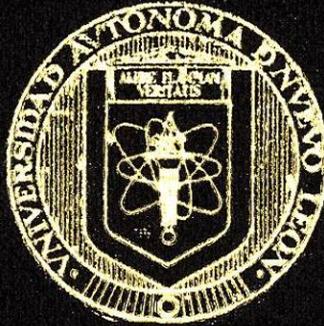


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE AGRONOMIA



EVALUACION DE 4 CEPAS DE Rhizobium phaseoli
EN FRIJOL (Phaseolus vulgaris L.)
EN PRUEBAS CRUZADAS. MARIN, N. L.
CICLO TARDIO 1986

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA
PRESENTA

JUAN MANUEL MOYA GONZALEZ

MARIN, N. L.

MAYO DE 1987.

T

SB327

M69

c.1

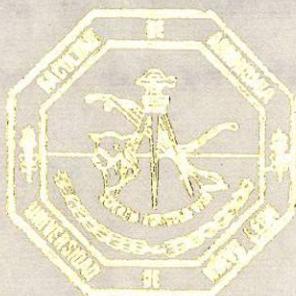


45882
PCM.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

A DIOS: FACULTAD DE AGRONOMIA

Por darme la vida y la salud
haber alcanzado a ser ingeniero
y poder ofrecer este trabajo.



A MIS PADRES:

Sr. Pedro
Sra. Irene
Con el apoyo de
y sacrificio
culminación de

**EVALUACION DE 4 CEPAS DE Rhizobium phaseoli
EN FRIJOL (Phaseolus vulgaris L.)
EN PRUEBAS CRUZADAS. MARIN, N. L.
CICLO TARDIO 1986**

TESIS

A MIS PADRES:

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO FITOTECNISTA

Elvia Raquel

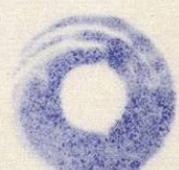
PRESENTA

María del Carmen

Olga Margarita

JUAN MANUEL MOYA GONZALEZ

MARIN, N. L.



MAYO DE 1987

007282 *Bm*

T
SB327
.M69

040.635
FA4
1987
C.5



Biblioteca Central
Magna Solidaridad



BURO de Rangel Films
UANL
FONDO
TESIS LICENCIATURA

Resuj

DEDICATORIA

A DIOS:

Por darme la satisfacción de haber culminado mis estudios y poder ofrecer a mis padres este trabajo.

A MIS PADRES:

Sr. Pedro José Moya Hernández

Sra. Irene González de Moya

Con amor y gratitud, a sus esfuerzos y sacrificios que hicieron posible la culminación de mi carrera.

A MIS HERMANAS:

Elvia Raquel

María del Carmen

Olga Margarita

Por su apoyo y confianza que siempre me tuvieron.

En especial a mi hermana María Evangelina y su esposo Alberto Marcial Nuñez Morales, que con su ayuda desinteresada hicieron posible la realización de mi carrera profesional.

A MI ABUELO:

Sr. Manuel Moya Naceanceno (+)
Por los consejos que siempre me
brindó.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Ronald Jorge Lecea Juárez.

Por la dedicación y asesoría brindada
para llevar a cabo este trabajo.

Al Ing. M.C. Mauro Rodríguez Cabrera.

Por su asesoría en la revisión
del presente trabajo.

Al Ing. M.C. Francisco Rodríguez Esquivel.

Por su ayuda y amistad brindada
a los largo de ésta carrera.

A mis maestros, compañeros y amigos con quienes
compartí mi carrera Universitaria, así como to-
das aquellas personas que de alguna forma cola-
boraron en la realización de éste trabajo de te-
sis.

INDICE

Pág.

I.	INTRODUCCION.....	1
II.	BREVE HISTORIA.....	4
III.	REVISION DE LITERATURA.....	8
	3.1. Importancia del cultivo.....	8
	3.2. Origen.....	9
	3.3. Clasificación.....	10
	3.3.1. Taxonómica.....	10
	3.3.2. Morfológica.....	11
	3.3.3. Cariosistemática.....	12
	3.4. Exigencias ecológicas requeridas por el cultivo.....	12
	3.4.1. Temperatura.....	13
	3.4.2. Clima.....	13
	3.4.3. Suelos.....	14
	3.4.4. Fotoperíodo.....	14
	3.4.5. Altitud.....	15
	3.4.6. Humedad.....	15
	3.5. El nitrógeno.....	15
	3.5.1. Importancia en las plantas.....	15
	3.5.2. Formas de nitrógeno disponible por las plantas.....	17
	3.5.3. Ciclo del nitrógeno.....	19
	3.5.4. Mineralización.....	20
	3.6. La fijación biológica del nitrógeno atmosférico.....	24
	3.6.1. Concepto de fijación de nitrógeno.....	24

3.6.2.	Teorías que explican el mecanismo de fijación.....	24
3.6.3.	Bioquímica de la fijación de nitrógeno... ..	26
3.6.4.	Influencia del medio ambiente en la fijación del nitrógeno.....	28
3.6.5.	Características generales de <u>Rhizobium</u>	33
3.6.6.	Taxonomía de <u>Rhizobium</u>	34
3.6.7.	Ciclo de vida de <u>Rhizobium</u>	35
3.7.	Fijación simbiótica de nitrógeno.....	35
3.7.1.	Conceptos de simbiosis.....	35
3.7.2.	Relación leguminosa- <u>Rhizobium</u>	36
3.7.3.	Formación y morfología del nódulo.....	38
3.7.4.	Longevidad de los nódulos.....	41
3.7.5.	Cantidades de nitrógeno fijados por <u>Rhizobium</u>	43
IV.	TRABAJOS AFINES.....	44
V.	OBJETIVOS E HIPOTESIS.....	49
VI.	MATERIALES Y METODOS.....	50
6.1.	Localidad.....	50
6.2.	Clima de la región.....	50
6.3.	Materiales.....	51
6.4.	Características agronómicas de la var. Sel. 4....	51
6.5.	Características edáficas del terreno experimental	53
6.6.	Especificaciones del experimento.....	53
6.7.	Preparación del terreno.....	54
6.8.	Muestreo del suelo.....	55
6.9.	Inoculación de la semilla.....	55

6.10. Siembra.....	56
6.11. Labores de cultivo.....	57
6.12. Riegos.....	58
6.13. Cosecha.....	58
6.14. Variables estudiadas.....	59
VII. RESULTADOS.....	61
VIII. DISCUSION.....	63
IX. CONCLUSIONES.....	65
X. RECOMENDACIONES.....	66
XI. RESUMEN.....	67
XII. BIBLIOGRAFIA.....	69
XIII. APENDICE.....	76

INDICE DE CUADROS, TABLAS Y FIGURAS

CUADRO	Contenido	Pág.
1	Concentración de datos para peso de la planta (grs). Evaluación de 4 cepas de <u>Rhizobium phaseoli</u> en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.....	77
2	Análisis de varianza para peso de la planta (grs).. Evaluación de 4 cepas de <u>Rhizobium phaseoli</u> en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.....	77
3	Concentración de datos para número de granos por -- vaina. Evaluación de 4 cepas de <u>Rhizobium phaseoli</u> - en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.....	78
4	Análisis de varianza para número de granos por vai- na. Evaluación de 4 cepas de <u>Rhizobium phaseoli</u> en- frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.....	78
5	Concentración de datos para altura de la planta --- (cms). Evaluación de 4 cepas de <u>Rhizobium phaseoli</u> - en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.....	79
6	Análisis de varianza para altura de la planta (cms). Evaluación de 4 cepas de <u>Rhizobium phaseoli</u> en fri- jol . Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.....	79

CUADRO	Contenido	Pág.
7	Concentración de datos para número de vainas por -- planta. Evaluación de 4 cepas de <u>Rhizobium phaseoli</u> en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.....	80
8	Análisis de varianza para número de vainas por plan- ta. Evaluación de 4 cepas de <u>Rhizobium phaseoli</u> en- frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.....	80
9	Concentración de datos para peso del grano (grs). Evaluación de 4 cepas de <u>Rhizobium phaseoli</u> en fri- jol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.....	81
10	Análisis de varianza para peso del grano (grs). Eva- luación de 4 cepas de <u>Rhizobium phaseoli</u> en frijol Marín, N.L . Ciclo tardío 1986.....	81
11	Concentración de datos para peso de vainas con gra- no (grs). Evaluación de 4 cepas de <u>Rhizobium phase- oli</u> en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.....	82
12	Análisis de varianza para peso de vainas con gra- no (grs). Evaluación de 4 cepas de <u>Rhizobium phase- oli</u> en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.....	82
13	Concentración de datos para número de granos por -- planta. Evaluación de 4 cepas de <u>Rhizobium phaseoli</u> en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.....	83

CUADRO	Contenido	Pág.
14	Análisis de varianza para número de granos por planta. Evaluación de 4 cepas de <u>Rhizobium phaseoli</u> en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.....	83
15	Concentración de datos para el % de nitrógeno. Evaluación de 4 cepas de <u>Rhizobium phaseoli</u> en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.....	84
16	Análisis de varianza para el % de nitrógeno. Evaluación de 4 cepas de <u>Rhizobium phaseoli</u> en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.....	84
17	Esquema de la clasificación de las asociaciones --- <u>Rhizobium</u> -leguminosa.....	85
18	Datos de temperaturas máximas, mínimas y medias en °C, de los meses Agosto a Diciembre de 1986 en Marín, N.L.....	86
18	Precipitación registrada (mm) durante los meses de Agosto a Diciembre de 1986 en Marín, N.L.....	86
19	Características físico-químicas del suelo del sitio experimental.....	87

TABLAS	Contenido	Pág.
1	Determinación del nitrógeno de la planta.....	88
2	Cálculo del nitrógeno consumido por la planta.....	89
3	Determinación del nitrógeno fijado por la planta...	90
4	Determinación del nitrógeno total acumulado.....	91

FIGURAS

1	Ciclo del nitrógeno.....	92
2	Esquema de la fijación biológica del nitrógeno según Virtanen.....	25
3	Esquema de la fijación biológica del nitrógeno propuesta por Burris y Wilson.....	25
4	Fijación del nitrógeno: pasos en la reducción de N_2 a NH_3	93
5	Ciclo de vida de <i>Rhizobium</i>	94
6	Distribución al azar de los tratamientos en el campo. Evaluación de 4 cepas de <u><i>Rhizobium phaseoli</i></u> en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.....	95
7	Etapas de formación de un nódulo radical.....	96

I. INTRODUCCION

El frijol es un grano que se consume mucho en la alimentación humana, en México este cultivo se utiliza en casi todas las comidas, por lo cuál la producción nacional en algunos años apenas alcanza a cubrir las necesidades del pueblo, y los excedentes destinados a la producción son muy reducidos.

Esta leguminosa esta considerada como el segundo cultivo-básico, después del maíz, en el pueblo mexicano, en lo que respecta a importancia, ya que es una fuente principal de proteínas e hidratos de carbono, además de esta planta se emplean las semillas y los frutos cuando aún no han madurado (ejotes).

La fertilización juega un papel muy importante en el crecimiento y desarrollo de los cultivos respectivamente, ya que una buena adecuada fertilización ayudará a incrementar los rendimientos.

Es ampliamente conocido que el nitrógeno es el elemento más abundante en la atmósfera, aproximadamente el 79% del aire esta compuesto por éste.

Por otra parte se ha encontrado que en la mayoría de los suelos de México y del mundo, el nitrógeno es insuficiente para el desarrollo normal de los cultivos, por lo que es necesario añadirlo en forma de fertilizante (orgánico e inorgánico).

La creciente escasez de fertilizante nitrogenado, el alto requerimiento de energía para su fabricación y principalmente el incremento de su producción, han producido gran interés en -

la búsqueda de tecnologías, alternativas para obtenerlo. Por otro lado, la fertilización trae como consecuencia problemas -- de salinidad, cambios de pH y puesto que el fertilizante es un subproducto del petróleo, es un recurso no renovable.

Debido a lo anterior, la fijación biológica de nitrógeno -- atmosférico, es una alternativa con que puede contar el hombre -- para substituir las aplicaciones de elementos nitrogenados. Este tipo de fijación, se logra gracias a una asociación simbiótica que existe entre las bacterias del género Rhizobium sp. y -- una planta leguminosa, de dicha asociación la planta recibe nitrógeno, el cual fue previamente convertido en formas utilizables, a su vez la bacteria recibe de la planta glucosidos que -- sirven como fuente de energía para su desarrollo.

En México, como en otros países en vías de desarrollo, la dieta alimenticia básica esta formada generalmente por dos familias de plantas: las gramíneas; ya sea maíz, arroz, trigo, etc. y las leguminosas: ya sea frijol (principalmente), chícharo, soya, etc. De tal forma que si nosotros utilizamos alternativas -- que disminuya el consumo nacional de fertilizantes nitrogenados, como lo hacen las leguminosas debido a su asociación simbiótica, será ventajoso ya que este fertilizante ahorrado podrá ser destinado a otros cultivos que no tengan la particularidad de fijar nitrógeno, como lo son las gramíneas.

Desde el punto de vista agronómico la asociación simbiótica Rhizobium-leguminosa reviste especial interés, ya que las leguminosas han sido empleadas en el sistema llamado rotación de cultivos con el propósito de mejorar las tierras con respecto a su con

tenido de nitrógeno, este método constituye en la actualidad el medio más práctico de enriquecer el suelo en forma natural con ese elemento.

El presente trabajo forma parte de una línea de investigación dentro del proyecto de "Fijación Biológica de Nitrógeno" - de la F.A.U.A.N.L. en coordinación con el C.O.N.A.C.Y.T. y se enfoca al estudio de 4 cepas de Rhizobium.

II. BREVE HISTORIA

La primera demostración experimental de que las leguminosas fijan el nitrógeno atmosférico se debe a Boussingault, en 1838 este químico francés midió y comparó el contenido total en nitrógeno de varias semillas y de las plantas que nacieron de ellas, a los tres meses de desarrollo en un suelo al que no se había añadido ningún abono nitrogenado. Al observar que el contenido en nitrógeno de las plantas era casi igual al de las semillas en el caso de cereales (trigo, cebada) y doble en las leguminosas (trébol, guisante), Boussingault concluyó que, a diferencia de las demás plantas, las leguminosas fijan el nitrógeno atmosférico. Con ello explicaba la práctica agrícola que se utilizaba desde la antigüedad, aunque de modo empírico, y que consiste en el mantenimiento de la fertilidad de los suelos mediante la alternativa de cultivos de cereales y leguminosas (Senez, 1976).

Lachman (1858), y después Woronin (1863), observaron que los nódulos característicos de las raíces de las leguminosas, conocidas desde el siglo XVII, contienen gran cantidad de microorganismos a los que Brunchorst (1885) llamó "bacteroides". La función de estos bacteroides en la formación de los nódulos y en la fijación del nitrógeno quedó establecido por numerosos experimentos demostrativos de que las semillas desinfectadas y sembradas en suelo estéril no forman nunca nódulos y se desarrollan mal, debido a que su crecimiento está limitado por el contenido de nitrógeno, combinado del suelo (Senez, 1976).

En 1884-1886, Hellriegel y Wilfarth, demostraron que los nódulos se debían a la actividad de las bacterias y que eran benéficos puesto que en ellos se realizaba la fijación del nitrógeno. Demostraron además que en ausencia de nódulos no había fijación de nitrógeno ni tampoco en el suelo esterilizado experimentalmente y, además se recuperaba la facultad de fijar N_2 cuando se agregaba suelo fresco (Sanchez, 1964).

Ward (1887), demostró que la formación de nódulos se debía a una infección bacteriana, se comprendió que el nódulo es una característica de la mayoría de los miembros de la familia de las leguminosas, y que tiene, además, una gran importancia desde el punto de vista de la nutrición (Whyte y Trumble, 1968).

Beijerinck (1888), logró aislar el microorganismo del nódulo radicular, al que denominó *Bacillus radicolica*, que posteriormente se cambió para designarlo con el nombre genérico de *Rhizobium* (Black, 1975).

Schloesing y Laurent (1892), demostraron que el nitrógeno fijado por las bacterias procedía del aire atmosférico. Actualmente y siguiendo a Bergey, se clasifican a estas bacterias como incluidas en el género *Rhizobium* y dentro de él en diversas especies, según los grupos de inoculación a que pertenezcan; es decir, de acuerdo con las leguminosas que son susceptibles de ser infectadas por cada grupo (Diehl, 1973).

Wipf y Cooper (1940), demostraron que el nódulo se origina por proliferación de células vegetales, reacción pseudotum

ral específica debida a la multiplicación de unas pocas células tetraploides existentes siempre en los tejidos de la raíz (Senez, 1976).

Krassilnikov y Korenyako (1944), demostraron que ciertos bacterios Gram-negativos no esporuladores podrían inhibir el desarrollo de diversas especies de Rhizobium en la rizosfera del trébol, y Hely, Bergensen y Brockwell (1957) sugirieron la posibilidad de que otros organismos de la rizosfera pudieran actuar en contra de los Rhizobium en la rizosfera de las leguminosas (Burges y Raw, 1971).

En fecha más reciente se ha confirmado la antigua teoría de que el proceso de fijación reside en los nódulos radiculares. Magee y Burris (1954), mediante el nitrógeno ^{15}N , comprobaron que los nódulos siguen fijando nitrógeno por un corto período luego de separados de las plantas. Sin embargo, no está establecido en forma definitiva que sean las bacterias nodulares las responsables directas de la fijación del nitrógeno por los nódulos (Black, 1975).

Purchase y Nutman (1957), afirman que antes de que se inicie la formación de los nódulos, Rhizobium spp, juntamente con otros microorganismos, se multiplica en las rizosferas de las leguminosas de modo que, en esta fase inicial del crecimiento de la raíz (de 3 a 10 días después de la germinación de las semillas) se han registrado poblaciones de 10^6 a 10^9 Rhizobium spp/ml de suelo de la rizosfera (Burges y Raw, 1971).

Allen y Allen (1958), encontraron que la disección de un-

nódulo radical pone de manifiesto la presencia de un pigmento-rojo de propiedades notablemente parecidas a las de la hemoglobina de los glóbulos rojos de la sangre, dicho pigmento se denomina con propiedad hemoglobina y resulta ser un producto del complejo Rhizobium-leguminosa, puesto que no se encuentra presente en ninguno de los dos organismos cultivados aisladamente (Devlin, 1980).

III. REVISION DE LITERATURA

3.1. Importancia del cultivo

El frijol a nivel nacional se considera uno de los cultivos más importantes en razón de la superficie dedicada a su producción, la cantidad de grano que se consume y por la actividad económica que genera.

En México la superficie dedicada a este cultivo ha llegado a superar los dos millones de hectáreas, aunque dicha cifra ha sido variable a través de los años, principalmente debido a los estímulos de los precios de garantía.

A partir de 1971, cuando se registró la mayor superficie cultivada con frijol (1'965,126 ha), el precio de garantía se mantuvo casi estable, ocasionando disminución en la superficie de producción hasta aproximadamente un millón de hectáreas en 1979, lo que repercutió en déficit de este grano para el consumo nacional.

El cultivo de frijol se practica en toda la República Mexicana, sin embargo existen regiones que destacan por la superficie destinada a su producción y por la cantidad de grano que aportan al consumo nacional, tal es el caso de los estados de Zacatecas, Durango, Chihuahua, Sinaloa, Nayarit, Jalisco y Tamaulipas (Lépiz y Navarro, 1983).

En la actualidad el frijol es uno de los cultivos más importantes de México ya que, de acuerdo con datos estadísticos de 1962, ocupa el segundo lugar en importancia como alimento -

básico, después del maíz, y el sexto lugar por el valor de la producción nacional a continuación del maíz, algodón, trigo, caña de azúcar y café (Robles, 1974).

Bressani (1967), señala que el contenido de proteína del frijol oscila entre el 19.2 a 27.9%.

3.2. Origen

El frijol común Phaseolus vulgaris L. lo consideró Linneaeus (1753) como de origen asiático y señaló a la India como posible centro de diversificación por su gran variedad de tipos. Posteriormente De Candolle (1886) basado en algunos escritos griegos señaló primero que el frijol procedía de Asia Occidental, opinión que modificó después de haberse descubierto semillas de P. lunatus L. y P. vulgaris L. en excavaciones hechas en Perú (Lépiz y Navarro, 1983).

Exploraciones realizadas en México han mostrado que las variedades silvestres de Phaseolus vulgaris L., (frijol común) crecen a lo largo de la sierra madre occidental, en una franja de transición ecológica situada entre 500 y los 1,800 msnm, aunque la mayor frecuencia de estas variedades ocurre a los 1,200 metros aproximadamente (Miranda, 1967).

Robles (1974), indica que el frijol es nativo del área México-Guatemala y se ha venido cultivando en México por más de 4,000 años, según datos de restos arqueológicos encontrados en las cuevas de la región de Ocampo, Tamaulipas; y en la cueva de Coaxcatlán, Puebla. Este largo período en que el frijol ha

estado bajo domesticación, aunado a la gran diversidad de condiciones ecológicas que prevalecen en las diferentes regiones agrícolas de México, permitieron adquirir a las especies una variabilidad genética muy grande debido a mutaciones espontáneas, recombinación genética y selección.

Ruiz (1977), señala que esta leguminosa llamada "etl" entre los antiguos mexicanos, era cultivada por estos desde la época anterior a la conquista; su origen es confuso, pero es un hecho que los españoles lo llevaron de México a Europa y su explotación se extendió por casi toda América.

3.3. Clasificación

3.3.1. Taxonómica

Bukart (1952), citado por Lépiz y Navarro (1983), proporciona la siguiente clasificación taxonómica para el frijol común nominado por Linneo en 1753, como Phaseolus vulgaris:

Orden.....Rosales
 Familia.....Leguminosae
 Subfamilia.....Papilionoideae
 Tribu.....Phaseoleae
 Subtribu.....Phaseolinae
 Género.....Phaseolus
 Especie.....Phaseolus vulgaris L.

El género Phaseolus según Ditmer et al., (1937) citados por Miranda (1966a) consta de 180 especies aproximadamente, de las cuales 126 proceden del Continente Americano, 54 del Sur -

de Asia y Oriente de Africa, 2 de Australia y una de Europa. No obstante la gran variabilidad genética presente en este género sobre todo en Mesoamérica, los investigadores actuales están de acuerdo en que es menor el número de especies de *Phaseolus*, ya que muchas de ellas son sinónimos y varias pertenecen en realidad a otros géneros como *Vigna* (Lépiz, 1983).

3.3.2. Morfológica

El frijol llamado también judía, habichuela, poroto, etc; es una planta herbácea y anual, la cual presenta las siguientes características morfológicas, según Ruiz (1977).

Raíz.- Es típica o pivotante ramificada en su origen, en la que después se notan nudosidades bacterianas que fijan el nitrógeno atmosférico.

Tallo.- Este puede ser corto y robusto, o más frecuentemente rastrero y voluble, con pelos cortos y rígidos que favorecen adhesión a su soporte.

Hojas.- Exceptuando las dos primeras, son compuestas, alternas, pecioladas, de color verde claro, con tres folíolos cordiformes (trifoliadas), y provistas de estípulas y estípulas persistentes.

Flores.- Estas tienen forma amariposada, presentan un color variable en las distintas especies (rojo, blanco, purpúreo, etc.) y están agrupadas en racimos que salen de las axilas foliares.

El cáliz es pequeño con cinco sépalos; la corola, dialipé

tala, con el estandarte más corto o del mismo largo que las alas, y la quilla con el extremo agudo y torcido en espiral.

Los estambres son diez, de los cuales nueve están unidos por sus filamentos y uno permanece libre; el ovario es unicarpelar, unilocular y con muchos óvulos.

Fruto.- Es una vaina o legumbre (ejote) colgante, recta o arqueada, comprimida, gibosa y mucronada, que se abre en dos valvas.

Semillas.- Son de forma variable, generalmente reniforme, más o menos comprimidas y otras veces redondeadas o esféricas. Según estas, se distinguen numerosas variedades de frijol, como amarillo, blanco, colorado, bayo gordo, delgado, negro, --- habichuela, judías, etc., entre las cuales se forman incontables híbridos.

3.3.3. Cariosistemática

Karpechenko (1925), citado por Robles (1974), afirma que las cuatro especies de frijol que se cultivan en México: Phaseolus vulgaris, P. coccineus, P. lunatus y P. acutifolius, tienen un número somático de cromosomas de $2n=22$.

3.4. Exigencias ecológicas requeridas por el cultivo

Las exigencias ecológicas se refieren a las condiciones ambientales (de clima y suelo) que un determinado cultivo o especie necesitan para completar en forma total su ciclo biológico.

3.4.1. Temperatura

Ramirez (1981), citado por Pedroza (1985), opina que el frijol común (Phaseolus vulgaris L.) para su germinación requiere temperaturas mayores de 8°C; con humedad apropiada y con temperaturas entre 20 y 30°C, el frijol germina en dos o tres días después de la siembra.

La temperatura óptima general para la floración del frijol es alrededor de 15°C, a temperaturas mayores de 26-30°C y con déficit de humedad, generalmente las plantas abortan una considerable cantidad de flores, esto último ocurre muy comúnmente en el ciclo temprano en la región al coincidir la floración con altas temperaturas. La temperatura óptima para maduración de frutos es alrededor de 20°C.

Con temperaturas menores a las arriba mencionadas, el desarrollo normal del cultivo puede ser afectado al retrasar su desarrollo, así mismo se debe evitar que su ciclo vegetativo coincida con la época de heladas de cada región en que se vaya a cultivar (Ramirez, 1981a).

3.4.2. Clima

Respecto al clima, el frijol es muy sensible al frío y únicamente puede desarrollarse a temperaturas superiores a los 16°C, por ser una planta más propia de ser cultivada en climas templados, secos y ligeramente calurosos, que en los fríos o relativamente fríos. También puede perjudicarlo un excesivo calor, evitando la fecundación floral y que amarre el fruto.

3.4.3. Suelos

El frijol prospera bien en suelos fértiles de estructura media, como el franco limoso-arcilloso; los suelos deben ser profundos y bien drenados con un pH entre 5.5 y 6.5. Los suelos pesados son frecuentemente húmedos y fríos causando el crecimiento lento de la planta.

Los suelos con alto contenido de materia orgánica pueden favorecer el excesivo crecimiento vegetativo de la planta en perjuicio de la producción de semillas o vainas (SEP, 1981).

3.4.4. Fotoperíodo

Edmon y Mateo (1976), citados por García y Guerra (1985), indican que el cultivo del frijol se clasifica dentro de las plantas que requieren una corta duración del período de luz, aunque el efecto del fotoperíodo sobre la floración no es importante, ya que la mayoría de las variedades que existen actualmente son indiferentes a este.

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

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

3.4.5. Altitud

El frijol común en México se siembra desde el nivel del mar hasta alturas, de 2500 m.s.n.m., cubriendo una superficie aproximada de dos millones de hectáreas con características -- ecológicas, económicas y sociales muy diferentes.

3.4.6. Humedad

Se puede producir bajo condiciones de temporal si existe una buena precipitación durante su ciclo vegetativo, tal como unos 600 milímetros o más, en los lugares donde no alcanza deberá recurrirse al riego (Bailey, 1961).

3.5. El nitrógeno

3.5.1. Importancia en las plantas

El nitrógeno no se halla en las rocas ni en los minerales primarios de la corteza terrestre. Todo el nitrógeno del suelo proviene de la atmósfera, a través de los procesos de fijación, que producen 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 o con oxígeno (Thompson, 1962).

Este elemento tiene vital importancia para la nutrición de la planta, las formas más comúnmente asimiladas por las plantas son los iones de nitrato (NO_3^-) y el amonio (NH_4^+). La urea (NH_2CONH_2) puede ser también absorbida por las plantas (Nelson y Tisdale, 1982).

Este macronutriente es esencial para las plantas, pues entra en la composición de un gran número de compuestos orgánicos que comprenden principalmente aminoácidos, proteínas, coenzimas, ácidos nucleicos y clorofila (Sivori, 1980).

Probablemente el papel más importante del nitrógeno en -- las plantas es su participación en la estructura de la molécula proteica. Además, el nitrógeno se encuentra en moléculas -- tan importantes como las purinas, pirimidinas, porfirinas y coenzimas. Las purinas y pirimidinas se encuentran en los áci-- dos nucleicos, RNA y DNA, esencialmente para la síntesis de -- proteínas. El anillo de la porfirina se encuentra en compues-- tos tan importantes, desde le punto de vista metabólico, como las clorofilas y los enzimos del grupo de los citocromos, esenciales para la fotosíntesis y respiración (Devlin, 1975).

Las plantas que viven en un medio deficiente de nitrógeno casi no crecen. Aquellas que disponen de una cantidad suficiente para alcanzar un crecimiento limitado, exhiben síntomas de deficiencia que consisten en un amarillamiento general-- (clorosis) debido a la disminución de su contenido de clorofila, especialmente en las hojas viejas, en casos severos estas hojas se vuelven totalmente amarillas y eventualmente caen de la planta. Las hojas jóvenes permanecen más tiempo a causa de las formas solubles de N que se trasladan desde las hojas más-- viejas a medida que los compuestos nitrogenados se degradan.

Las cantidades elevadas de nitrógeno generalmente determinan un color verde oscuro y abundancia del follaje, con un sistema radical pobremente desarrollado.

El nitrógeno tiende al principio a favorecer el crecimiento vegetativo superficial del suelo e impartir un favorable color verde a las hojas. En los cereales aumenta la corpulencia de los granos y de su porcentaje en proteínas, en todas las plantas el nitrógeno es un regulador, que gobierna en considerable grado el uso de K y P y otros constituyentes (Buckman y Brady, 1970).

Sin embargo existen diferentes efectos negativos que se presentan debido a la aplicación de cantidades excesivas de nitrógeno, entre estos efectos encontramos los siguientes:

- a) Prolongación del período de crecimiento y retraso de la madurez.
- b) Excesivo crecimiento de los entrenudos que forman así un largo y débil tallo.
- c) Puede hacer bajar la calidad del grano, debido a la falta-óptima de sequedad del mismo.
- d) En ocasiones puede hacer disminuir la resistencia a las enfermedades. Esto es debido a la succulencia que presentan los tejidos (Buckman y Brady, 1977).

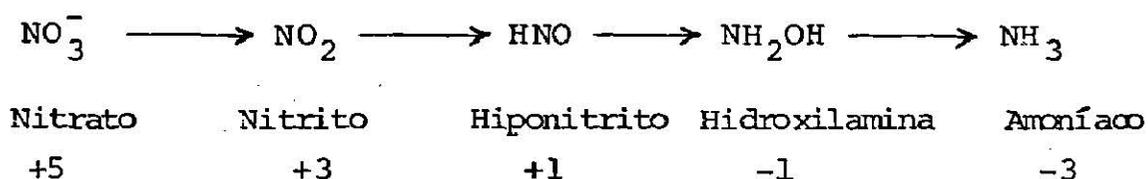
3.5.2. Formas de nitrógeno disponible por las plantas.

Las formas de nitrógeno que se encuentran a disposición de la planta pueden distribuirse en 4 grandes grupos:

1. Nitrógeno en forma de nitrato
2. Nitrógeno en forma amoniacal
3. Nitrógeno en forma orgánica
4. Nitrógeno molecular

1-2. Nitrógeno en forma nitrato y amoniacal. Las raíces de la mayor parte de las plantas superiores absorben nitrógeno del suelo en forma nitrato (NO_3^-). Sin embargo el nitrógeno en esta forma no puede ser directamente empleado por la planta, - sino que debe ser reducido hasta amoníaco antes de que pueda - ser incorporado a los compuestos nitrogenados de la planta.

La secuencia de la reducción de NO_3^- en NH_4^+ se realiza como sigue:



El nitrógeno en forma de nitrato, es una forma inorgánica producto de la descomposición de las proteínas gracias al proceso de nitrificación. Mientras que el nitrógeno en forma amoniacal (NH_4^+), es producto de la reducción del amoníaco, que es un compuesto intermedio del proceso de nitrificación y que se produce específicamente en una fase llamada amonización.

3. Nitrógeno en forma orgánica. Como fuente nitrogenada para su crecimiento, muchas plantas pueden utilizar también nitrógeno orgánico, además de nitrógeno inorgánico. Muchos de los aminoácidos y de las aminas suministrarían así nitrógeno aprovechable para el crecimiento de la planta. Así mismo, la urea representa una buena fuente de nitrógeno orgánico. Gran parte del nitrógeno del suelo se encuentra en forma orgánica, básicamente en forma de proteínas. La degradación de las pro-

teínas libera aminoácidos libres que, a su vez, son oxidados - hasta el nivel de nitrato antes de ser absorbido por la planta, o bien, dichos aminoácidos pueden ser empleados directamente - por el vegetal.

4. Nitrógeno molecular (N_2). La fuente de nitrógeno más abundante existente en la tierra es la atmósfera, que lo contiene en forma molecular. Sin embargo, sólo relativamente pocas plantas son capaces de asimilar o "fijar" nitrógeno a partir de esta abundantísima reserva, y corresponden exclusivamente a plantas inferiores, tales como ciertos grupos de bacterias y de algas azules. El empleo directo de nitrógeno molecular se denomina fijación asimbiótica de nitrógeno, y la utilización indirecta de nitrógeno molecular se llama fijación simbiótica de nitrógeno (Devlin, 1975).

En esta forma de nitrógeno, es donde intervienen las bacterias del género Rhizobium sp.

3.5.3. Ciclo del nitrógeno

Los elementos químicos utilizados por las plantas pasan a través de un ciclo de cambios químicos mientras son absorbidos utilizados, y restraudados a una forma en la que puedan otra vez ser absorbidos.

El ciclo del nitrógeno (Fig. 1) en el que las bacterias desempeñan varios papeles importantes, es un ciclo interesante y delicadamente balanceado.

Los pasos principales en el ciclo del nitrógeno, según -- Cronquist (1977), son los que a continuación se indican:

1. Los nitratos son absorbidos por las plantas y utilizados en la manufactura de proteínas y otros compuestos orgánicos nitrogenados.

Algunas de las proteínas producidas por las plantas son consumidas por los animales y utilizadas en la formación de -- sus propias proteínas.

2. Proteínas animales y vegetales (y otros compuestos nitrogenados) y desechos nitrogenados son utilizados como fuente de alimento por bacterias y hongos de la descomposición, dando como resultado la formación de amoníaco y compuestos de amonio.

3. Estos compuestos amoniados son oxidados a nitritos por Nitrosomonas y otras bacterias.

4. Los nitritos son oxidados a nitratos por Nitrobacter y otras bacterias.

3.5.4. Mineralización

La conversión de nitrógeno orgánico al estado de nitrógeno inorgánico, mas móvil, se conoce como mineralización del nitrógeno, un proceso análogo a la liberación de CO_2 a partir de los materiales carbonados en el que ambas transformaciones dan como resultado la liberación de los elementos en formas inorgánicas (Alexander, 1980).

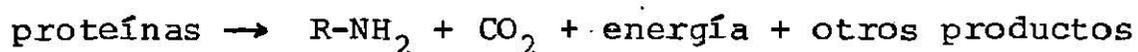
La mineralización de los compuestos nitrogenados orgánicos se produce etapa por etapa en tres reacciones esenciales:

aminización, amonificación y nitrificación. Las dos primeras se efectúan a través de microorganismos heterótrofos, y la tercera es realizada sobre todo por bacterias autótrofas del terreno.

Los heterótrofos requieren como fuente de energía compuestos carbonados orgánicos, los autótrofos obtienen su energía de la oxidación de sales inorgánicas, y obtienen el carbono necesario del CO_2 de la atmósfera que los rodea.

A continuación se da una explicación de las 3 reacciones esenciales:

Aminización. Una de las etapas finales en la descomposición de los materiales nitrogenados es la descomposición de las proteínas, y la liberación de aminas y de aminoácidos. Esta etapa es denominada aminización, y es una función que realizan algunos de los organismos heterótrofos. Se representa esquemáticamente como sigue:



Amonificación. Las aminas y los aminoácidos así liberados son utilizados ulteriormente por otros grupos de organismos heterótrofos con la liberación de compuestos amoniacales. Esta etapa se denomina amonificación y se representa como sigue:



El amoníaco así liberado sufre destinos diversos en el suelo:

1. Puede ser convertido a nitritos y nitratos por el pro-

ceso de nitrificación.

2. Puede ser absorbido directamente por las plantas superiores.

3. Puede ser utilizado por los organismos heterótrofos en posteriores descomposiciones de los residuos carbonados orgánicos.

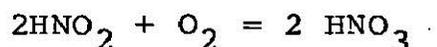
4. Puede ser fijado en una forma no utilizable biológicamente en los tramados de ciertos tipos de arcillas minerales en expansión (Nelson y Tisdale, 1982).

Los factores que favorecen la amonificación, según Buckman y Brady 1977 y Meyer 1970, son los siguientes:

1. Cantidad de carbohidratos disponibles
2. Composición química del material nitrogenado
3. Microorganismos involucrados
4. Acidez, aereación y humedad del suelo.

Nitrificación. Otro efecto benéfico de los organismos del suelo es la conversión del nitrógeno amoniacal a nitrógeno de nitrato, es decir, el proceso de la nitrificación. El hecho de que los nitratos producidos en el suelo sean las fuentes principales de nitrógeno aprovechable para la mayoría de las plantas agrícolas hace de este proceso uno de los más importantes en biología. La conversión es realizada por dos tipos o grupos de bacterias dentro de los cuales hay varias especies, y a las cuales se denomina bacterias nitrificadoras o nitrificantes, siendo particularmente más abundantes en los suelos ricos que en los pobres e improductivos.

Biológicamente la conversión de amoníaco a nitrógeno de nitratos es el resultado de dos procesos diferentes. En primer lugar el amoníaco se cambia a nitrógeno de nitrito por la acción de dos grupos de bacterias, Nitrosomonas y Nitrosococcus; en segundo lugar el nitrito se convierte en nitrato por la acción de otro grupo bacteriano, las Nitrobacter. Estos organismos nitrificantes utilizan la energía liberada en los procesos de nitrificación para su crecimiento y carbono de la atmósfera. Las reacciones que indican los dos pasos de la nitrificación pueden representarse como sigue:



Estas reacciones muestran que el cambio es un proceso de oxidación, siendo probable que el HNO_2 sea neutralizado por combinación con un elemento básico, como el calcio, antes de oxidarse en la forma de nitrato.

Los principales factores que afectan a la nitrificación, es decir a la actividad de las bacterias nitrificantes en los suelos cultivados y sobre los cuales pueden tener control el agricultor, hasta cierto punto son el drenaje, la existencia de materia orgánica y la reacción del suelo. El drenaje aumenta la aereación, y como la nitrificación es un proceso de oxidación, es obvia la necesidad de nitrógeno. La reacción óptima para los organismos nitrificadores varia entre pH 7.0 y pH 8.0, aún cuando existen algunas líneas que se desarrollan bien con pH de 3.5 o de 10.0; sin embargo su actividad en estos casos se

ve retardada tanto en los suelos altamente alcalinos como en -- los altamente ácidos (Velasco, 1960).

3.6. La fijación biológica del nitrógeno atmosférico

3.6.1. Concepto de fijación de nitrógeno

Las bacterias de las leguminosas, con el nitrógeno gaseoso obtenido del aire del suelo producen amoníaco empleando como -- fuente de energía el azúcar u otros compuestos que se encuen--- tran en las leguminosas, este proceso es conocido como fijación de nitrógeno. Parte del amoníaco formado se combina con azú-- car, que las bacterias usan en la producción de aminoácidos y - proteínas para su propio consumo. En condiciones normales se - forma un exceso de amoníaco, compuesto de gran valor que es in corporado y empleado por la planta leguminosa (Wilson y Walter, 1968).

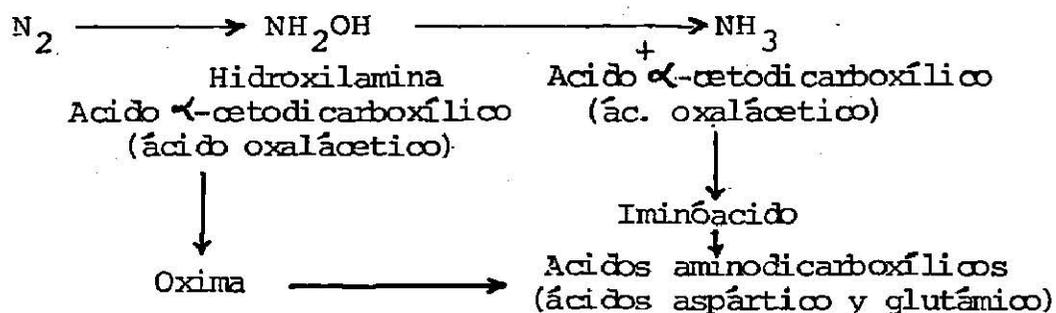
3.6.2. Teorías que explican el mecanismo de fijación

Se han expuesto diversas teorías para explicar el mecanismo de la fijación biológica de nitrógeno. Salle 1965, señala - que las dos más importantes parecen ser la Virtanen (1948) y la de Burris y Wilson (1945).

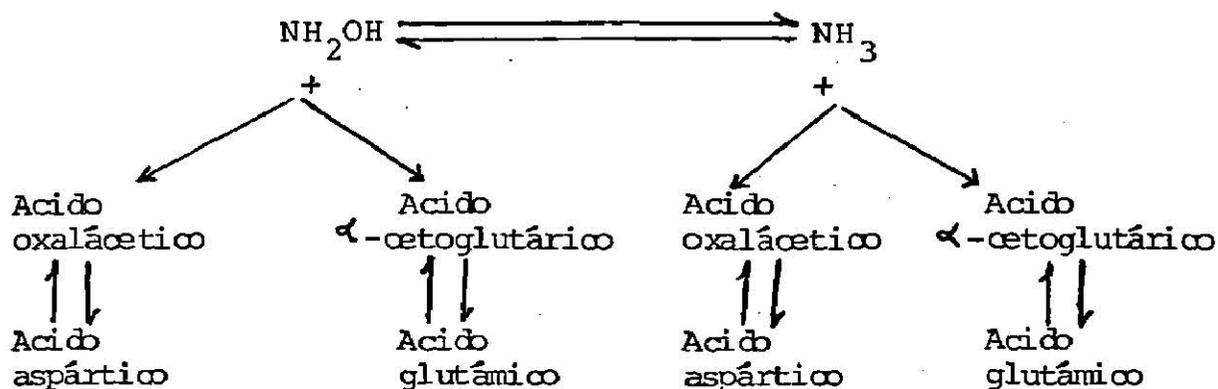
i) Teoría de Virtanen. Se inoculan legumbres con un micro-organismo activo del nódulo, y se siembran en un cultivo esterilizado exento de nitrógeno. En cuanto se forman nódulos, aparecen compuestos nitrogenados, que pasan al suelo desde los nódulos radicales, y no desde las raíces. En algunos casos se

elimina más de la mitad del nitrógeno total fijado, y abunda más en plantas jóvenes donde los nódulos continúan desarrollándose y no muestran signos de decadencia. El nitrógeno eliminado es principalmente amínico, en forma de ácidos L-aspártico y L-glutámico; también se encuentra algo de B-alanina, procedente del ácido L-aspártico por descarboxilación. En los productos eliminados se encontraron también pequeñas cantidades de N de oximas y de nitritos.

Figura 2. Esquema de fijación biológica del nitrógeno:



ii) Teoría de Burris y Wilson. Como compuesto nitrogenado central se toma hidroxilamina de la que se obtiene amoníaco por reducción, y que puede reaccionar también directamente con un cetoácido. El esquema que proponen estos autores es el siguiente (Figura 3):



Ambas teorías postulan la formación de ácidos aminodicarboxílicos como aminoácidos primarios en la fijación biológica del nitrógeno.

3.6.3. Bioquímica de la fijación de nitrógeno

En el proceso de fijación el nitrógeno es reducido a amoníaco y este es convertido en la forma orgánica. El proceso de reducción es catalizado por la enzima nitrogenasa, que consiste en dos componentes proteínicos separados llamados componentes I y II. Los dos componentes contienen hierro, y el componente I además contiene molibdeno. Los componentes de la nitrogenasa son inactivados por el oxígeno, incluso si son aislados a partir de un aerobio. Debido a la estabilidad del enlace $N \equiv N$, el nitrógeno es extremadamente inerte y su reducción es un proceso que requiere mucha energía. Tienen que transferirse seis electrones para reducir el nitrógeno a $2 NH_3$, y pueden suponerse varios pasos intermedios, pero puesto que nunca se han aislado intermedios, actualmente se supone que los tres pasos de reducción sucesivos tienen lugar con los intermedios firmemente unidos al enzima. La fijación del nitrógeno es de naturaleza altamente reductora y el proceso es inhibido por el oxígeno. En las bacterias aerobias la fijación de nitrógeno tiene lugar en presencia de oxígeno en las células enteras, pero no en las preparaciones enzimáticas purificadas, y se cree que la nitrogenasa, dentro de las células, se halla en un microambiente protegido del oxígeno. Algunas bacterias que pueden crecer tanto aeróbicamente como anaeróbicamente, fijan nitrógeno sólo en condicio

nes anaeróbicas.

Los electrones para la reducción del nitrógeno son transferidos a la nitrogenasa desde la ferredoxina, el transportador de electrones es de bajo potencial redox. (De hecho, la ferredoxina se descubrió primeramente en las bacterias fijadoras de nitrógeno al realizar estudios sobre la naturaleza del transportador de electrones en la fijación del nitrógeno y luego se encontró que también estaba presente en los organismos no fijadores de nitrógeno).

En todos los organismos estudiados, además de la ferredoxina reducida es necesario el ATP para la fijación del nitrógeno. Los electrones son primeramente transferidos al componente II, la ferroproteína, aunque el componente II debe primeramente reaccionar con el ATP antes de que pueda aceptar electrones.

Una vez que el componente II es reducido, puede reaccionar con el componente I oxidado, la proteína ferromolibdénica, que luego es reducida. El componente I reducido puede ahora convertir el nitrógeno (N_2) a amonio (NH_4) Figura 4.

La nitrogenasa no es específica para el nitrógeno, sino que también reduce el cianuro (CN^-), el acetileno ($HC=CH$) y varios otros compuestos. La reducción del acetileno es solamente un proceso de dos electrones y se produce etileno ($H_2C=CH_2$). La reducción del acetileno probablemente no tiene una finalidad práctica para la célula, pero proporciona al experimentador una manera simple de medir la actividad de los sistemas fijadores de nitrógeno ya que es fácil medir la reducción del acetileno-

a etileno ($H_2C=CH_2$). Esta técnica se emplea actualmente para detectar la fijación de nitrógeno en sistemas desconocidos.

Otro método para probar la fijación de nitrógeno es mostrar un incremento neto en el contenido total de nitrógeno del medio más el de los organismos después de la incubación; debería suponerse que el nitrógeno incrementado sólo podría proceder del nitrógeno del aire. Un procedimiento más sensible es utilizar un isótopo del nitrógeno N^{15} , como trazador (El N^{15} es un isótopo radiactivo, sino estable, y su presencia debe detectarse con el espectómetro de masa) (Brock, 1979). La fase gaseosa de un cultivo es enriquecida con N^{15} y después de la incubación son dirigidas las células y el medio; el amoníaco producido es destilado y se comprueba su contenido en N^{15} . Si ha habido una producción significativa de NH_3 marcado con N^{15} , ello prueba que hay fijación de nitrógeno. Sin embargo, el método de reducción de acetileno es un procedimiento todavía más sensible para medir la fijación de nitrógeno y esta sustituyendo rápidamente al método del N^{15} .

3.6.4. Influencia del medio ambiente en la fijación del nitrógeno.

Los factores del medio ambiente que modifican la fijación de nitrógeno se pueden considerar como de tres tipos: físicos, nutricionales y biológicos.

Factores físicos.- Ejemplos de estos factores son: el aire, la temperatura, humedad del suelo, luz y reacción del suelo.

Aire.- Existen algunas indicaciones de que el requerimiento de oxígeno no es el mismo para todos los tipos de Rhizobia (Fedorov y Lasko, 1956; Virtanen y Laine, 1945). Estos dos últimos investigadores, afirman que no se forma en los nódulos la leghemoglobina, cuando hay una carencia de oxígeno.

Temperatura.- De acuerdo con Gukova (1945) una disminución de 5°C en la temperatura óptima del suelo ocasiona una reducción de 4.5% en la cantidad de nitrógeno fijado; en cambio cuando se aumenta en 4°C, la fijación se reduce en un 50%. Temperaturas abajo de 6.5°C no afectan el poder infectante. La temperatura óptima para el desarrollo y función de los Rhizobia esta entre 20 y 24°C.

Humedad del suelo.- Esta bacteria es extremadamente sensible a la sequía; solamente unas cuantas células pueden sobrevivir cuando la mezcla del 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. Generalizando, es deseable en el suelo un alto contenido de humedad, pero éste no debe llegar a un estado de sobresaturación, para conseguir una máxima asimilación de nitrógeno.

Luz.- Un exceso de luz, induce una formación excesiva de carbohidratos y eso trae como consecuencia una disminución en la fijación de nitrógeno. Es necesario que exista un óptimo en la intensidad de luz para tener una máxima nodulación y por lo tanto, fijación de nitrógeno (Fred y Wilson 1934); Fred y colaboradores, 1938, Bayu, 1936, 1939). Si una planta en proceso -

de nodulación es puesta en la oscuridad, la formación de nódulos cesa y los formados degeneran; la hemoglobina se destruye y dá origen a pigmentos verdes. Diener (1950) hace notar que cuando la intensidad de la luz normal se reduce en un 50%, hay una disminución en el número de nódulos de los guisantes; además, el tamaño de los nódulos se reduce notablemente.

Reacción del suelo.- Esta es de gran importancia, no sólo afecta el desarrollo de los Rhizobia y la producción de nódulos sino también el crecimiento y la captación del nitrógeno por las plantas. Los suelos ácidos generalmente causan deficiencias de elementos básicos como calcio, magnesio, potasio, fósforo y nitrógeno, así como la liberación de elementos tóxicos como aluminio y manganeso y además aumentar la concentración de iones hidrógeno.

Factores nutricionales.- Los elementos nutritivos más importantes que modifican la fijación de nitrógeno son: Fósforo, Potasio, Calcio, Magnesio, Azufre, Hierro, Manganeso, Boro, Cobre, Molibdeno, Cobalto.

Fósforo.- Se ha encontrado que la densidad de los nódulos existentes en la raíz es fuertemente estimulada por el fósforo, así como también el tamaño de los mismos. Diener (1950) observó que cuando los niveles de fósforo en el suelo son muy bajos los Rhizobia pueden penetrar a la raíz de las leguminosas; pero la infección se mantiene latente y los nódulos no se forman.

Potasio.- Robert y Olson (1942) encontraron que no había estimulación en la fijación de nitrógeno por el fósforo sino existía en el suelo adecuada cantidad de potasio y Poschenrie-

der y Lesch (1943) que el número de nódulos aumenta por acción del potasio, pero no así el peso de los mismos. En cambio, Die_uner (1950) asegura que el potasio no afecta la formación de nódulos en guisante.

Calcio.- Este elemento tiene influencia en la reacción del suelo, de ahí su importancia en el desarrollo de las plantas y supervivencia de Rhizobia. Sin embargo, no se ha confirmado -- que sea indispensable para el desarrollo de las bacterias nodulares.

Magnesio.- Se carece de una información amplia con relación a este elemento, pero se ha afirmado que estimula la producción de nódulos.

Azufre.- El azufre juega un papel muy importante en el metabolismo del nitrógeno, ya que es un constituyente de las proteínas.

Hierro.- Virtanen y Laine (1946) sugirieron que la hemoglobina de los nódulos participa en la fijación de nitrógeno, como un catalizador a través de los cambios de valencia del hierro, pero esto no ha sido confirmado.

Manganeso.- Se conoce muy poco acerca de los efectos del manganeso en la nodulación y fijación de nitrógeno. Cuando se encuentra en altas concentraciones de manganeso soluble (suelos ácidos), este elemento se vuelve tóxico para las leguminosas.

Boro.- Cuando existe una deficiencia de boro, el tejido -- vascular de los nódulos se desarrolla en forma anormal afectando el aspecto bacteroide.

Cobre.- Erkoma ha demostrado que cuando hay deficiencia de cobre se forma una menor cantidad de hemoglobina. Otro de los efectos es una pobre síntesis de proteínas.

Molibdeno.- Este elemento posee doble función, en pequeñas cantidades es requerido para la reducción de nitratos a amoníaco y relativamente en grandes cantidades, para la fijación de nitrógeno por leguminosas.

Cobalto.- El cobalto se requiere por las Rhizobia para la fijación del nitrógeno, la esencialidad de este elemento para la Rhizobia es debida en gran parte a la formación de la vitamina B₁₂ (cianocobalamina), la cual a su vez es esencial para la formación de la hemoglobina que se necesita para la fijación del nitrógeno (Nelson y Tisdale, 1982.).

Factores biológicos.- Dentro de estos se encuentran:

Microorganismos: Varios microorganismos patógenos tales como hongos, virus y bacterias, pueden causar una considerable reducción en la fijación de nitrógeno.

También la competencia entre Rhizobia nativos y entre efectivos e infectivos.

Además, los Rhizobia puede ser eliminados por bacteriófagos.

Muchos organismos pueden ejercer una acción antagónica, para Rhizobium, lo cual trae como consecuencia una disminución en la fijación de nitrógeno (Allen y Allen, 1950).

Plantas superiores: La nodulación puede ser afectada por -

secreciones de la raíz de leguminosas o de otras especies de vegetales (Nutman, 1953).

Insectos: Entre los insectos que pueden causar un efecto negativo en la fijación de nitrógeno, Sitonema linealus ocupa un lugar especial, pues sus larvas destruyen los nódulos de varias leguminosas (Mulder, 1948).

3.6.5. Características generales de Rhizobium.

Tanner (1948) describe a Rhizobium como una bacteria aerobia capaz de producir nódulos en las diferentes raíces de las plantas leguminosas, son Gram-negativas, miden de 0.5 a 0.9 por 1.2 a 3.0 micras, son móviles cuando jóvenes comúnmente cambian a formas bacteroides en un cultivo artificial que contiene alcaloides o glucósidos, o debido a un incremento en la acidez, o bien durante la simbiosis dentro del nódulo.

Generalmente las bacterias se reproducen asexualmente por división sencilla (fisión), división del cuerpo progenitor de dos partes hijas más o menos iguales (Salle, 1965).

Son organismos típicamente heterotróficos cuya temperatura óptima de desarrollo es de 25°C. Crecen bien en medios que contengan agua de levaduras, manitol, extractos de plantas, malta y otros materiales. Además reducen ligeramente los nitratos y no utilizan los nitritos (Sanchez, 1964).

Estos organismos pueden crecer bastante fácilmente en medios de cultivo simples, aunque algunas especies necesitan algunas de las vitaminas del grupo B para crecer activamente. Anti

guamente estas bacterias (Rhizobium) fueron denominadas Bacillus radicumicola, tienen forma típica de bastones cuando crecen en medios adecuados y activamente en los nódulos vigorosos; pero pueden adoptar formas de X, Y, T o racimos si crecen en condiciones desfavorables del medio o del nódulo, y formas características - en bandas y ramificadas en las células más viejas del nódulo (Russell y Russell, 1968).

3.6.6. Taxonomía de Rhizobium

Bergey, citado por Salle (1965) proporciona la siguiente -- clasificación taxonómica para Rhizobium:

Reino:	Vegetal
Subreino:	Thalophita
División:	Schizophita
Clase:	Schizomycetes
Orden:	Eubacteriales
Familia:	Rhizobiaceae
Género:	<u>Rhizobium</u>
Especie:	<u>phaseoli</u> , <u>trifolii</u> , <u>leguminosarum</u> , <u>japonicum</u> , <u>lupini</u> y <u>meliloti</u> .

Un concepto aceptado para clasificar al género Rhizobium - sp. es la inoculación cruzada, Alexander (1980) la define como un conjunto de especies de leguminosas que desarrollan nódulos cuando se exponen a bacterias obtenidas de los nódulos de cualquier miembro de ese grupo particular de plantas.

Fred y Wisconsin (1932) citados por Russell (1968) recono-

cen seis grupos de inoculación cruzada, basados en el supuesto de que todas las cepas que forman un grupo, podrían infectar todas las especies de plantas dentro del grupo y nunca fuera de él.

Stevenson citado por Tisdale (1982) emite un esquema de -- clasificación de las asociaciones Rhizobium-leguminosa. Cuadro 17.

3.6.7. Ciclo de vida de Rhizobium.

Los cambios de fase, es decir, los cambios rápidos y completos en la morfología, la fisiología y el comportamiento de los organismos, suceden en la mayoría de los grupos de microorganismos. Las especies de Rhizobium tienen varias fases distintas, a saber, una fase móvil en el suelo y una fase bacteroide en las nudosidades radicales (Hawker et al., 1964).

El Rhizobium pasa por un ciclo especial que comprende 5 o 6 fases: estado de cocoide, fase cocidea premovil con organismos de diámetro mayor que los anteriores; fase móvil monoflagel; fase móvil peritriquiral; fase de bastones no flagelados y, por último, fase "bacteroide" con formas vacualizadas o con la cromatina en bandas. (Sanchez, 1964).

3.7. Fijación simbiótica de nitrógeno

3.7.1. Conceptos de simbiosis

A continuación se dan diferentes conceptos de simbiosis - por varios autores:

Según Greulach (1970), la palabra simbiosis es utilizada - cuando menos en dos formas diferentes:

1) para incluir todas las interacciones entre dos especies diferentes, aunque a veces limitadas a interacciones que implican contacto físico.

2) para incluir solamente interacciones nutritivas benéficas para ambos organismos.

Robbins (1974), señala que simbiosis es una asociación de dos diferentes clases de organismos vivientes, habiendo o existiendo beneficio para ambos (Simbiosis=del griego syn, con+bios, vida).

Ruiz (1977), denomina simbiosis al fenómeno biológico que consiste en la unión, más o menos intensa y durable, de dos organismos que se reportan ventajas recíprocas para su vida. Es, en realidad, un caso especial de parasitismo en el cual se establece una lucha entre el parásito y el huésped, de esta lucha - resulta un equilibrio funcional, que una vez obtenido, permite al huésped vivir a expensas del parásito contra el cual se defiende, y al parásito existir a expensas del huésped. Un ejemplo de esto lo constituye la relación simbiótica de leguminosa-Rhizobium.

3.7.2. Relación Leguminosa-Rhizobium

Una de las relaciones simbióticas más interesantes, e importantes es la que se da entre las leguminosas y las bacterias del género Rhizobium.

Las leguminosas constituyen un gran grupo de plantas al -- que pertenecen vegetales importantes económicamente como es el caso de la soja, el trébol, la alfalfa, la judía y el guisante.

La infección de las raíces de una de estas leguminosas con la cepa adecuada de Rhizobium conduce a la formación de nódulos radiculares, que son capaces de convertir el nitrógeno gaseoso en nitrógeno combinado en un proceso llamado fijación del nitrógeno.

Ni la leguminosa ni el Rhizobium solos pueden fijar nitrógeno; pero la interacción entre los dos lleva al desarrollo de la capacidad fijadora de nitrógeno. Las leguminosas y el Rhizobium pueden proliferar en ausencia del otro, tanto en la naturaleza como en el laboratorio, de tal modo que la asociación -- entre los dos no es obligada (Brock, 1978).

La relación planta-bacteria puede considerarse, siempre -- que ambos miembros de la misma sean compatibles, como una simbiosis pura (mutua). Las plantas suministra el alimento y ofrece al simbiote unas condiciones óptimas de vida. Ni las plantas ni las bacterias pueden fijar nitrógeno cuando están separadas. Sólo en los nódulos se lleva a cabo la fijación de N_2 (Schlegel, 1979).

De hecho si no se supiese que los nódulos radiculares fijan nitrógeno, debería concluirse que Rhizobium es un organismo perjudicial, puesto que los nódulos parecen tumores anormales. La fijación de nitrógeno por la simbiosis leguminosa-Rhizobium tiene considerable importancia agrícola en cuanto que conduce a un

aumento muy significativo en la cantidad de nitrógeno combinado del suelo.

Hay una marcada especificidad entre la especie de leguminosa y la cepa de Rhizobium, una sola cepa de Rhizobium puede infectar ciertas especies de leguminosas pero no otras. Un grupo de cepas de Rhizobium capaz de infectar a un grupo de plantas leguminosas parecidas se denomina grupo de inoculación cruzada. Si la cepa resulta infectiva, los nódulos formados son pequeños, de color blanco verdoso, e incapaces de fijar nitrógeno; si la cepa es efectiva, por el contrario el nódulo será grande, rojizo y fijador de nitrógeno, la eficiencia esta determinada por genes de la bacteria que pueden perderse por mutaciones o adquirirse por transformación genética (Brock, 1978).

3.7.3. Formación y morfología del nódulo

Los nódulos se forman preferentemente en especies de la familia Leguminosas, aunque no en todas; y también los presentan algunas de otras familias.

Según Allen y Allen (1947), las leguminosas comprenden 429 géneros, con unas 10 000 especies de plantas. De ellos, en 179 géneros (41%) con 946 especies (9.4%) se ha estudiado la nodulación, y únicamente 77 especies de legumbres han dejado de presentar nódulos una y otra vez (Salle, 1965).

En la actualidad se comprenden bastante bien las etapas de la infección y desarrollo de los nódulos radicales (Figura 6).

En el desarrollo de la estructura nodular, el paso inicial parece involucrar la liberación de productos de excreción vege-

tal que son estimulantes para las bacterias dentro de la zona radicular (Alexander, 1980).

Una de las secreciones de la raíz es el triptófano, que se transforma en la hormona ac. indolacético por los rizobios, esta hormona induce el encurvamiento de algunos pelos radicales, proceso que es el prelude de la infección.

La infección de la planta se produce exclusivamente en los pelos radicales jóvenes. Alrededor del extremo del pelo radical se agrupan las bacterias y, formando un tubo infectivo, crecen introduciéndose hasta la base de los pelos radicales (Schlegel, 1979). Después queda infectada una célula de la raíz adyacente al pelo radical, si esta célula es una célula diploide normal, habitualmente es destruida por la infección, sufriendo necrosis y degeneración; sin embargo si es una célula tetraploide puede ser el predecesor del nódulo (Brock, 1978).

Las bacterias se multiplican rápidamente dentro de las células tetraploides y quedan rodeadas individualmente o en pequeños grupos por porciones de la membrana de la célula huésped. Las bacterias se transforman entonces en unas formas hinchadas, deformes y a veces ramificadas, llamadas "bacteroides", con el tiempo el nódulo se deteriora, liberando bacterias al suelo (Brock, 1978):

Los tejidos ocupados por bacterias presentan una coloración rojiza; contienen leghemoglobina, pigmento emparentado con la hemoglobina. Tan solo los nódulos que presentan dicho pigmento fijan el nitrógeno molecular; los nódulos vacíos incapa-

ces de fijar nitrógeno molecular no presentan dicho pigmento -- (Schlegel, 1979).

El nódulo consiste en una masa de células parenquimatosas de fina membrana, generalmente llenas del germen específico, rodeada de una capa suberosa y de ramificaciones de un sistema -- vascular, el cual proporciona a las bacterias sustancias nutritivas. A su vez la planta retira los compuestos nitrogenados -- que sintetizan las bacterias (Salle, 1965).

La mayoría de los nódulos en las especies cultivadas anuales, como guisante o soja, se forman durante un período de una o dos semanas. El proceso de infección y formación del nódulo puede perturbarse si la concentración de nitrato o amonio alrededor de las raíces de la planta es demasiado alta. Una elevada concentración de nitrato reduce la proporción de pelos radicales que pueden infectarse, aunque esta reducción puede ser en parte contrarrestada añadiendo una cantidad adecuada de glucosa a la solución.

Los nitratos no solamente reducen el número de nódulos, -- disminuyen también su volumen (Russell y Russell, 1959).

En lo que respecta a la morfología de los nódulos, Salle (1965), afirma que estos son de forma y tamaño distinto, según las plantas en que se producen, por ejemplo los de trébol son redondos u ovales; los del guisante suelen ser redondos, alargados y con frecuencia se arraciman; en la judía y en la soya los nódulos son relativamente grandes, redondos, y están firmemente sujetos a la raíz; los de la alfalfa suelen ser largos de figu-

ra dactilar.

Sin embargo, Alexander (1980), opina que existen diferencias importantes en la morfología de los nódulos entre leguminosas, los tréboles rojos y blancos tienen estructura en forma de basto y lobulados; los nódulos de alfalfa están más ramificados y largos, mientras que aquellos de caupí, cacahuate y frijol lima presentan una forma esférica. En algunas plantas por ejemplo el frijol terciopelo, los nódulos pueden alcanzar el tamaño de una pelota de beisbol mientras que los nódulos de otras leguminosas no tienen más que varios milímetros de diámetro. Las leguminosas con raíces fibrosas tienen frecuentemente una mayor abundancia de nódulos que las plantas con raíces primarias bien formadas; las plantas que tienen nódulos grandes a menudo tienen sólo unos pocos, mientras que las raíces con estructuras pequeñas los tienen en cantidades mayores.

3.7.4. Longevidad de los nódulos

Las nudosidades suelen tener una existencia relativamente corta, siendo en las especies anuales menor que la vida de las propias plantas. Cuando la planta muere y los procesos de descomposición de las raíces se inician, los nódulos se destruyen y las bacterias se extienden por los espacios del suelo. Cuando la degeneración de los nódulos alcanza el máximo, la asimilación del nitrógeno acumulado por las bacterias es más intenso por parte de las leguminosas (Diehl, 1973).

Cuatro son los factores que afectan a la longevidad de los nódulos, siendo estos los siguientes: la condición fisiológica-

de la planta, la humedad del suelo, los parásitos del nódulo y la cepa bacteriana que forma el nódulo. La longevidad de un nódulo depende de la condición fisiológica de la planta, los nódulos de las plantas anuales tienden a morir en el momento de la floración y fructificación, presumiblemente porque en este momento el desarrollo de las flores y semillas demanda las reservas de carbohidratos de la planta de modo muy intenso, y las jóvenes semillas exigen también parte de los compuestos de nitrógeno de los nódulos.

Además la ciega o pastoreo intenso, suele ocasionar la muerte de los nódulos, porque se interrumpe el suministro de hidratos de carbono a los nódulos. Algunas leguminosas perennes desprenden sus nódulos durante el invierno, cuando dejan de crecer, pero esto tal vez sea de más importancia en los inviernos largos y fríos, en que el crecimiento vegetal se interrumpe por completo y menos apreciable en los años de inviernos suaves.

Los nódulos solamente permanecen sobre las raíces de muchas leguminosas cultivadas si el suelo se mantiene húmedo, siendo el primer efecto de la aparición de la sequía el desprendimiento de los mismos. Los nódulos pueden tener corta duración por ser parasitadas por larvas de insectos. Así, E.G. Mulder en Holanda y G.B. Masefield en Gran Bretaña encontraron que los nódulos de guisantes y habas podían ser fuertemente atacados por las larvas del gorgojo del guisante Sitona lineata (Russell y Russell, 1968).

3.7.5. Cantidades de N fijadas por Rhizobium (bacterias).

Las cantidades de nitrógeno fijado por Rhizobia difieren con la cepa Rhizobial, la planta huésped y las condiciones ambientales bajo las que ambas se desenvuelven (Nelson y Tisdale, 1970).

Wilson (1968) indica que el volumen de nitrógeno fijado -- anualmente por las bacterias de las leguminosas depende de la naturaleza del suelo, de la especie de la planta y de otros factores. Algunos nódulos llegan a fijar 280 kg de nitrógeno por hectárea por año, pero generalmente la cantidad media es de unos 90 kg por hectárea.

Buckman y Brady (1970), señalan que la cantidad de nitrógeno fijado por las bacterias de las legumbres depende de muchos factores entre los cuales estan los siguientes; la condición -- del suelo, sobre todo la aereación, drenaje, humedad y cantidad de calcio activo son de primordial importancia. La sensibilidad de las legumbres a la acidez del suelo se atribuye sobre todo a la falta de nódulos bacterianos que puedan funcionar bajo estas condiciones.

IV. TRABAJOS AFINES

Date (1976), encontró que de 100 a 300 rhizobias por semilla son suficientes para nodular una leguminosa sembrada bajo condiciones agronómicas favorables, pudiéndose incrementar a -- 1000 cuando haya factores adversos en el suelo.

Ishag (1977), inoculó semillas de habichuela var. RO 2/1 con cepas locales de Rhizobia designadas como S (cepa sudanesa). Los tratamientos fueron: Testigo, N, Rhizobium, y Rhizobium+N, en este experimento se utilizó el diseño de bloques al azar con 4 repeticiones. Encontró que plantas de 6 semanas de edad no presentaron ningún efecto de la inoculación pero después de 12 semanas, el crecimiento de la raíz y del vástago aumentó como resultado de la inoculación. Además se obtuvo el más alto rendimiento con la combinación de Rhizobium + N (8% más que el testigo).

Cuautle (1979), con el objetivo de evaluar y conocer algunos factores que afectan la nodulación y la capacidad de la nodulación simbiótica por Rhizobium en frijol común en el valle de México, estableció dos experimentos de campo: uno de temporal y el otro de riego; observó que las cepas nativas de Rhizobium phaseoli, son altamente infectivas y competitivas.

Ferrara-Cerrato (1980), realizó un estudio de inoculación en frijol con diferentes cepas de Rhizobium phaseoli a nivel de invernadero, las cepas empleadas fueron CP10, CP16, CPA, las -- dos primeras consideradas como altamente eficientes y la última como poco eficiente.

Las especies de frijol empleadas fueron Phaseolus dumosus, P. coccineus, domesticada, semidomesticada y silvestre, P. vulgaris, domesticado y silvestre, P. acutifolius, P. lunatus domesticado y silvestre, P. oligospermus, P. leiosepalus, silvestre. Se observó muy buena nodulación con P. vulgaris, P. dumosus, y P. leiosepalus, no se observó nodulación en P. oligospermus y en el resto de especies ensayadas fué muy baja. La eficiencia en la fijación de "N" solo se puso de manifiesto en P. vulgaris, P. leiosepalus y ligeramente en P. vulgaris silvestre, las que presentaron un color intensamente verde en el follaje.

Camargo, R.A.L. et al., (1981) realizaron un ensayo en condiciones naturales con 2 semillas de frijol var. Carioca/mace-ta para observar el efecto de insecticidas sistémicos granula-dos en la nodulación del frijol, en un diseño completamente al azar con 5 tratamientos y 4 repeticiones. Las semillas se tra-taron con 200 grs de Rhizobium phaseoli/50 kg de semilla. Los tratamientos fueron aldicarb a 15 y 30 kg/ha, carbofuran a 30- y 60 kg/ha, y un testigo. No hubo diferencias significativas - en el peso y número de nódulos entre el testigo y los tratamien-tos, excepto para aldicarb a 15 kg/ha, con la menor nodulación.

Chessal y Valdéz (1981) realizaron un experimento con el - fin de seleccionar cepas de Rhizobium sp. aisladas de diferen-tes plantas de frijol (Criollo blanco, Carita y Sin tiempo). Se utilizaron 38 cepas aisladas de diferentes plantas inoculadas de diferentes suelos del Estado de Chiapas, México. Se observó que la variedad Criollo blanco es menos promiscua para su aso-ciación con la bacteria, que las otras dos variedades.

Vencatasamy y Peerally (1981) estudiaron el efecto del som**br**ío, el pH y ciertos pesticidas en la nodulación y fijación de nitrógeno en frijol. Las plantas sin som**br**ío presentaron el ma**yo**r peso fresco promedio de nódulos y se redujo considerablemen**te** en la sombra. La cepa Rhizobium phaseoli presentó crecimi**en**to satisfactorio con pH entre 5.8 a 8.7. El desarrollo de la planta no se afectó dentro del rango de 4.7 a 8.7. La aplica**ci**ón en el campo de tiram, mancozeb y benomil no afectó la nodu**la**ción.

Quintero, M.J. et al., (1983) desde 1978 han observado el efecto de la inoculación de frijol en zonas de temporal en el Estado de Durango, México. El proyecto empezó con el aisla**---**miento y selección de cepas de Rhizobium phaseoli de nódulos de plantas de frijol no inoculadas. Los estudios primero consis**---**tieron en ensayos de selección de cepas en el laboratorio utili**z**ando jarras de Leonard. Posteriormente se utilizaron las mejo**re**s cepas extranjeras. Los análisis estadísticos de los resul**ta**dos mostraron que los rendimientos de algunas cepas son tan **al**tos como los obtenidos con la fertilización nitrogenada.

Huntington y Smith (1984), realizaron un trabajo en la República Dominicana para probar la respuesta del frijol a la ino**cu**lación con raza mejorada de Rhizobium phaseoli bajo dos siste**ma**s de labranza y fertilización fosfatada. La variable labranza fué incluida para determinar que tanto modifica la temperatu**ra** y humedad de la rizósfera influenciando en la respuesta a la inoculación. Encontraron que ni la labranza ni la fertiliza**---**ción fosfatada influenciaron la respuesta a la inoculación.

Martínez y García (1984), realizaron un experimento con el objetivo de evaluar 5 cepas de Rhizobium phaseoli en el Campo Agrícola Experimental de la F.A.U.A.N.L., en Marín, N.L. De acuerdo con los resultados obtenidos en el experimento se observó que no hubo diferencia significativa en ninguna de las variables bajo estudio. La falta de significancia en los análisis estadísticos para rendimiento, puede ser debido a que existió una falta de adaptabilidad entre la bacteria y la variedad, atribuyéndose en un sentido estricto a variaciones aleatorias (no controladas) en dichos resultados, produciéndose una competencia por infección entre las cepas estudiadas y las nativas. Además de que dichas cepas no se adaptaron al ambiente que prospera en la localidad.

Romero y Elizondo (1984), establecieron un experimento en el Campo Experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León; en el municipio de Marín, N.L. Para evaluar 5 cepas de Rhizobium phaseoli en la variedad de frijol Canario 101, encontraron que no hubo diferencia significativa en ninguna de las variables estudiadas, esto debido probablemente a que existió una tendencia hacia promiscuidad simbiótica. Además una de las causas principales por lo cual se cree que no funcionaron las cepas es que no se adaptaron al ambiente que prospera en esta localidad.

Farias y Ramírez (1985), evaluaron 4 cepas de Rhizobium phaseoli en el municipio de Escobedo, N.L., encontraron que no existió diferencias estadísticamente significativas en las variables bajo estudio, atribuyéndose a factores como la viabili-

dad de la bacteria empleada, compatibilidad de la cepa y la especie utilizada, que la bacteria pudo haber sido afectada por efectos residuales de algún producto químico, la bacteria pudo haber sido afectada en su desarrollo por alguna cepa nativa.

V. OBJETIVOS E HIPOTESIS

Los objetivos de este trabajo de investigación son los que a continuación se indican:

1. Obtener la mejor combinación bacteria-planta en cuanto a fijación de nitrógeno.
2. Evaluar el comportamiento de Rhizobium bajo condiciones de riego.
3. Evaluación de nitrógeno total acumulado y nitrógeno disponible para el siguiente ciclo de cultivo.

La hipótesis correspondiente es la siguiente:

Existe diferencia entre las cepas de Rhizobium phaseoli para el cultivo de frijol (Phaseolus vulgaris L.), en cuanto al peso de la planta (grs.) número de granos por vaina, altura de planta (cms.), número de vainas por planta, peso de los granos (grs.), peso de vainas con grano (grs.), número de granos por planta, nitrógeno de la parte aérea.

VI. MATERIALES Y METODOS

6.1. Localidad

El presente trabajo se realizó durante el ciclo verano-otoño de 1986, en la Estación Experimental Agropecuaria de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, - la cual se encuentra localizada en el Km 17 de la carretera -- Zuazua-Marín, en el municipio de Marín, N.L., cuyas coordenadas geográficas son 25°53' latitud norte y 100°03' longitud oeste - del meridiano de Greenwich; con una elevación sobre el nivel -- del mar de 367 m.

6.2. Clima de la región

El clima predominante en la región es semiárido BS(h')hx' (e'), de acuerdo a la clasificación climática de Koeppen, modificada por Enriqueta García (1973).

La temperatura promedio de la región es de 22.5°, con una media anual máxima de 29.02°C, y una mínima de 15.96°C.

La precipitación pluvial promedio anual es de 500 mm con - una máxima de 600 mm y una mínima de 200 mm, donde la mayor -- parte se distribuye en los meses de agosto a octubre; el resto - ocurre en forma eventual en el resto del año.

Las condiciones climáticas que se presentaron en el período que comprendió la realización del experimento se muestra en el cuadro 18 del apéndice.

6.3. Materiales

En la presente investigación se utilizaron los siguientes materiales:

- Tractor
- Rastra
- Surcador
- Bordeador
- Cinta métrica
- Azadones
- Estacas
- Hilo
- Cal
- Posera
- Semilla de frijol (variedad Selección 4), la cual fue proporcionada por el PMMFyS de la F.A.U.A.N.L.

6.4. Características agronómicas de la variedad "Selección 4"

La variedad de frijol "Selección 4" posee las características siguientes:

- a) Semilla obtenida por selección individual de la variedad comercial Delicias 71.
- b) La planta es de tipo semiguía o guía corta (crecimiento semideterminado postrado).
- c) Su ciclo vegetativo es de 95-100 días.
- d) Días a floración 55.
- e) Flor de color blanca.

- f) Semilla pequeña de color café claro con manchas café -- obscura.
- g) Se recomienda sembrarla en terrenos nivelados, ya que -- la acumulación de agua en las partes bajas del terreno -- provoca que las plantas se tornen cloróticas.
- h) Densidad de siembra 30 kg/ha, con surcos de una separación de 80 centímetros.
- i) Esta variedad es resistente a enfermedades como por ejemplo tizón común, y plagas como la chicharrita.
- j) La humedad para almacenar la semilla más adecuada es de 10-12%.
- k) La semilla debe estar seca antes de ser encostalada para evitar el desarrollo de hongos.
- l) La protección de la semilla para evitar plagas en el almacén principalmente contra gorgojos se hace fumigando el local, utilizando para ello una mezcla de arazán y -- clordano.
- m) El rendimiento promedio (\bar{x}) bajo condiciones de riego -- es de 959 kg/ha; y en temporal el rendimiento es de 656 kg/ha.
- n) Algunas zonas del Estado donde se siembra bajo riego -- son: Cerralvo, General Bravo, General Terán, Marín, Mina, Montemorelos, Zuazua.
- o) Algunas zonas del Estado donde se siembra en temporal: Anáhuac, Dr. González, Los Herrera, Salinas Victoria.

6.5. Características edáficas del terreno experimental

Las características físico-químicas del sitio donde se desarrolló el experimento, tales como: textura, pH., contenido de materia orgánica, color del suelo, nitrógeno total y sales solubles se muestran en el Cuadro 19, con su respectiva clasificación agronómica.

6.6. Especificaciones del experimento

El diseño experimental utilizado en este trabajo de investigación fue un bloque completo al azar (DBCA), constando de 5-tratamientos en 3 repeticiones, generando 15 unidades experimentales.

Cada unidad experimental, estaba constituida por siete surcos a una distancia de separación de 80 cms, entre ellos. La longitud de las unidades experimentales fue de 5 m. por 6 m. de ancho.

Como parcela útil se consideraron los tres surcos centrales, ya que se eliminaron dos surcos de cada extremo y además un metro por cabecera (para evitar el efecto de bordo y orilla), de cada parcela útil se tomaron al azar 10 plantas como muestra de cada unidad experimental, para su posterior evaluación.

Las dimensiones del experimento fueron las siguientes:

$$\text{Area total} = 30 \text{ m} \times 21 \text{ m} = 630 \text{ m}^2$$

$$\text{Area efectiva} = 30 \text{ m} \times 15 \text{ m} = 450 \text{ m}^2$$

$$\text{Area por repetición} = 30 \text{ m} \times 5 \text{ m} = 150 \text{ m}^2$$

$$\text{Area por parcela (trat.)} = 6 \text{ m} \times 5 \text{ m} = 30 \text{ m}^2$$

$$\text{Area parcela útil} = 3 \text{ m} \times 2.40 \text{ m} = 7.20 \text{ m}^2$$

El modelo estadístico correspondiente al diseño de bloques completos al azar es el siguiente:

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

Donde:

Y_{ij} = Es la variable bajo estudio

μ = Es la media verdadera general

T_i = Es el efecto verdadero del i -ésimo tratamiento

B_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 son los que a continuación se indican:

T_1 = Testigo

T_2 = Ceba FM-14

T_3 = Ceba FM-329

T_4 = Ceba FM-318

T_5 = Ceba FM-167

6.7. Preparación del terreno

Esta se realizó un mes antes de la siembra, consistiendo en un barbecho a una profundidad de 20-30 cms con el objetivo de eliminar maleza y residuos de cosecha anterior, así como también dejar expuestos a la interperie huevecillos y larvas. Pos-

teriormente se dio un paso de rastra para lograr una mayor pulverización de los terrones que quedaron después de efectuado el barbecho, el terreno no fue nivelado ya que su nivelación era adecuada. Un día antes de la siembra se efectuó la formación de surcos, estos se hicieron con tractor y surcadores, la distancia entre surcos fué de 80 cms; además se realizaron los canales de riego en cada cabezera de repetición.

La preparación del terreno tiene por objeto formar una buena "cama" para la siembra y asegurar el nacimiento de la semilla y otros objetivos que ya se explicaron anteriormente.

6.8. Muestreo del suelo

Se realizaron muestreos de suelo en el terreno donde se estableció el experimento, obteniendo una muestra por repetición, estos muestreos se hicieron antes de la siembra del cultivo de frijol y después de la cosecha, con la finalidad de tener una idea de la cantidad de nitrógeno que puede fijar la bacteria -- (Rhizobium sp.)

Cabe mencionar que las muestras obtenidas (antes de la siembra) se mezclaron para formar una sola muestra con la finalidad de determinar las características físico-químicas del suelo.

6.9. Inoculación de la semilla

La inoculación de la semilla con las distintas cepas, se realizó el mismo día de la siembra, ésta se llevo a cabo en el-

laboratorio de suelos de la F.A.U.A.N.L., para proteger a la semilla una vez inoculada de los rayos solares, con el objetivo de que la inoculación no perdiera efectividad.

El método de inoculación empleado, se realizó de la manera siguiente:

1) En un recipiente con capacidad de 20 lts. se agregaron dos litros de agua.

2) Se agregó un sobre de cepa (1 gr.).

3) Posteriormente se agregó una punta de espátula de gomaarábica, para que la cepa tuviera una mayor adherencia sobre la semilla.

4) Esperar a su total dilución.

5) Se agregó 1 kg. de semilla.

6) Se espera a que la semilla se imbiba (arrugue).

7) Una vez de que la semilla presente la característica de arrugamiento, se pasan las semillas a bolsas de plástico y se cubren con bolsas de papel; para evitar la radiación de los rayos solares.

6.10. Siembra

La variedad que se utilizó para efectuar la siembra fué la "Selección 4", esta se sembró en seco el día 27 de Agosto de 1986. La siembra se realizó de la manera siguiente:

La semilla se depositó en el fondo del surco, colocando 4 semillas por punto a una distancia de 5 cm y a una profundidad de 4 cms., se colocaron 4 semillas por punto debido a que algu-

nas semillas presentaban características de ataque por insectos. (semilla quebrada, etc.). La separación entre surcos fué de 80 cms.

La semilla fué proporcionada por el "Proyecto de Mejora--- miento de Maíz, Frijol y Sorgo de la F.A.U.A.N.L."

La emergencia de las plántulas se presentó a los 8 días después de la siembra, siendo muy uniforme en todos los tratamientos.

6.11. Labores de cultivo

EL primer deshierbe se efectuó el día 22 de Septiembre con la finalidad de eliminar malas hierbas, y evitar de ésta manera la competencia entre las malezas y el cultivo por humedad, luz, nutrientes. El deshierbe se realizó a mano y con azadón.

Un segundo deshierbe se llevo a cabo el día 16 de Octubre, además fué necesario realizar un tercer deshierbe siendo éste el día 12 de Noviembre, para evitar la incidencia de plagas y enfermedades, ya que estas repercuten en el rendimiento del cultivo.

Se realizó un aclareo de plantas, este consistió en eliminar las plantas menos vigorosas, raquiticas, enfermas, etc. para dejar establecido el cultivo a una distancia de 10 cms, óptima para frijol, ésto se hizo el día 16 de Octubre junto con el segundo deshierbe.

Además se presentaron algunas plagas como pulgones ----- (Aphis spp. *), diábrótica (Diabrótica sp.), así como tam---

bién la mosquita blanca (Trialeurodes spp.)* estos insectos poseen un aparato bucal chupador*, que les sirve para succionar la sabia de las hojas y al mismo tiempo inyectan sustancias tóxicas a la planta, siendo transmisores de enfermedades virosas.

Entre las malezas encontradas están el trompillo (Solanum eleagnifolium), zacate Johnson (Sorghum halepense), quelite --- (Amaranthus sp.), mala mujer (Solanum rostratum), correhuela -- (Ipomoea sp.). También se presentaron las siguientes enfermedades: mosaico dorado del frijol (V.M.D.F.) y antracnosis (Colletotrichum lindemuthianum).

6.12. Riegos

Durante el ciclo de cultivo solamente se le dió un riego - debido a las precipitaciones que se presentaron durante el desarrollo del cultivo, dándose este riego el día 2 de Septiembre. (Ver Cuadro de precipitación), el riego se realizó con sifones.

6.13. Cosecha

La cosecha se llevó a cabo el día 12 de Diciembre en forma manual, muestreando o tomando 10 plantas de los tres surcos centrales (parcela útil) de cada unidad experimental, las plantas fueron puestas en bolsas de papel, en cada bolsa se marcó el número de planta, número de tratamiento y número de repetición.

Una recomendación es que la cosecha se debe realizar cuando las plantas no se sequen completamente, para evitar desgranes en el campo.

6.14. Variables estudiadas

Las variables bajo estudio en este experimento son las siguientes:

- Peso de la planta
- Número de granos por vaina
- Altura de la planta
- Número de vainas por planta
- Peso de los granos
- Peso de las vainas con granos
- Número de granos por planta
- Nitrógeno de la parte aérea

Para determinar los parámetros (1,5 y 6) se utilizó una balanza granataria mientras que para el cálculo del nitrógeno de la parte aérea de la planta se utilizó el criterio de Ortiz (1975), el cual establece que la materia seca o M.O. (materia orgánica) humificada en los suelos contiene en promedio 5% del nitrógeno total y un 58% de carbono, de donde resulta el cociente $C/N = 11.6:1$ y la relación $C/M.O. = 1:1.724$. De igual manera la relación $M.O./N$ es de 11.6 por 1.724:1 ó alrededor de 20:1. Esta última cifra es de considerable valor para hacer cálculos aproximados con relación a estos dos constituyentes.

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

Despejando la fórmula siguiente tenemos:

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

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

Donde:

N = Nitrógeno total (gramos o %)

M.O. = Peso seco de la planta

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

VI. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la presente investigación se anuncian a continuación para cada una de las variables bajo estudio con sus cuadros de concentración de datos y análisis de varianza.

Peso de la planta.

Con respecto a esta variable analizada, el análisis de varianza no reportó diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos, se obtuvo un C.V. de 7.683%.

Número de granos por vaina.

El análisis estadístico realizado en esta variable no reportó diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos, resultando no significativo el efecto entre bloques, reportando un C.V. de 7.212%.

Altura de la planta.

Refiriéndose a ésta variable analizada, el análisis de varianza no reportó diferencia estadísticamente significativa, tampoco se presentó diferencia estadísticamente significativa entre bloques, resultando un C.V. de 5.473%.

Número de vainas por planta.

De acuerdo a ésta característica no se obtuvo diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos tampoco presentándose diferencia significativa entre el efecto de bloques,

obteniéndose un C.V. de 10.534%.

Rendimiento en grano.

Haciendo referencia a esta variable estudiada, el análisis de varianza no reportó diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos, ni tampoco entre bloques, obteniéndose un C.V. de 13.814%.

Peso de vainas con grano.

Para esta variable el análisis de varianza correspondiente no presentó diferencia estadísticamente significativa en lo que respecta a los tratamientos y bloques, se obtuvo un C.V. de --- 10.783%.

Número de granos por planta.

Por lo que respecta a esta característica el análisis de varianza no mostró diferencia estadísticamente significativa en tre tratamientos y entre bloques, el C.V. para esta variable ba jo estudio fué 12.192%.

Porcentaje de Nitrógeno en la planta aerea.

El análisis de varianza para esta variable no reportó dife rencia estadísticamente significativa entre tratamientos, obte tiéndose un C.V. de 7.608%.

VIII. DISCUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, se encontró que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos de las variables estudiadas. Esto se puede explicar de la siguiente manera:

Factores climáticos

Las condiciones climáticas que se presentaron durante el experimento pudieron ser determinantes en el proceso de nodulación y por consiguiente en la fijación de nitrógeno, ya que las cepas fueron obtenidas de Fertimex de la Ciudad de México, donde las condiciones climáticas son distintas a las condiciones donde se desarrollo el experimento (Marín, N.L.).

Factores edáficos

Respecto a las condiciones edáficas del sitio experimental, se encontró un pH de 7.54; lo que significa que ésta dentro de los límites permitidos para un buen desarrollo de la bacteria por lo que no se considera como un factor limitativo.

Con respecto al factor nutricional no se efectuó la determinación del contenido de fósforo en el suelo, por lo cual se cree que existió una pobre infección de la bacteria, así como una menor densidad de nódulos.

La temperatura del suelo no fue tomada durante el desarrollo del cultivo, pero se registraron altas temperaturas ambientales (agosto y septiembre) lo cual pudo haber influido en la temperatura del suelo y en consecuencia en el desarrollo de la

bacteria.

Bacteria.

Una causa principal por lo que se cree que no hubo efecto de tratamientos es que las cepas que se utilizaron en el experimento pudieron haber presentado susceptibilidad a la presencia de cepas nativas, las cuales presentan competencia con la cepa bajo estudio. Cabe señalar que se realizaron muestreos de plantas y se observó que presentaban o poseían nudosidades (nódulos).

IX. CONCLUSIONES

De acuerdo a los análisis estadísticos para las distintas variables probadas, se encontró que no existió diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos lo que significa que las medias de rendimientos son iguales.

Tomando en consideración los resultados obtenidos y de acuerdo a los objetivos e hipótesis planteados se puede concluir lo siguiente:

1. Otener la mejor combinación bacteria-planta en cuanto a fijación de nitrógeno, en base a este objetivo el análisis de varianza no reportó diferencia estadísticamente significativa por lo que se concluye que la cepa (bacteria) y planta no fueron las adecuadas y/o bien no existió la interacción con el ambiente adecuado para que se manifestara dicha interacción.

2. Evaluación del comportamiento de Rhizobium bajo condiciones de riego, se puede concluir que no existe diferencia en cuanto a la respuesta de la cepa (Rhizobium) al riego, por lo que se considera que las cepas responden de una manera parecida.

3. En cuanto a la evaluación de nitrógeno total acumulado y nitrógeno disponible para el siguiente ciclo, el análisis de varianza no reportó diferencias significativas (los datos se reportan en la Tabla 4).

X. RECOMENDACIONES

1. Realizar el mismo experimento (mismas cepas y misma variedad de frijol) aumentando el número de repeticiones o tratamientos en el ciclo temprano, para observar el efecto diferencial al cambiar el factor ambiental.
2. Probar diferentes métodos de inoculación para determinar cuáles son los más adecuados o eficientes.
3. No establecer experimentos de este tipo, en un suelo donde anteriormente se haya aplicado algún tipo de fertilizante nitrogenado.
4. Inocular semilla de otras plantas leguminosas anuales con cepas de Rhizobium sp. para evaluar la nodulación en las mismas.
5. Efectuar pruebas a la bacteria (cepas), con la finalidad de conocer o determinar la viabilidad de la misma, así como efectuar muestreos de plantas para observar la nodulación.
6. Se recomienda realizar muestreos del suelo del sitio experimental con el objetivo de determinar algunos microelementos como: cobre (Cu), hierro (Fe), boro (Bo), molibdeno (Mo) etc., ya que estos tienen una marcada influencia en el proceso de fijación de nitrógeno.

XI. RESUMEN

El presente trabajo se llevo a cabo en la Estación Experimental Agropecuaria de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León en el municipio de Marín, N.L. ciclo verano-otoño de 1986.

Los objetivos planteados fueron los siguientes:

1. Obtener la mejor combinación bacteria-planta en cuanto a fijación de nitrógeno.
2. Evaluar el comportamiento de Rhizobium bajo condiciones de riego.
3. Evaluación de nitrógeno total acumulado y nitrógeno disponible para el siguiente ciclo de cultivo.

La hipótesis planteada en este trabajo de investigación -- fue:

Existe diferencia entre las cepas de Rhizobium phaseoli para el cultivo de frijol (Phaseoli vulgaris L.), en cuanto al peso de la planta (grs.), número de granos por vaina, altura de planta (cms.), número de vainas por planta, peso de los granos (grs.), peso de vainas con grano (grs.), número de granos por planta, % de nitrógeno de la parte aérea de la planta.

En el experimento se utilizó el diseño básico bloques completos al azar (DBCA), con 5 tratamientos (4 cepas y un testigo) y 3 repeticiones generándose 15 unidades experimentales; donde se muestrearon 10 plantas con competencia completa por -- parcela útil de cada unidad experimental. De cada planta se de terminaron las características siguientes:

- Peso de la planta
- Número de granos por vaina
- Altura de la planta
- Número de vainas por planta
- Peso de los granos
- Peso de las vainas con granos
- Número de granos por planta
- Porcentaje de nitrógeno en la parte aérea de la planta

El material que se utilizó es el siguiente:

1. Cuatro cepas del género Rhizobium

<u>Tratamiento</u>	<u>Cepa</u>
1	Testigo
2	FM-14
3	FM-329
4	FM-318
5	FM-167

2. Semilla de frijol variedad Selección 4.
3. Aperos de labranza necesarios.

En base a los análisis estadísticos realizados para cada una de las variables bajo estudio, se encontró que no hubo diferencia estadísticamente significativa en éstas. Esto puede atribuirse a factores como: a la viabilidad de la bacteria empleada, susceptibilidad de la bacteria bajo estudio a cepas nativas, así como a las condiciones climáticas que prevalecieron durante el período de cultivo.

En el presente trabajo se obtuvo una producción promedio de 823 kg/ha.

XII. BIBLIOGRAFIA

- Alexander, M. 1980. Introducción a la Microbiología del suelo. Ed. AGT. Editor. México pp. 243, 328, 329, 333.
- Bailey, L.H. 1961. Manual of Cultivated Plants. The Mc-Millan - Company, New York p. 573.
- Black, C.A. 1975. Relaciones suelo-planta. Vol. II Ed. Hemisferio Sur. Argentina. pp. 545, 546.
- Brock, T.D. 1978. Biología de los Microorganismos. Ed. Omega. - Barcelona, España. pp. 160-162, 441-444.
- Buckman, O.H. y Brady, C.N. 1970. Naturaleza y Propiedades de los suelos. Ed. Montaner y Simon. Barcelona, España. pp. 426, 427, 438.
- Burges, A. y Raw, F. 1971. Biología del suelo. Ed. Omega, Barcelona, España. pp. 529.
- Camargo R, A.L. et al. 1981. Influencia de los insecticidas sistémicos granulados en la nodulación de frijol. Facultad de Agronomía y Zootecnia, San Paulo Brasil. Resúmenes analíticos. Vol. IX. CIAT. p . 86.
- Cronquist, A. 1977. Introducción a la Botánica. Ed. C.E.C.S.A. México. pp. 105, 107.

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.). Tesis de M.C. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.

Date, R.A. 1976. Especificidad en la simbiosis Rhizobium-leguminosa. VIII Reunión Latinoamericana sobre Rhizobium. Ed. -- P.H. Graham y J. Halliday. CIAT.

Devlin, M.R. 1975. Fisiología Vegetal. Ed. Omega Barcelona, España. pp. 296, 297, 299, 300, 303, 304.

Diehl, R. y Mateo, B.J.M. 1973. Fitotecnia General. Ed. Mundiprensa. Madrid, España. pp. 215-217.

Farías M, C.H. y Ramirez, C.V. 1986. Evaluación de 4 cepas de Rhizobium phaseoli en frijol (Phaseolus vulgaris L.) en Escobedo, N.L. Tesis Profesional. Facultad de Agronomía U.A. N.L. México.

Ferrara-Cerrato, R. 1980. Inoculación de Rhizobium phaseoli a diferentes especies del género Phaseolus originarias de México. Revista Latinoamericana de Microbiología. pp. 175-180.

García S, J.M. y Guerra, G.J.A. 1985. Prueba comparativa de 4 -

fertilizantes químicos nitrogenados y 1 cepa específica de Rhizobium phaseoli en frijol (Phaseoli vulgaris L.) en Marín, N.L. Tesis Profesional. Facultad de Agronomía U.A.N. L. México.

Greulach, A.V. y Adams, E.J. 1976. Las Plantas: Introducción a la Botánica Moderna. Ed. Limusa. México. p. 476.

Hawker, L.F. et al. 1964. Fundamentos de Microbiología General. Ed. Acribia. España. pp. 268.

Huntington, T.G. et al. 1984. The response of Phaseolus vulgaris to inoculation with improved strains of Rhizobium phaseoli under two tillage systems. Agronomy Abstracts. Annual Meetings. Las Vegas, Nevada. pp. 187, 188.

Ishag, H.M. 1977. Horicot beans. (Habichuela) In: ed. Damer, Sudan. Hudeiba Research Station. Annual Report. Resúmenes Analíticos sobre frijol. Vol. IX. CIAT.

Juscafresa, B. 1966. Bulbos tuberculos y leguminosas. Ed. Serrahima y Urpi, S.L. Barcelona, España. p. 75.

Lepiz I, R. y Navarro S, F.J. 1983. Frijol en el Noroeste de México. SARH. México. pp. 1, 29, 31.

Martínez M, R. y García, D.S. 1986. Evaluación de 5 cepas de --

Rhizobium phaseoli en frijol (Phaseolus vulgaris L.) en Marín, N.L. Tesis Profesional. Facultad de Agronomía, U.A.N.L. México.

Miranda C,S. 1967. Origen de Phaseolus vulgaris L. frijol común. Agrociencia. Colegio de Postgraduados. ENA. Chapingo, México. pp. 99-109.

Nelson, L.W. y Tisdale, L.S. 1982. Fertilidad de los Suelos y Fertilizantes. Ed. U.T.E.H.A. México. pp. 140, 141, 150, -- 151.

Ortiz V,B. 1975. Edafología. Escuela Nacional de Agricultura. (UACH). Chapingo, México. pp. 103, 104.

Pedroza F,J.A. 1985. Adaptación y comportamiento de 64 cultivares de frijol (Phaseolus vulgaris L.) evaluados en el esquema riego-sequía durante el ciclo primavera-verano de -- 1983, en Marín, N.L. Tesis Profesional. Facultad de Agronomía. U.A.N.L. México.

Perez T,H. 1980. Algunos aspectos biológicos de la asociación simbiótica Phaseolus vulgaris-Rhizobium phaseoli. Tesis M. C. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.

Quintero M,J. et al. 1983. Efecto de la inoculación en frijol en zonas de temporal en Durango. Instituto Tecnológico de

Durango, Centro de Graduados, Durango, Dgo. México. Resúmenes Analíticos sobre frijol. Vol. X. CIAT. p. 178.

Ramírez C,L. 1981a. Efectos del sulfato ferroso (FeSO_4) sobre los componentes del rendimiento de una variedad de hábito de crecimiento semideterminada de frijol (Phaseolus vulgaris L.) creciendo en suelo alcalino. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias Biológicas U.A.N.L. Monterrey, N.L.

Robbins, W.W. et al. 1974. Botánica. Ed. Limusa. México. p. 596.

Robles S,R. 1983. Producción de Granos y Forrajes. Ed. Limusa. México. pp. 553, 556.

Romero V,L. y Elizondo T,E. 1985. Evaluación de 5 cepas de -- Rhizobium phaseoli en frijol (Phaseolus vulgaris L.) en Ma rín, N.L. Tesis Profesional. Facultad de Agronomía U.A.N.L. México.

Ruiz O,M. et al. 1966. Tratado Elemental de Botánica. Ed. E. C.L.A.L.S.A. México. pp. 371, 621-623.

Russell, E.J. y Russell, E.W. 1959. Las Condiciones del suelo y el Desarrollo de las plantas. Ediciones Aguilar, S.A. Madrid, España. pp. 382, 383.

Salle, J.A. 1965. Bacteriología. Ed. Gustavo Gili Barcelona, España. pp. 698-702.

- Sanchez M,A. 1964. Microbiología Agrícola. Escuela Nacional de Agricultura. Colegio de Postgraduados. Serie de Apuntes N^o 3. Chapingo, México. pp. 112, 117, 128-132.
- Schlegel, H.G. 1979. Microbiología General. Ed. Omega. Barcelona, España. pp. 306, 308.
- Senez, C.J. 1976. Microbiología General. Ed. Alhambra. Madrid. España. pp. 352, 353.
- S.E.P. 1982. Manual para Educación Agropecuaria: Frijol y Chícharo. Ed. Trillas. México.
- Sivori, E.M. et al. 1980. Fisiología Vegetal. Ed. Hemisferio -- Sur. Argentina.
- Tanner, W.F. y Tanner, W.F.Jr. 1948. Bacteriology. Ed. John --- Wiley and Sons. Inc. New York. p. 123.
- Thompson, L.M. 1962. El suelo y su fertilidad. Ed. Reverté. Bar celona, Buenos Aires-México pp. 206, 207.
- Valdez, M. y Chessal, L. 1981. Selección de cepas de Rhizobium sp. entre variedades de frijol. Departamento de Microbiolo gía. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Po litécnico Nacional. Revista Latinoamericana de Microbiolo gía. Vol. 28. pp. 49, 50.

Velasco M, H.A. 1960. Elementos de Fertilidad del Suelo. Ediciones Universidad de Coahuila. Buenavista Coah., Escuela Superior de Agricultura "Antonio Narro" pp. 51, 52.

Vencatasamy, D.R. y Peerally, M.A. 1981. Effects of certain ----
environmental factors en nodulation and nitrogen fixation in
Phaseoli vulgaris L. Scholl of Agriculture, Universidad of-
Mauritius. Resumenes Analíticos sobre frijol. Vol. IX. p.93

Whyte, R.O. y Trumble, H.C. Las Leguminosas en la Agricultura.
Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y -
la Alimentación. Yugoslavia. p. 194.

Wilson, L.C. y Loomis, E.W. 1968. Botánica. Ed. U.T.E.H.A. Méxi-
co. p. 231.

XIII. APENDICE

Cuadro 1. Concentración de datos para peso de la planta (grs.).
Evaluación de 4 cepas de Rhizobium phaseoli en frijol
Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.

Tratamiento	REPETICIONES			Totales de trats.	\bar{x} gr/planta
	I	II	III		
1. Testigo	13.60	19.90	15.50	49.00	16.333
2. FM-14	12.10	17.10	16.90	46.10	15.366
3. FM-329	15.40	19.90	18.20	53.50	17.833
4. FM-318	12.70	19.90	19.10	51.70	17.233
5. FM-167	13.70	16.50	17.00	47.20	15.733
Totales de repeticiones	67.50	93.30	86.70	247.50	

Cuadro 2. Análisis de varianza para peso de la planta (grs.).
Evaluación de 4 cepas de Rhizobium phaseoli en frijol.
Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.calc.	F. Teórica	
					.05	.01
Media	1	4083.75				
Tratamiento	4	12.6466	3.1516	1.967 ^{NS}	3.84	7.01
Repetición	2	71.856	35.928	22.355 ^{**}	4.46	8.65
Error	8	12.8573	1.6071			
Total	15	4181.11				

NS = No Significativo

* = Significativo

** = Altamente Significativo

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

$$C.V. = 7.683\%$$

Cuadro 3. Concentración de datos para número de granos por vaina. Evaluación de 4 cepas de Rhizobium phaseoli en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.

Tratamiento	REPETICIONES			Totales de trats.	\bar{x} gr/vaina
	I	II	III		
1. Testigo	4.26	3.95	3.77	11.98	3.993
2. FM-14	3.80	3.46	4.30	11.56	3.853
3. FM-329	4.09	4.07	3.85	12.01	4.003
4. FM-318	3.95	3.69	4.36	12.00	4.000
5. FM-167	3.83	3.96	4.33	12.12	4.04
Totales de repeticiones	19.93	19.13	20.61	59.67	

Cuadro 4. Análisis de varianza para número de granos por vaina. Evaluación de 4 cepas de Rhizobium phaseoli en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.calc.	F.Teórica	
					.05	.01
Media	1	237.36726				
Tratamiento	4	0.06224	0.0155	0.188 ^{NS}	3.84	7.01
Repetición	2	0.21952	.10976	1.333 ^{NS}	4.46	8.65
Error	8	0.65868	.08233			
Total	15	238.3077				

NS = No Significativo

* = Significativo

** = Altamente Significativo

C.V. = 7.212%

Cuadro 5. Concentración de datos para altura de la planta (cms)
Evaluación de 4 cepas de Rhizobium phaseoli en frijol.
Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.

Tratamiento	REPETICIONES			Totales de trats.	\bar{x} cms.
	I	II	III		
1. Testigo	24.18	25.68	24.80	74.66	24.88
2. FM-14	23.00	26.50	27.20	76.70	25.56
3. FM-329	25.23	25.68	26.35	77.26	25.75
4. FM-318	23.65	25.48	28.30	77.43	25.81
5. FM-167	26.70	24.20	26.92	77.82	25.94
Totales de repeticiones	122.76	127.54	133.57	383.87	

Cuadro 6. Análisis de varianza para altura de planta (cms). Eva-
luación de 4 cepas de Rhizobium phaseoli en frijol.
Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.calc.	F.Teórica	
					.05	.01
Media	1	9823.7451				
Tratamiento	4	2.0784	0.519	0.264 ^{NS}	3.84	7.01
Repetición	2	11.73772	5.868	2.990 ^{NS}	4.46	8.65
Error	8	15.70068	1.962			
Total	15	9853.2619				

NS= No Significativo

* = Significativo

** = Altamente Significativo

C.V. = 5.473%

Cuadro 7. Concentración de datos para número de vainas por planta. Evaluación de 4 cepas de Rhizobium phaseoli en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.

Tratamiento	REPETICIONES			Totales de trats.	\bar{x} Nº de vainas
	I	II	III		
1. Testigo	9.40	12.00	8.90	30.3	10.1
2. FM-14	9.00	10.80	8.50	28.3	9.43
3. FM-329	10.80	11.40	10.70	32.9	10.96
4. FM-318	9.40	11.20	11.00	31.6	10.53
5. FM-167	10.90	8.90	9.80	29.6	9.86
Totales de repeticiones	49.5	54.3	48.9	152.7	

Cuadro 8. Análisis de varianza para número de vainas por planta. Evaluación de 4 cepas de Rhizobium phaseoli en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F _{calc.}	F. Teórica	
					.05	.01
Media	1	1554.486				
Tratamiento	4	4.2173	1.054	0.916 ^{NS}	3.84	7.01
Repetición	2	3.504	1.752	1.523 ^{NS}	4.46	8.65
Error	8	9.2027	1.150			
Total	15	1571.41				

NS = No Significativo

* = Significativo

** = Altamente Significativo

C.V. = 10.534%

Cuadro 9. Concentración de datos para rendimiento en grano ----
(grs/planta). Evaluación de 4 cepas de Rhizobium ----
phaseoli en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.

Tratamiento	REPETICIONES			Totales de trats.	\bar{x} gr/planta
	I	II	III		
1. Testigo	6.6	7.6	5.6	19.8	6.60
2. FM-14	5.3	6.7	6.25	18.25	6.08
3. FM-329	7.1	8.2	6.2	21.5	7.16
4. FM-318	5.4	6.5	7.7	19.6	6.53
5. FM-167	6.8	6.0	6.8	19.6	6.53
Totales de repeticiones	31.2	35.0	32.55	98.75	

Cuadro 10. Análisis de varianza para rendimiento en grano ----
(grs/planta). Evaluación de 4 cepas de Rhizobium ---
phaseoli en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.

F.V.	G.L.	S.M.	C.M.	F. Teórica	
				F. calc.	.05 .01
Media	1	650.1041			
Tratamiento	4	1.7867	.4466	.5399 ^{NS}	3.84 7.01
Repetición	2	1.4844	.7422	.8973 ^{NS}	4.46 8.65
Error	8	6.6168	.8271		
Total	15	659.992			

C.V. = 13.814%

NS = No Significativo

Cuadro 11. Concentración de datos para peso de vainas con grano (grs.). Evaluación de 4 cepas de Rhizobium phaseoli en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.

Tratamiento	REPETICIONES			Totales de trats.	\bar{x} gr/vaina
	I	II	III		
1. Testigo	8.8	10.7	8.0	27.5	9.16
2. FM-14	8.9	9.4	9.1	27.4	9.13
3. FM-329	8.7	11.3	8.9	28.9	9.63
4. FM-318	7.7	9.4	10.7	27.8	9.26
5. FM-167	9.3	8.2	10.0	27.5	9.16
Totales de repeticiones	43.4	49	46.7	139.1	

Cuadro 12. Análisis de varianza para peso de vainas con grano. Evaluación de 4 cepas de Rhizobium phaseoli en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.calc.	F.Teórica	
					.05	.01
Media	1	1289.920				
Tratamiento	4	.5160	.129	.092 ^{NS}	3.84	7.01
Repeticiones	2	3.17	1.585	1.136 ^{NS}	4.46	8.65
Error	8	11.164	1.395			
Total	15	1304.77				

NS = No Significativo

* = Significativo

** = Altamente Significativo

C.V. = 10.783%

Cuadro 13. Concentración de datos para número de granos por planta. Evaluación de 4 cepas de Rhizobium phaseoli en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.

Tratamiento	REPETICIONES			Totales de tratamientos	\bar{x} granos/pl.
	I	II	III		
1. Testigo	40.10	47.50	33.60	121.20	40.40
2. FM-14	34.20	37.40	36.60	108.20	36.06
3. FM-329	44.20	46.40	41.30	131.90	43.96
4. FM-318	37.20	41.40	48.00	126.60	42.20
5. FM-167	41.80	35.30	42.50	119.60	39.86
Totales de repeticiones	197.5	208.00	202.00	607.50	

Cuadro 14. Análisis de varianza para número de granos por planta. Evaluación de 4 cepas de Rhizobium phaseoli en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.calc.	F.Teórica	
					.05	.01
Media	1	24603.75				
Tratamiento	2	104.92	26.23	1.07 ^{NS}	3.84	7.01
Repetición	4	11.1	5.55	.2275 ^{NS}	4.26	8.65
Error	8	195.08	24.385			
Total	15	24914.85				

NS = No Significativo

* = Significativo

** = Altamente Significativo

C.V. = 12.192%

Cuadro 15. Concentración de datos para el % de N en la parte -- aérea de la planta. Evaluación de 4 cepas de Rhizo-- bium phaseoli en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío -- 1986.

Tratamiento	REPETICIONES			Totales de trats.	\bar{x} % N
	I	II	III		
1. Testigo	0.680	0.995	0.775	2.45	.8166
2. FM-14	0.605	0.855	0.845	2.305	.7683
3. FM-329	0.770	0.995	0.910	2.675	.8916
4. FM-318	0.635	0.995	0.955	2.585	.8616
5. FM-167	0.685	0.825	0.850	2.360	.7866
Totales de repetición	3.375	4.665	4.335	12.375	

Cuadro 16. Análisis de varianza para el % de Nitrógeno. Evaluación de 4 cepas de Rhizobium phaseoli en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.calc.	F. Teórica	
					.05	.01
Media	1	10.209				
Tratamiento	4	.3196	.00799	2.02 ^{NS}	3.84	7.01
Repetición	2	.18000	.090	22.84 ^{**}	4.46	8.65
Error	8	.03154	.00394			
Total	15	10.4525				

C.V. = 7.608%

NS = No Significativo

** = Altamente Significativo

Cuadro 17. Esquema de la clasificación de las asociaciones ----
Rhizobium-leguminosa.

Especies de Rhizobium	Grupo al que pueden inocularse	Género huésped	Leguminosas incluídas
<u>R. meliloti</u>	Alfalfa	Medicago	Alfalfa
		Melilotus	Trébol dulce
		Trigonella	Fenogriego
<u>R. trifolii</u>	Trébol	Trifolium	Trébol
<u>R. leguminosarum</u>	Guisante	Pisum	Guisante
		Vicia	Algarroba
		Lathyrus	Guisante dulce
		Lens	Lenteja
<u>R. phaseoli</u>	Judía	Phaseolus	Judía
<u>R. lupini</u>	Altramuz	Lupinus	Altramuz
		Orithopus	Serradella
<u>R. japonicum</u>	Soja	Glycine	Soya
	Guisante	Vigna	Guisante vacuno
	Vacuno ¹	Lespedeza	Lespedeza
		Crotalaria	Crotalaria
		Pueraria	Kudsu
		Arachis	Cacahuate
		Phaseolus	Fascolo

¹ Este grupo no ha alcanzado condición de variedad.

Cuadro 18 . Datos de temperaturas máximas, mínimas y medias en °C., de los meses Agosto a Diciembre de 1986 en - Marín, N.L.

MES	MAXIMA	MINIMA	MEDIA
Agosto	38.9	23.7	31.3
Septiembre	32.8	22.2	27.5
Octubre	27.0	17.0	22.0
Noviembre	23.5	7.3	15.4
Diciembre	17.0	8.0	12.5

Cuadro 18 . Precipitación registrada (mm) durante los meses de Agosto a Diciembre de 1986 en Marín, N.L.

MES	PRECIPITACION (mm)
Agosto	12.1
Septiembre	189.7
Octubre	89.0
Noviembre	24.6
Diciembre	77.0

Fuente: Estación meteorológica de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Cuadro 19. Características físico-químicas del suelo del sitio experimental.

Determinación	Profundidad 0-30 (cms)	Clasificación agronómica
pH	7.54	Ligeramente alcalino
Textura		Migajón arcilloso
% Arena	33.48	
% Limo	32.00	
% Arcilla	34.52	
% Materia orgánica	0.88	Pobre
Nitrógeno total	.0322	Extremadamente pobre
Color del suelo	Hum. 10 YR 3/2	Café grisaseo muy oscuro
	Sec. 10 YR 3/3	Café oscuro
Sales solubles totales	1.7	No salino

Tabla 1. Determinación de nitrógeno de la planta.

Para llevar a cabo la determinación del nitrógeno se utilizó la fórmula siguiente:

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

Esta fórmula fue propuesta por Ortiz (1975), donde:

N = Nitrógeno total

M.O. = Peso seco de la planta

20 = Constante que proviene de la relación 2:1

El contenido de "N" obtenido por esta fórmula (criterio) - se indica a continuación:

$R_I T_1$	0.680	gr de N/p
$R_I T_2$	0.605	"
$R_I T_3$	0.770	"
$R_I T_4$	0.635	"
$R_I T_5$	0.685	"
$R_{II} T_1$	0.995	"
$R_{II} T_2$	0.855	"
$R_{II} T_3$	0.995	"
$R_{II} T_4$	0.995	"
$R_{II} T_5$	0.825	"
$R_{III} T_1$	0.775	"
$R_{III} T_2$	0.845	"
$R_{III} T_3$	0.910	"
$R_{III} T_4$	0.955	"
$R_{III} T_5$	0.850	"

Tabla 2. Cálculo del nitrógeno consumido por la planta del suelo.

Este cálculo se basa en la siguiente fórmula:

Nitrógeno del suelo (antes de la siembra) - Nitrógeno del suelo (después de la cosecha) = Nitrógeno consumido%

$R_{I}T_1$.0322 %	-	.0530 %	= -.0208+.044=.0232
$R_{I}T_2$.0322	-	.0616	= -.0294+.044=.0146
$R_{I}T_3$.0322	-	.0686	= -.0364+.044=.0076
$R_{I}T_4$.0322	-	.0532	= -.0210+.044=.0230
$R_{I}T_5$.0322	-	.0504	= -.0182+.044=.0258
<hr/>				
$R_{II}T_1$.0322	-	.0588	= -.0266+.044=.0174
$R_{II}T_2$.0322	-	.0630	= -.0308+.044=.0132
$R_{II}T_3$.0322	-	.0490	= -.0168+.044=.0272
$R_{II}T_4$.0322	-	.0546	= -.0224+.044=.0216
$R_{II}T_5$.0322	-	.0616	= -.0294+.044=.0146
<hr/>				
$R_{III}T_1$.0322	-	.0532	= -.0210+.044=.0230
$R_{III}T_2$.0322	-	.0624	= -.0302+.044=.0138
$R_{III}T_3$.0322	-	.0574	= -.0252+.044=.0188
$R_{III}T_4$.0322	-	.0546	= -.0224+.044=.0216
$R_{III}T_5$.0322	-	.0602	= -.0280+.044=.0160

* Factor de corrección (F.C.) = .044%

Como se tiene un valor de .88 de M.O. sería:

$$N = \frac{.88}{20} = \underline{0.044\%}$$

Tabla 3. Determinación del nitrógeno fijado por la planta.

Nitrógeno de la planta (grs) - Nitrógeno consumido por la planta (grs) = Nitrógeno fijado

$R_I T_1$	0.680	- .0232	= .6568 gr.
$R_I T_2$	0.605	- .0146	= .5904
$R_I T_3$	0.770	- .0076	= .7624
$R_I T_4$	0.635	- .0230	= .6120
$R_I T_5$	0.685	- .0258	= .6592
$R_{II} T_1$	0.995	- .0174	= .9776
$R_{II} T_2$	0.855	- .0132	= .8418
$R_{II} T_3$	0.995	- .0272	= .9678
$R_{II} T_4$	0.995	- .0216	= .9734
$R_{II} T_5$	0.825	- .0146	= .8104
$R_{III} T_1$	0.775	- .0230	= .7520
$R_{III} T_2$	0.845	- .0138	= .8312
$R_{III} T_3$	0.910	- .0188	= .8912
$R_{III} T_4$	0.955	- .0216	= .9334
$R_{III} T_5$	0.850	- .0160	= .8340

R = Repetición
T = Tratamiento

Tabla 4. Determinación del nitrógeno total acumulado.

Tratamiento	REPETICIONES			Total	\bar{x} (gr/planta)
	I	II	III		
1. Testigo	.6568	.9776	.7520	2.3864	0.7954
2. FM-14	.5904	.8418	.8312	2.2634	0.7544
3. FM-329	.7624	.9678	.8912	2.6214	0.8738
4. FM-318	.6120	.9734	.9334	2.5188	0.8396
5. FM-167	.6592	.8104	.8340	2.3036	0.7678

Análisis de varianza

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.E.	F. calc.	F. Teórica	
					.05	.01
Media	1	9.7503				
Tratamiento	4	.0291	.0072	1.77 ^{NS}	3.84	7.01
Repetición	2	.1797	.0898	22.45 ^{**}	4.46	8.65
Error	8	.0332	.0041			
Total	15	9.9923				

Del nitrógeno total acumulado por cada uno de los tratamientos, el 2% va a quedar disponible para el siguiente ciclo.

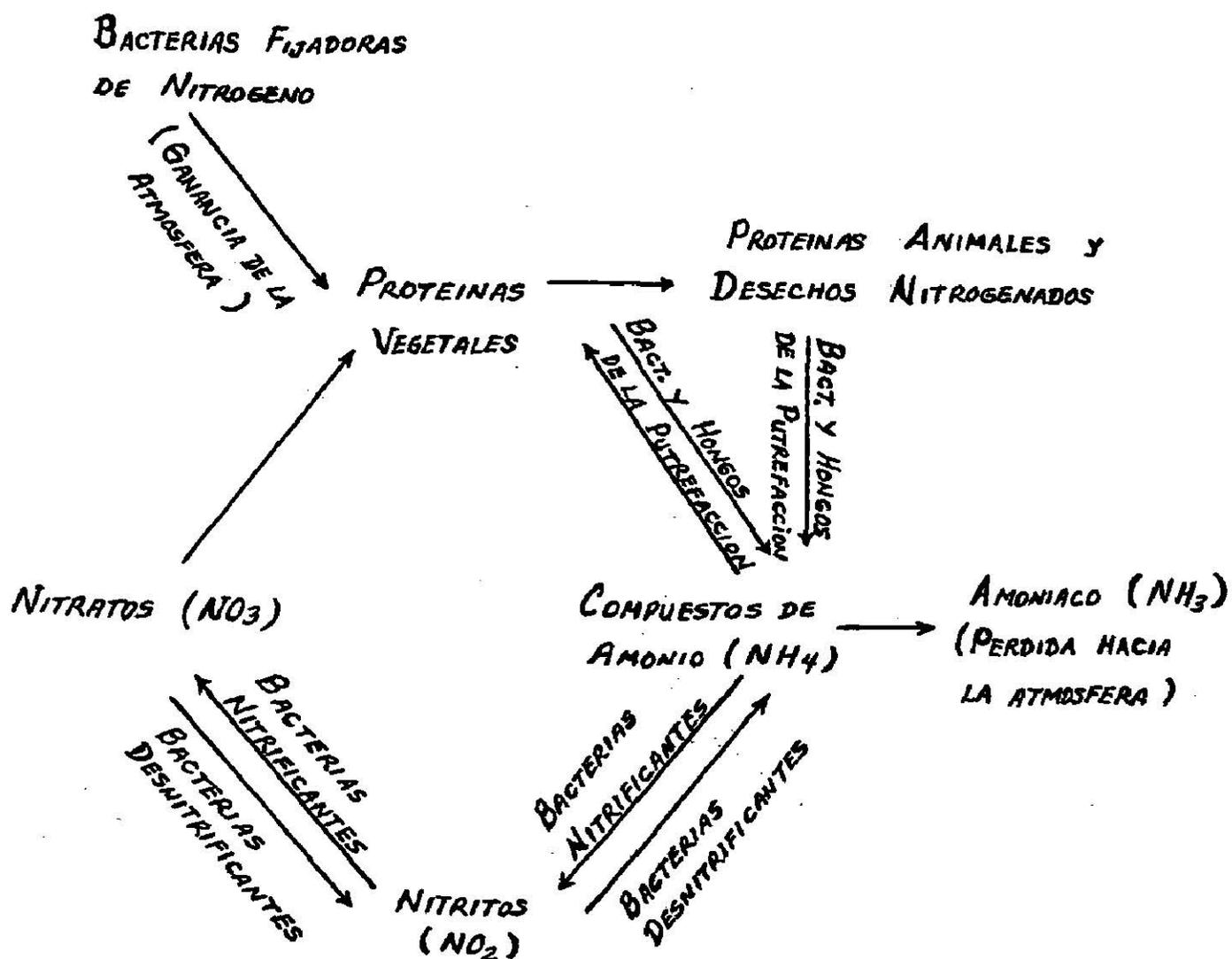


FIG.1 . Ciclo del nitrógeno

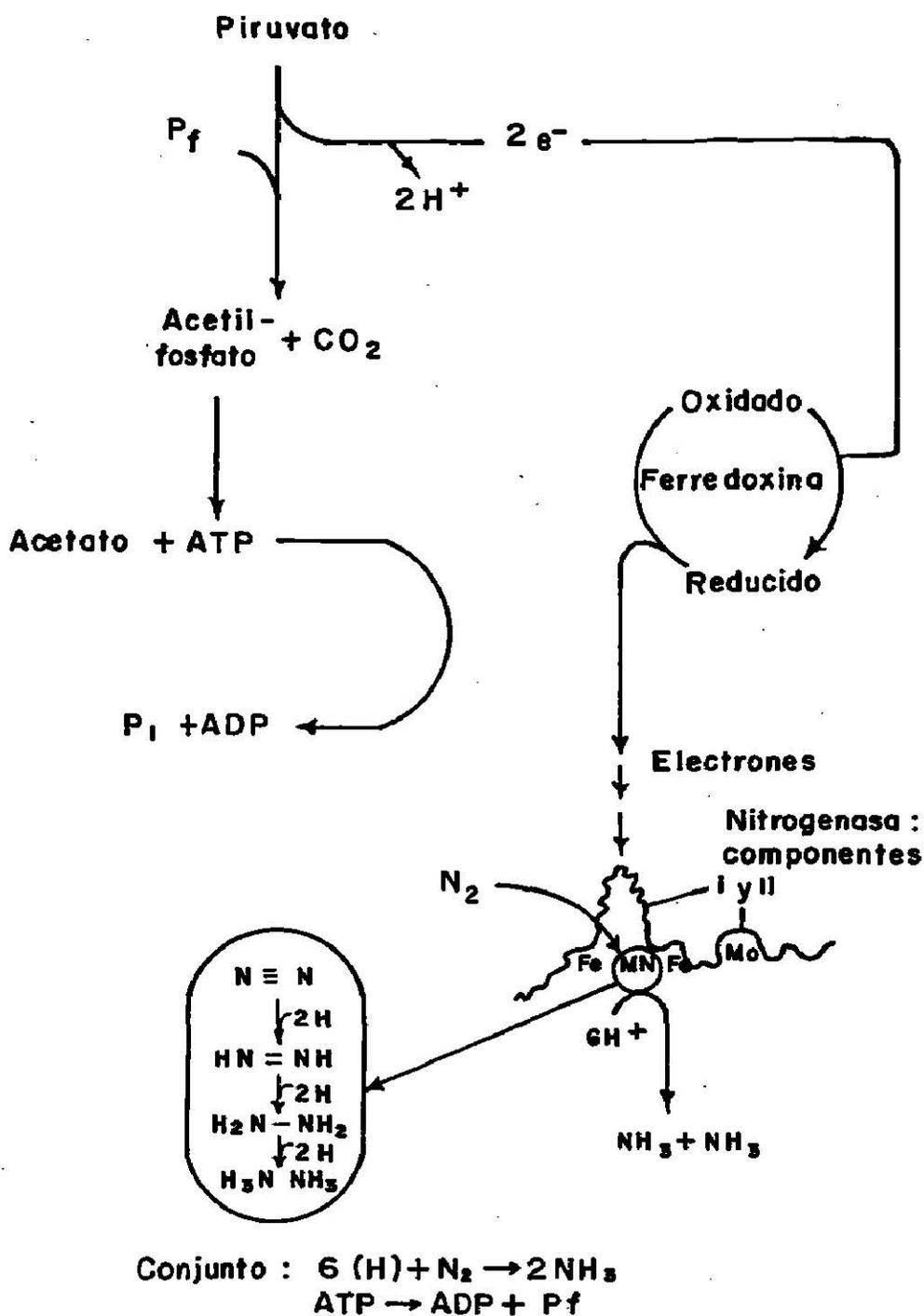


FIG. 4. Fijación del nitrgeno : Pasos en la reducción de N₂ a NH₃.

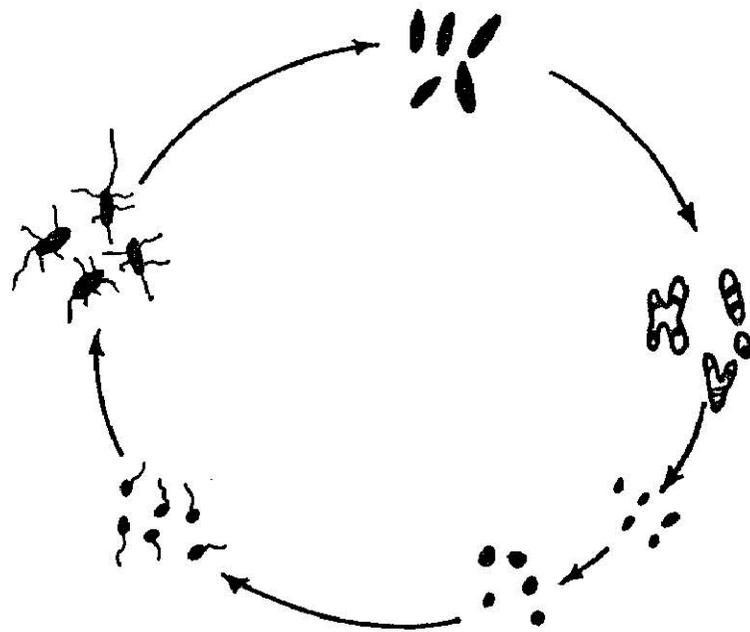


FIG. 5. Ciclo de Rhizobium leguminosarum mostrando su pleomorfismo .

DISEÑO EXPERIMENTAL
BLOQUES COMPLETOS AL AZAR

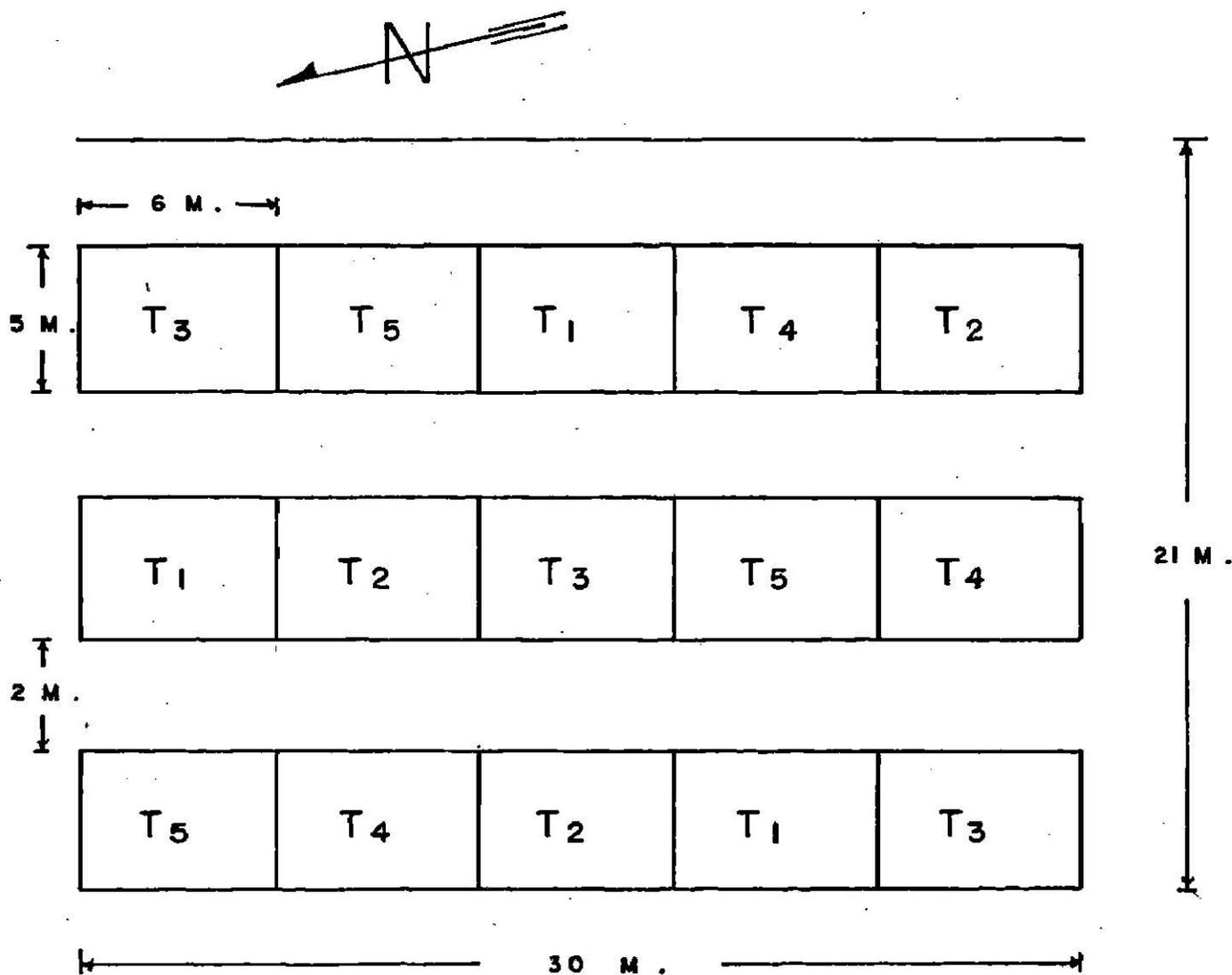


FIG. 6. Distribución al azar de los tratamientos en el campo. Evaluación de 4 cepas de *Rhizobium phaseoli* en frijol. Marín, N.L. Ciclo tardío 1986.

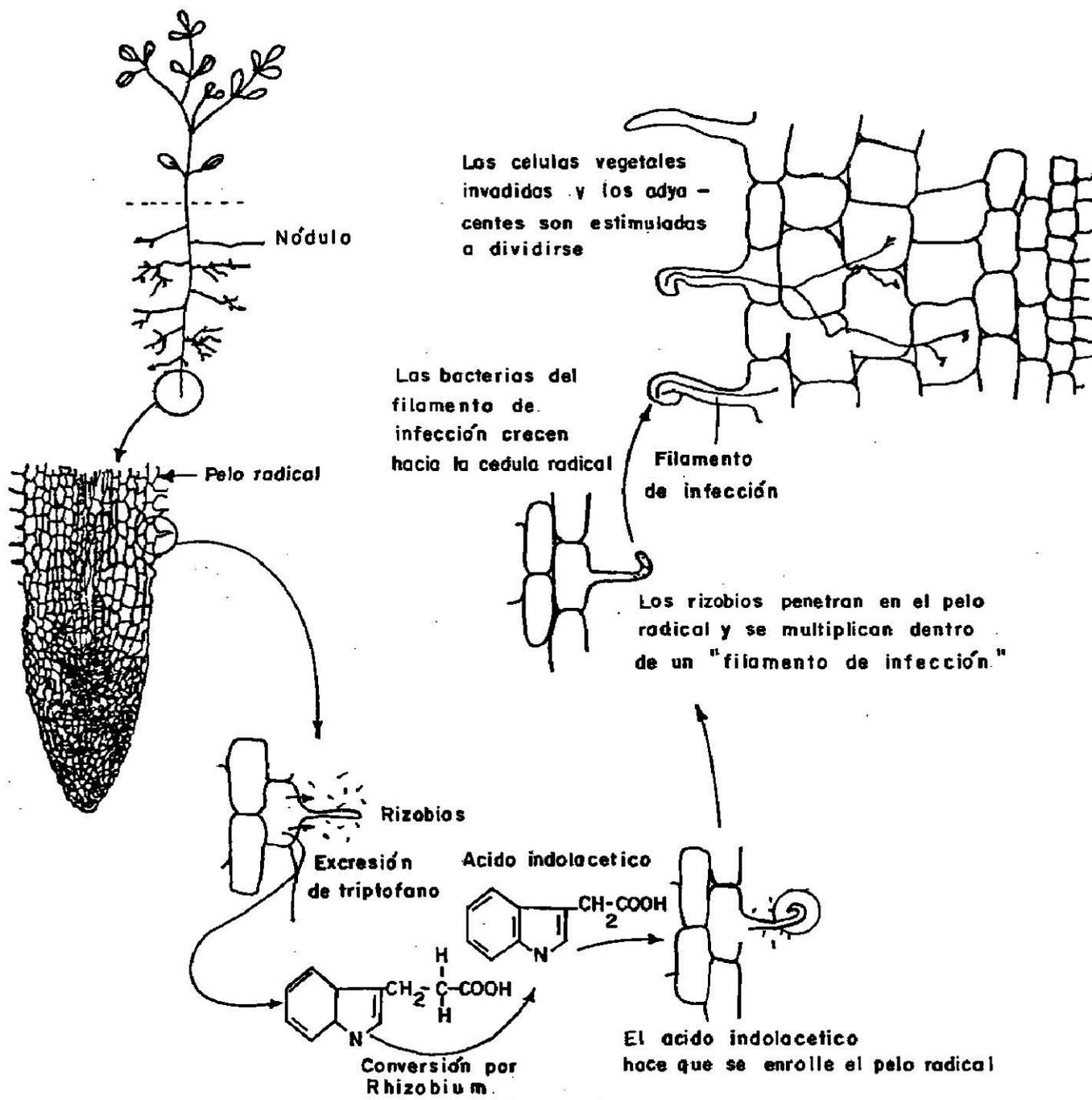


FIG. 7. Etapa de formación de un nódulo radicular .

