, J. J. et al. 1974. Cultivo y mejoramiento de plantas tropicales y subtropicales. Vol II. Ed. Limusa, - México. pp 1162-1169.
- 47.- Ortis, M. R. J. J. 1980. Evaluación de 10 genotipos nuevos de soya (Glycine max (L) Merr.) adaptado a zonas de baja latitud en una región de elevada altitud de clima subtropical para multiples propósitos. Tesis I. T..E. S. M.
- 48.- Palleroni, M. J. 1970. Principios generales de microbiología. O. E. A. Washington D. C.
- 49.- Pate, J. S. 1961. Temperature characteristics of bacterial variation in legume symbiosis. 637-639.
- 50.- Pellzar Jr, M. J., R. D. Reia. 1977. Microbiología. ED. McGraw - Hill. México.
- 51.- Peña, M. M. 1970. Control de la clorosis en soya (Glycine max L.), mediante aspersiones foliares de sulfato ferr oso (FeSO_4) en la región de General Escobedo N.L. Tesis, Facultad de Agronomía U. A. N. L.
- 52.- Pérez, T.H. 1980. Algunos aspectos biológicos de la asociaci_ón simbiótica P. vulgaris - R. phaseoli. Tesis -- M. C. Colegio de postgraduados, Chapingo México.
- 53.- Piatkin, K. 1968. Microbiología. Ed. MIR. Moscú.
- 54.- Poehlman, J.M. 1979. Mejoramiento genético de las cosechas Ed. Limusa. Wiley, S.A. 6^a Edición, México pp 243-258.

- 55.- Robles, S. R. 1981. Producción de granos y forrajes. 2da. - Edición. Ed. Limusa, México. pp 501-540.
- 56.- Rosales, A. R. A. 1981. La oferta de soya y cártamo en --- México. Tesis M.C. Colegio postgraduados, Chapingo México.
- 57.- Rovira, A.D. 1962. Plant root exudates in relation to the - Rhizosphere microflora. soil and fert. 25: 167-172.
- 58.- Russell, E. J., W. E. Russell. 1968. Las condiciones del sue lo y el crecimiento de las plantas, traducido por G. González. 9^a Edición. Ed. Aguilar. Barcelona.
- 59.- Sainz, I. F. 1975. El cultivo del soya en México. Ediciones Gaceta Agrícola, Mexico. pp 1-4, 9-11, 20.
- 60.- Salle, A.J. 1965. Bacteriología. Ed. Gustavo Gili, S. A. Barcelona, España.
- 61.- S.A.R.H. 1976. Gufa para la asistencia técnica agrícola: Area de influencia del campo agrícola experimental las Huastecas. CIAT. México.
- 62.- S.A.R.H. 1985. Boletín de información técnica del comite - directivo del Distrito de Riego No. 041, Rio Yaqui, Sonora México.
- 63.- Saumell, H. 1977. Soja, información técnica para su mejor - conocimiento y cultivo. Ed. Hemisferio sur. Argen tina.
- 64.- Senez, J. C. 1976. Microbiología general. Ed. Alhambra, España.

- 65.- Stewart, W. D. P. 1966. Nitrogen fixation in plants, the --
Atholone Press. University of London.
- 66.- Vargas, R. E. 1969. Aspectos microbiológicos de la asociación simbiótica del nitrógeno por el Rhizobium.
Tesis M. Sc. Univ. de Aberdeen, Inglaterra.
- 67.- Vavilov, N.I. 1951. The origin variation immunity and breeding of cultivated plants. Ronald Press Company
New York.
- 68.- Vincent, J. M. 1962. Presidential address, Australian studies of the root nodule bacteria. A. review Proc.
Linn. Soc. N.S.W. v 87. pp 8-38.
- 69.- Vincent, J. M. 1965. Environmental factors in the fixation of nitrogen by legumes in soil nitrogen. ED. W.V.
Bartholomen and F. E. Clarck Am. Soc. Agronom. -
Monograph. pp 384-435.
- 70.- Vincent, J. M. et al 1976. Exploiting the legume-Rhizobium symbiosis in tropical agriculture. Kiftal-proceedings of a workshop University of Hawaii, U.S.A.

XI APENDICE

Tabla I. Análisis de la composición de la semilla de soya. (20)

Agua	9.5 %
Caseína soluble	30.0 "
Caseína insoluble	7.5 "
Albúmina	0.5 "
Aceite	18.5 "
Lecitina	1.5 "
Colesterol, resina y cera	0.5 "
Dextrina	10.0 "
Almidón	4.0 "
Celulosa	6.0 "
Cenizas	5.0 "

Tabla II. Las distintas especies de Rhizobium y sus hospedantes.
(Senez 1976).

Especie de <u>Rhizobium</u>	Hospedantes
<u>R. leguminosarum</u> -----	<u>Pisum</u> (chicharo) <u>Viscia</u> (haba) <u>Lens</u> (lenteja)
<u>R. phaseoli</u> -----	<u>Phaseolus vulgaris</u> <u>Phaseolus multiflorus</u>
<u>R. trifolii</u> -----	<u>Trifolium</u> (trébol)
<u>R. lupini</u> -----	<u>Lupinus</u> (altramuz) <u>Cicerithopus</u> (serradela)
<u>R. japonicum</u> -----	<u>Glycine</u> (soya)
<u>R. meliloti</u> -----	<u>Melilotus</u> (trébol dulce) <u>Medicago</u> (alfalfa) <u>Trigonella</u> (alholva) <u>Stipa</u> (alfa)

Tabla III. Temperaturas máximas, mínima, y media (grados centi
grados) registradas durante el desarrollo del experi
mento. Obtenidos de la estación meteorológica de la -
F.A.U.A.N.L. Marín, N.L. 1984

Mes	Máxima	Mínima	Media
Agosto	39	19	29.3
Septiembre	38	14	24.9
Octubre	40	14	24.1
Noviembre	38.5	5	20.8
Diciembre	36	2	18.5

Tabla IV. Precipitación registrada (milímetros) durante el -
desarrollo del experimento. Obtenidas de la estación
meteorológica de la F.A.U.A.N.L. Marín, N.L. 1984

Mes	precipitación
Agosto	2.6
Septiembre	70.1
Octubre	21.5
Noviembre	no hubo
Diciembre	38.2

Tabla V.- Determinación de las propiedades promedio físicas y químicas del suelo y subsuelo del sitio experimental.

Determinación	Profundidad en cms.		Clasificación Agronómica
	0-30	30-60	
pH	8.6	8.3.	Moderaamente alcalino
TEXTURA:			
Arena %	24.4	24.9	
Limo %	32.0	29.0	Arcilloso
Arcilla %	43.6	46.6	
Materia Organica %	1.2	1.3	Pobre
Nitrogeno Total %	0.135	0.126	Medionamente pobre

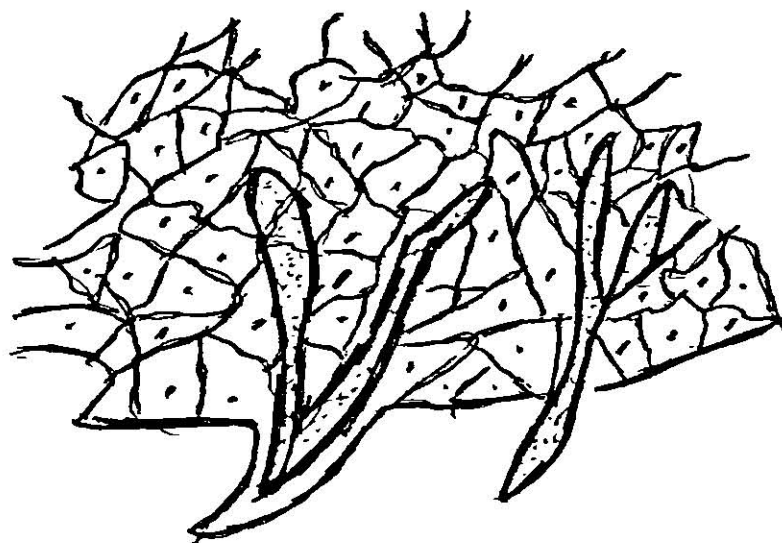


Figura 1. Infección de una raíz por Rhizobium a partir del extremo radical. (L. W. Erdam, Agricultural Research, USDA, 1953). Tomado del libro de Senez, J.C. 1976.

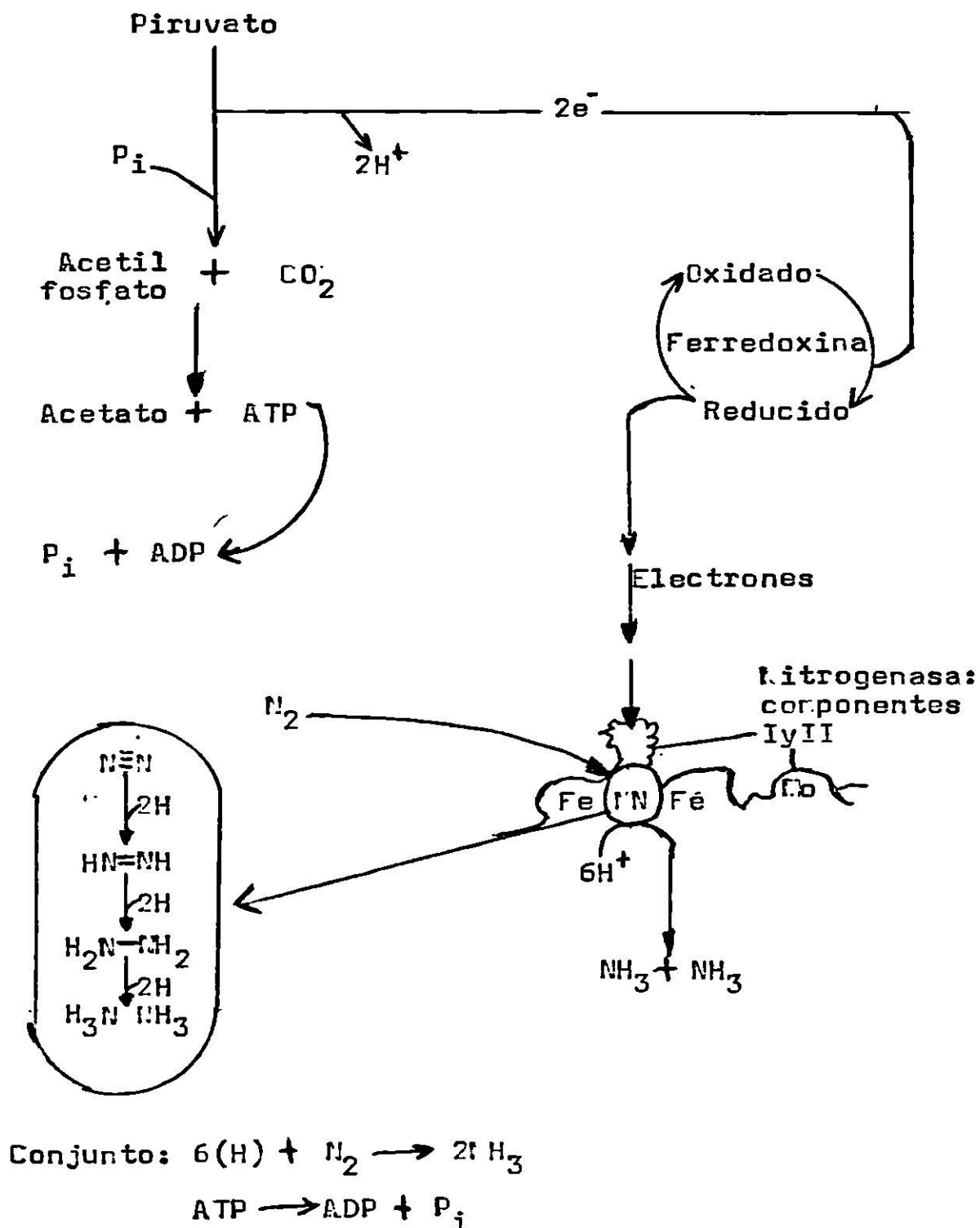


Figura 2. Fijación del nitrógeno : Pasos en la reducción de N₂ a NH₃ . (12).

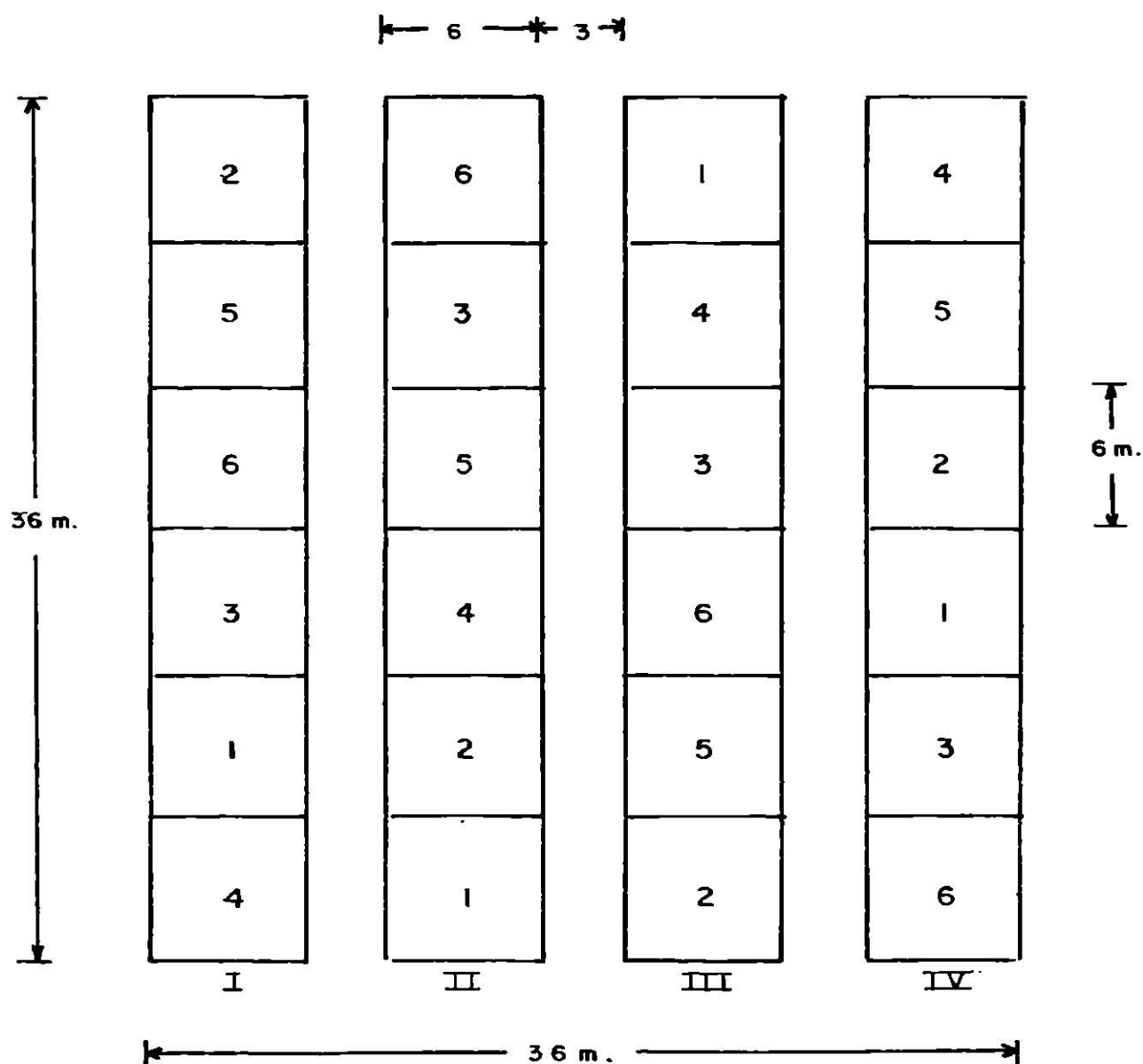
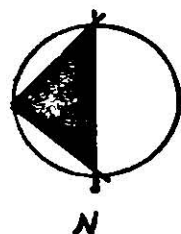


Figura 3.- Distribución de los tratamientos al azar en el sitio experimental. Evaluación de 5 cepas de Rhizobium japonicum en soya.

Cuadro $\frac{N}{L}$ 1. Concentración de datos tomados en la evaluación de 5 cepas de Rhizobium japonicum en soya (Glycine max L. Merril).
Marín, R.L.

Característica evaluada	Tratamientos					
	1	2	3	4	5	6
Nº de granos por planta	108.8	72.1	44.0	129.5	67.9	65.0
Nº de vainas por planta	74.2	46.5	49.1	77.4	44.8	43.4
Nº de granos por vaina	5.7	5.9	4.7	6.9	5.9	5.7
Peso de las vainas con grano	25.7	15.4	16.7	28.5	15.0	14.4
Peso de los granos	13.7	8.9	9.6	17.7	9.5	10.3
Peso de la planta	41.88	24.62	35.01	49.0	30.9	30.6
Nitrógeno total acumulado	137.1	108.7	114.7	160.9	100.9	100.4

Cuadro 2.- Análisis de varianza para peso de los granos. Evaluación de 5 cepas de Rhizobium japonicum en soya. (Kg/Ha.)

F. V.	G. L.	S. C.	C. M.	F. calc.	F. teórica 0.05 - 0.01
Media	1	203.7			
Tratamientos	5	15.04	3.00	1.02 ^{n.s.}	2.98-4.56
Bloque	3	2.85	0.95	0.32 ^{n.s.}	3.29-5.49
Error	15	44.08	2.93		
Total	24	265.6			

Cuadro 3.- Análisis de varianza para peso de plantas. Evaluación de 5 cepas de Rhizobium japonicum en soya. (gr/40 plantas).

F. V.	G. L.	S. C.	C. M.	F. calc.	F. teórica 0.05-0.01
Media	1	2029.52			
Tratamientos	5	65.96	13.19	1.12 ^{n.s.}	2.98-4.56
Bloque	3	31.00	10.33	0.87 ^{n.s.}	3.29-5.48
Error	15	176.62	11.77		
Total	24	2303.11			

n.s. = No significativo.

Cuadro 4.- Análisis de varianza para número de vainas. Evaluación de 5 cepas de Rhizobium japonicum en soya.

F. V.	G. L.	S. C.	C. M.	F. calc.	F. teórica 0.05-0.01
Media	1	4692.80			
Tratamientos	5	303.10	60.62	1.49 ^{n.s.}	2.98-4.56
Bloques	3	42.70	14.23	0.35 ^{n.s.}	3.29-5.48
Error	15	609.74	40.64		
Total	24	5648.35			

Cuadro 5.- Análisis de varianza para peso de vainas con grano. Evaluación de 5 cepas de Rhizobium japonicum en soya. (gramos/vaina con grano).

F.V.	G. L.	S. C.	C. M.	F. calc.	F. teo. 0.05-0.01
Media	1	559.79			
Tratamientos	5	47.59	9.51	1.36 ^{n.s.}	2.98-4.56
Bloque	3	3.97	1.32	0.32 ^{n.s.}	3.29-5.48
Error	15	104.83	6.98		
Total	24	716.20			

n.s. = No significativo.

Cuadro 6.- Análisis de varianza para número de granos por vaina. Evaluación de 5 cepas de Rhizobium japonicum en soya.

F. V.	G. L.	S. C.	C. M.	F. calc.	F. teórica 0.05-0.01
Media	1	50.95			
Tratamientos	5	0.61	0.12	1.05 ^{n.s.}	2.98-4.56
Bloques	3	0.15	0.05	0.44 ^{n.s.}	3.29-5.48
Error	15	1.73	0.11		
Total	24	53.25			

Cuadro 7. Análisis de varianza para porciento de nitrógeno de la parte aérea de la planta. Evaluación de 5 cepas de Rhizobium japonicum en soya.

F. V.	G. L.	S. C.	C. M.	F. calc.	F. teórica 0.05-0.01
Media	1	2.20			
Tratamientos	5	0.07	0.014	1.12 ^{n.s.}	2.98-4.56
Bloques	3	0.03	0.011	0.87 ^{n.s.}	3.29-5.48
Error	15	0.19	0.012		
Total	24	2.50			

n. s. = No significativo

Cuadro 8. NITROGENO DE LA PARTE AEREA DE LA PLANTA

1.- 0.40326	9.- 0.17886	17.- 0.2013
2.- 0.13101	10.- 0.27158	18.- 0.15213
3.- 0.24057	11.- 0.16731	19.- 0.23364
4.- 0.6072	12.- 0.1584	20.- 0.30987
5.- 0.32175	13.- 0.3762	21.- 0.31845
6.- 0.43428	14.- 0.28347	22.- 0.2937
7.- 0.36663	15.- 0.41745	23.- 0.33
8.- 0.37158	16.- 0.4455	24.- 0.264

Estas determinaciones se obtuvieron de la siguiente fórmula:
 la: $N = \frac{M.O.}{20} \times .66$ la cuál fué derivada de la siguiente manera:

Materia seca = M.O.

5% N :: 58% C

C/N 11.6: 1

C/M.O. 1: 1.724

M.O./N 11.16 x 1.724: 1 20:1

N x 20 = M.O.

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

Donde;

N = Nitrógeno de la planta

M.O. = Peso seco de la planta.

20 = Relación M.O./N.

Según reporta la literatura el 66% del nitrógeno total de la planta corresponde a la parte aérea de la misma. Por lo anterior, la fórmula obtenida se multiplica por .66.

Cuadro 9. NITROGENO CONSUMIDO POR LA PLANTA DEL SUELO

Se calculó en base a la siguiente fórmula:

$$\begin{array}{rcl} \text{Nitrógeno del suelo} & & \\ \text{(antes de sembrar)} & - & \text{Nitrógeno del suelo} \\ & & \text{(después de cosecha)} \end{array} = \begin{array}{l} \text{Nitrógeno} \\ \text{consumido} \\ \text{por la} \\ \text{planta} \\ \text{del suelo} \end{array}$$

$$\text{Nitrógeno del suelo} \\ \text{(antes de sembrar)} = 0.135$$

$$\text{Nitrógeno del suelo} \\ \text{(después de cosecha)} = \text{Tmto 1} = 0.161$$

$$\text{Tmto 2} = 0.161$$

$$\text{Tmto 3} = 0.174$$

$$\text{Tmto 4} = 0.162$$

$$\text{Tmto 5} = 0.167$$

$$\text{Tmto 6} = 0.150$$

$$\text{Tratamiento 1} = 0.135 - 0.161 = -0.026 + 0.24^* = 0.214$$

$$\text{Tratamiento 2} = 0.135 - 0.161 = -0.026 + 0.24^* = 0.214$$

$$\text{Tratamiento 3} = 0.135 - 0.174 = -0.039 + 0.24^* = 0.201$$

$$\text{Tratamiento 4} = 0.135 - 0.162 = -0.027 + 0.24^* = 0.213$$

$$\text{Tratamiento 5} = 0.135 - 0.167 = -0.032 + 0.24^* = 0.272$$

$$\text{Tratamiento 6} = 0.135 - 0.150 = -0.015 + 0.24^* = 0.225$$

* Factor de corrección utilizado debido a que durante el ciclo de cultivo se libera el 2 % del nitrógeno de la materia orgánica. En el análisis realizado, el contenido de N. O. en el suelo resultó ser del 1.2 %.

Cuadro 10.- NITROGENO FIJADO POR LA PLANTA

	N. de la planta	-	N. consumido por la planta	=	N. fijado
1.-	40.326 mg	-	0.214 mg	=	40.112 mg
2.-	13.101 mg	-	0.214 mg	=	12.887 mg
3.-	24.057 mg	-	0.201 mg	=	23.856 mg
4.-	60.720 mg	-	0.213 mg	=	60.507 mg
5.-	32.175 mg	-	0.272 mg	=	31.903 mg
6.-	43.428 mg	-	0.225 mg	=	43.203 mg
7.-	36.663 mg	-	0.214 mg	=	36.449 mg
8.-	37.158 mg	-	0.214 mg	=	36.994 mg
9.-	17.886 mg	-	0.201 mg	=	17.685 mg
10.-	27.159 mg	-	0.213 mg	=	26.946 mg
11.-	16.731 mg	-	0.272 mg	=	16.459 mg
12.-	15.840 mg	-	0.225 mg	=	15.615 mg
13.-	37.620 mg	-	0.214 mg	=	37.406 mg
14.-	28.347 mg	-	0.214 mg	=	28.133 mg
15.-	41.745 mg	-	0.201 mg	=	41.544 mg
16.-	44.550 mg	-	0.213 mg	=	44.337 mg
17.-	20.130 mg	-	0.272 mg	=	19.858 mg
18.-	15.213 mg	-	0.225 mg	=	14.998 mg
19.-	23.364 mg	-	0.214 mg	=	23.150 mg
20.-	30.987 mg	-	0.214 mg	=	30.773 mg
21.-	31.845 mg	-	0.201 mg	=	31.644 mg
22.-	29.370 mg	-	0.213 mg	=	29.157 mg
23.-	33.000 mg	-	0.272 mg	=	32.728 mg
24.-	26.900 mg	-	0.225 mg	=	26.675 mg

