

O1
T(3)
C.3

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA

**EVALUACION DEL EFECTO SIMBIOTICO DE
14 CEPAS DE *Rhizobium phaseoli* EN
3 VARIETADES MEJORADAS DE FRIJOL
NEGRO DE GUATEMALA**



Por:
ROLANDO GUSTAVO AGUILERA MEJIA

En el acto de su investidura como

INGENIERO AGRONOMO

En el grado académico de

LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

Guatemala, Noviembre de 1974.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
BIBLIOTECA
DEPARTAMENTO DE TESIS. REFERENCIA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

Dr. Roberto Valdeavellano

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

<i>Decano:</i>	<i>Ing. Agr. Edgar L. Ibarra</i>
<i>Vocal 1o.:</i>	<i>Ing. Agr. Salvador Castillo O.</i>
<i>Vocal 2o.:</i>	<i>Ing. Agr. Ronaldo Prado</i>
<i>Vocal 3o.:</i>	<i>Ing. Agr. Carlos Guillermo Aldana</i>
<i>Vocal 4o.:</i>	<i>P. A. Napoleón Medina</i>
<i>Vocal 5o.:</i>	<i>P. A. Miguel Carballo</i>
<i>Secretario:</i>	<i>Ing. Agr. Oswaldo Porres</i>

TRIBUNAL QUE PRACTICO EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

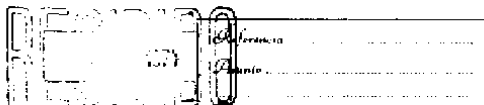
<i>Decano:</i>	<i>Ing. Agr. Edgar L. Ibarra</i>
<i>Examinador:</i>	<i>Ing. Agr. Marco A. Curley</i>
<i>Examinador:</i>	<i>Ing. Agr. Porfirio Masaya</i>
<i>Examinador:</i>	<i>Ing. Agr. Leonel Coronado</i>
<i>Secretario:</i>	<i>Ing. Agr. Oswaldo Porres</i>

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE AGRONOMIA
Ciudad Universitaria, Zona 12.
Apartado Postal No. 1545
GUATEMALA, CENTRO AMERICA

FACULTAD DE AGRONOMIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
GUATEMALA



H. H. H.
CONTESTADO:
FECHA:

Guatemala,
8 de noviembre de 1974.

Sr. Decano
De la Facultad de Agronomía
Ing. Agr. Edgar Lionel Ibarra.
Presente.

Señor Decano:

Atentamente nos permitimos manifestar que hemos asesorado al Er. ROLANDO GUSTAVO ACUILERA MEJIA en la elaboración de su Tesis de Grado para obtener el título de Ingeniero Agrónomo.

Dicho trabajo intitulado "EVALUACION DEL EFECTO SIMBIOTICO DE 14 CEPAS DE Rhizobium phaseoli EN 3 VARIETADES MEJORADAS DE FRIJOL NEGRO DE GUATEMALA", llena ampliamente los requisitos para ser aceptada como Tesis de Grado y constituye efectiva aportación a las ciencias agrícolas de nuestro medio.

Sin otro particular nos suscribimos atentamente de Ud.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. Agr. Mario Molina
Director del Departamento
de Parasitología Agrícola.



Ing. Agr. Salvador Castillo
Director del Departamento
de Suelos.

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

A MIS PADRES

A MI ESPOSA

A MIS HIJOS

A MIS PADRES POLITICOS

TESIS QUE DEDICO

*A LA FACULTAD DE AGRONOMIA DE LA UNIVERSIDAD
DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.*

*AL INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA AGRICOLAS
(ICTA)*

A MIS COMPAÑEROS DE PROMOCION Y AMIGOS.

A LA PATRIA.

AGRADECIMIENTO

Quiero en estas líneas patentizar mi agradecimiento por la colaboración desinteresada que en todo momento recibí en la elaboración de este estudio al Ing. Agr. Aníbal Palencia, Dr. James Walker, Ing. Agr. Salvador Castillo (asesor), Ing. Agr. Mario Molina Llardén (asesor), P. C. José C. Del Valle, Srta. Edith Bressani.

Así mismo quiero agradecer al Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA) por brindarme la oportunidad de encaminar mis esfuerzos en esta investigación y a todas aquellas personas que en una u otra forma pudieron colaborar.

HONORABLE JUNTA DIRECTIVA
HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En base a las normas que establece la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a su consideración el trabajo de tesis titulado:

**EVALUACION DEL EFECTO SIMBIOTICO DE
14 CEPAS DE *Rhizobium phaseoli* EN
3 VARIEDADES MEJORADAS DE FRIJOL
NEGRO DE GUATEMALA**

Con el propósito de llenar con el presente estudio el último requisito para optar al título de INGENIERO AGRONOMO en el grado de Licenciado en Ciencias Agrícolas.

Sin otro particular me suscribo deferentemente de ustedes.

Rolando Gustavo Aguilera Mejía.

CONTENIDO

	<i>Página</i>
I Introducción	1
II Revisión de literatura	3
2.1 <i>Características más importantes del Rhizobium</i>	3
2.2 <i>Algunos factores importantes que pueden influir en la planta, sobre todo en la fijación de N y la infección natural o provocada de los Rhizobios en las raíces de las leguminosas</i>	3
2.2.1 <i>Factores externos</i>	4
2.2.2 <i>Factores internos</i>	5
2.3 <i>Efecto del número y la posición de los nódulos en la raíz</i>	6
III Materiales y Métodos	7
3.1 <i>Sede de los experimentos</i>	7
3.2 <i>Descripción del sistema de Jarras de Leonard</i>	7
3.2.1 <i>Preparación de la arena y aplicación de nutrientes a la misma</i>	8
3.3 <i>Descripción y obtención de las cepas de Rhizobium</i>	10
3.3.1 <i>Multiplicación de la bacteria partiendo de ampollas con Rhizobium liofilizado</i>	10
3.3.2 <i>Método para aislar el Rhizobium de los nódulos de la raíz</i>	11
3.4 <i>Medio utilizado para el cultivo del Rhizobium</i>	11

	<i>Página</i>
3.5 <i>Varietades de frijol (Phaseolus vulgaris)</i>	12
3.6 <i>Tratamientos seleccionados por experimentos</i>	13
3.7 <i>Diseño de los experimentos</i>	
3.8 <i>Toma de datos</i>	15
3.9 <i>Conducción del experimento</i>	15
3.9.1 <i>Siembra de los experimentos</i>	15
3.9.2 <i>Inoculación de los experimentos</i>	16
3.9.3 <i>Aplicación de solución traza de N</i>	16
3.9.4 <i>Control y mantenimiento de los experimentos</i>	16
3.9.5 <i>Otras observaciones y datos tomados</i>	16
IV Análisis y discusión de resultados	17
4.1 <i>Análisis de resultados</i>	17
4.2 <i>Discusión de resultados</i>	30
V Conclusiones	33
VI Bibliografía	35
VII Apéndice	39

INTRODUCCION

La investigación sobre inoculación a plantas de frijol con bacterias de género Rhizobium es escasa en nuestro país, así como el material bibliográfico para consulta.

En algunos países de Latinoamérica como Perú, Uruguay, Chile, Brasil, Argentina (4), México y Colombia, ya se ha empezado a efectuar investigación sobre Rhizobium desde hace algunos años, aunque no enfocada exclusivamente al grupo que nódula al frijol (Phaseolus vulgaris).

El problema de las bajas producciones obtenidas en frijol es bien conocido. Datos referidos al cultivo nos muestran que el promedio en 1970/71 fue de 331 Kg/Ha, lo cual significa una producción de 61,154 T.M. en 185,269 Ha que fue o sembrado (16). Esta producción no llena los requisitos mínimos de consumo, pues el INCAP (13) informa que en 1969-70 se necesitaron 91,250 T.M. de grano para tal efecto.

El bajo rendimiento del cultivo de frijol es debido a un gran número de factores, entre los que se puede contar la deficiente nutrición de Nitrógeno de las plantas. Esta deficiente nutrición de nitrógeno puede ser debida a una escasa disponibilidad de este elemento en el suelo, una deficiente aplicación de nitrógeno mineral, o bien a una ineficaz fijación del nitrógeno libre por bacterias del género Rhizobium.

Se hace necesario encontrar una solución efectiva y económica. Está comprobado que algunos tipos de leguminosas responden muy bien a una adecuada inoculación de Rhizobios y con ésta base se ha iniciado éste trabajo.

Los precios del nitrógeno mineral están registrando año con año aumentos antieconómicos para la producción, lo que hace otra razón de peso para la investigación en este campo. En 1972 el precio del quintal de Urea era de Q.5.00 a Q.7.00 y actualmente éste ha superado los Q.20.00.

La inoculación de la semilla para sembrar un campo de leguminosas cualquiera que sea es relativamente barata, según Sandmann (21) cuesta únicamente \$ 1.87/Ha. A simple vista la inoculación significa una economía que es significativamente diferente al costo derivado de aplicar nitrógeno mineral.

II REVISION DE LITERATURA

2.1 Características más importantes de Rhizobium

El *Rhizobium* ha sido intensamente estudiado por numerosos investigadores y fue Beijerinck citado por Waksman (23), el que primero logró cultivar en vitro la bacteria, contribuyendo en esa forma al avance de los estudios sobre la misma. Varios autores (8, 22, 23) al escribir sobre el *Rhizobium* lo colocan en el grupo de bacterias de reacción Gram-negativo y de condición aeróbica de vida. Por otro lado Erdman (12), da algunas características de su tamaño, indicando que oscila entre 1.2 a 3.0 micras, cuando presentan su forma habitual de bastón.

Se ha mencionado entonces ya un tamaño para una forma de la bacteria, lo que da la idea que existen otras formas. Brock (6) describe rápidamente estas otras formas como parte del ciclo biológico de la misma, y comienza diciendo: El *Rhizobium* en su estado bacilar transforma el triptofano exudado por las raíces, en Acido indol acético, con el cual ablanda los tejidos de los pelos radicales y penetra causando la infección. En este momento algunos *Rhizobios* se convierten en células cortas casi redondas y con muchos flagelos que se sitúan en células tetraploides de la raíz donde proliferan transformándose más tarde en células hinchadas y deformes llamadas bacteroides los cuales con el tiempo envejecen y al destruirse el nódulo que habían formado quedan libres conjuntamente con otras células bacilares que permanecieron inactivas y que serán fuente de nuevas infecciones.

2.2 Algunos factores importantes que pueden influir en la planta; sobre todo en la fijación de Nitrógeno y la infección natural o provocada de los *Rhizobios* en las raíces de las leguminosas.

Son varios los factores que pueden influir al respecto, siendo ellos los externos e internos: Se pueden citar entre los factores externos más importantes el pH, la temperatura del suelo

y los niveles de fertilidad del mismo, y entre los factores internos la variedad de la planta y la raza de *Rhizobium* actuante. Döbereiner, Arruda y Penteado (10) estudiando estos factores concluyen que el tamaño y la cantidad de nódulos en las raíces puede ser afectado por estos.

2.2.1 Factores externos

Datos de adaptabilidad de la bacteria han sido conseguidos con la experimentación. Es así como numerosos investigadores (8, 14, 20, 23) hablan de diferentes valores de pH en el que sobrevive adecuadamente el *Rhizobium*, pero un análisis de estos datos lo enmarcan en un rango que va de 5.5 a 7.5. La temperatura como factor actuante ha sido considerada con leves discrepancias (8, 20) que oscila entre los 18°C y 30°C, sin causar efectos negativos en el *Rhizobium*. De tal manera Barros, Raggio M. y Raggio N. (2) encontraron que la variedad de frijol pencil *Pod* inoculada con la cepa 316C17 de la Cía Nitragin, obtenía su mejor nodulación a los 25°C.

Franco y Döbereiner (15) efectuando estudios con algunos elementos nutritivos para las plantas, encontraron que el molibdeno y el calcio fueron capaces de aumentar la fijación del nitrógeno por el *Rhizobium* aunque el molibdeno en exceso fue perjudicial.

Ruschel, Alvahydo y Penteado (20) trabajaron con magnesio, y dicen que este es indispensable para el desarrollo del *Rhizobium*, dado que experimentos efectuados demostraron que en ausencia de éste la bacteria prolifera poco.

Hablando siempre sobre el factor fertilidad, se cita a Erdman (12), el cual dice que: En los suelos de alta fertilidad, con altos niveles naturales de Nitrógeno en forma de nitratos las leguminosas pueden fijar poco o nada el nitrógeno atmosférico.

2.2.2 Factores internos

Se mencionó como factores importantes internos el efecto de la variedad y de la raza de *Rhizobium* actuante. Los estudios efectuados a la fecha han sido enfocados bajo diferentes puntos de vista.

En forma de introducción puede citarse a Erdman (12) que dice textualmente "Algunas variedades de leguminosas especialmente la soya y los guisantes, tienen predilección por una bacteria determinada. Una especie que produce excelentes resultados en una variedad, puede resultar ineficaz para fijar el nitrógeno en otra". Este principio de selectividad ha sido estudiado intensamente; Franco y Döbereiner (15), lo confirmaron al efectuar experimentos combinados con plantas de frijol. Gran número de investigaciones giran sobre lo anterior buscando la respuesta al fenómeno que se presenta para comprenderlo mejor.

Así Brakel (5) estudiando la actividad de fijación del *Rhizobium* en frijol concluye que ésta depende de la cepa inoculada a la planta y expresa que una buena raza de bacterias puede superar los rendimientos que se producirían con un nivel de nitrógeno mineral de 50 Kg/Ha. Burton, Allen y Berger (7) encontraron que plantas noduladas por razas de *Rhizobium* efectivas capaces de fijar nitrógeno no retardaron el crecimiento de la planta; no así las razas que se mostraron inefectivas en la fijación de dicho elemento.

Döbereiner y Ruschel (11) al hablar de sus experiencias obtenidas con *Phaseolus vulgaris* e inoculadas con *Rhizobium* dicen, que la fijación de nitrógeno en muchas variedades varía con la estirpe inoculada, así como también que en algunas variedades es posible obtener una fijación de nitrógeno tal, que la necesidad de éste elemento por la planta queda suplida por lo menos hasta antes de la floración.

Otro punto de vista de la selectividad entre la relación planta-*Rhizobium* fue estudiado por Chailakhyan y Megrabyan,

los cuales cita Peters y Alexander (18) y que dicen que las exudaciones de las raíces de leguminosas contienen un factor selectivo que incita a los Rhizobios homólogos a penetrar y causar la infección.

2.3 Efecto del número y la posición de los nódulos en la Raíz

Es importante citar estas características de las infecciones de *Rhizobium*, ya que en el presente estudio se consideran con mayor énfasis dichas características. Bhaduri y Sen (4) estudiaron la posición de los nódulos en la raíz y encontraron 3 formas de manifestarse:

- a) Localizados solo en la parte superior
- b) Difundidos en la parte superior e inferior
- c) Colocados en pequeños grupos en la parte superior y con tendencia a difundirse hacia la parte inferior.

Döbereiner, Arruda y Penteado (9) mencionan el concepto generalmente aceptado que dice; no existe una correlación entre el número de nódulos y la fijación de nitrógeno, mas si hay existencia de nódulos grandes situados en las raíces primarias este es índice de una simbiosis eficiente. Estos mismos investigadores citan a Burton, el cual observó que la posición de los nódulos es debida a la inoculación de las raíces y que plantas de frijol con nodulación natural distribuida en todo el sistema radicular puede ser tan eficiente en la simbiosis de *Rhizobium* como cuando se inoculan estas.

III MATERIALES Y METODOS

3.1 Sede de los experimentos.

El estudio de selección de cepas se llevó a cabo en invernadero, utilizando el sistema de Jarras de Leonard.

Para tal efecto se montaron 2 experimentos en el invernadero del ICTA (Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas) situado en la 7a. Av. 3-67 zona 13 en la ciudad de Guatemala y que forma parte de las instalaciones de los laboratorios de suelos y microbiología de la institución citadas.

3.2 Descripción del Sistema de Jarras de Leonard

Vincent (22) describe un sistema modificado de preparación de Jarras de Leonard, el cual se tomó como base para preparar las Jarras que se usaron en los experimentos, y a las cuales se le hicieron otras modificaciones en base de experiencias obtenidas a priori por el autor de este trabajo de tesis.

El sistema descrito por Vincent se puede resumir así: Una botella cortada del fondo de una capacidad de 700 ml se tapona en su boca con un pedazo de algodón, el cual a la vez sostiene una mecha de algodón colocada a lo largo de ella. A continuación se coloca arena gruesa de río en su interior y se pone cuello abajo sobre un frasco de vidrio.

Luego se coloca una solución nutritiva en el frasco de vidrio y se recubre el conjunto (frasco y botella) con una bolsa de papel resistente al agua hasta el borde cortado de la botella. Usando una caja de Petri se recubre el fondo cortado de la botella y este conjunto se coloca a un autoclave a 120°C por 2 horas para esterilizarlo.

Posterior a la siembra se debe aplicar una capa de arena parafinada sobre la superficie de la arena de la botella.

Las modificaciones efectuadas al sistema mencionado podrán ser notadas al describir a continuación la forma en que se realizó la preparación de cada Jarra de Leonard. Una botella de cerveza cortada en el fondo con capacidad para 460 gr de arena fina de río fue taponada en la boca con un tapón de algodón bien apretado. A continuación los 460 gr de arena se colocaron en una bolsa plástica en la cual se aplicaron los nutrientes necesarios de acuerdo a las dosis que establece Sandmann por jarra (21). Los nutrientes aplicados se homogeneizaron perfectamente y la bolsa con arena se colocó en una caja de cartón la que se llevó a esterilización en un autoclave a 120°C y a 15 libras de presión por 2 horas.

Por otra parte a cada botella cortada y taponada se le colocó una cubierta de papel Kraft en su extremo cortado, y amarrada con una pita de algodón, se colocó cuello abajo en un frasco de vidrio y se esterilizó en un horno marca Blue M modelo FC 572 a 170°C por 2 horas.

Previo a la siembra se depositó la arena esteril y fertilizada en la botella, y en el frasco de vidrio se aplicó agua destilada para que mantuviera húmeda la arena por capilaridad.

3.2.1 Preparación de la arena y aplicación de nutrientes a la misma.

La arena, previo al tratamiento mencionado en el párrafo anterior fue necesario tamizarla a 1 mm de diámetro. Esta arena tamizada se lavó varias veces hasta que la última agua de lavado salió libre de partículas coloidales del suelo, procediendo a secarse y colocarse en bolsas plásticas conteniendo 460 gr. cada una (cada porción correspondió a una jarra de Leonard).

Cada bolsa plástica con arena recibió el tratamiento nutritivo que recomienda Sandmann (21). Las cantidades de compuestos nutritivos que se aplicaron se indican en la siguiente tabla.

<i>Compuesto</i>	<i>Aplicados en solución</i>	<i>Aplicados en sólido</i>	<i>Peso comp. en gr. aplic./J.L.</i>
KCl	+		0.141900
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	+		0.469500
K_2HPO_4	+		0.331400
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	+		0.000079
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	+		0.00022
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	+		0.00203
$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$	+		0.000010
H_3BO_3	+		0.00113
$FeSO_4$	+		0.0025
$C_6H_8O_4 \cdot H_2O$	+		0.0025
$CaSO_4 \cdot 2H_2O$		+	0.6904
KNO_3 *	+		0.0114

* *Aplicado 10 días después de la siembra.*

3.3 Descripción y obtención de las cepas de *Rhizobium*.

Las cepas de *Rhizobium* probadas fueron 14; de las mismas 8, fueron traídas en ampollas liofilizadas de la colección del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) situado en Cali, Colombia, en donde ya habían sido seleccionadas y probadas con variedades comerciales de ese país. Las 6 cepas restantes fueron aisladas de plantas de frijol encontradas en Guatemala con nódulos grandes y rosados que según varios autores (6, 21, 12) son eficientes para la fijación de nitrógeno atmosférico y actualmente forman parte de la colección del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA).

El número de colección del ICTA con el que se reconocen actualmente las cepas de *Rhizobium* mencionado son:

Para las 8 cepas Colombianas: ICTA No. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8.

Para las 6 cepas Guatemaltecas: ICTA No. 21, 22, 23, 24, 25 y 26.

El proceso de multiplicación de las razas de *Rhizobium* que venían liofilizadas, así como el aislamiento de las bacterias a partir de nódulos se llevó a cabo utilizando diversos materiales y técnicas de laboratorio las cuales se describen a continuación:

3.3.1 Multiplicación de la bacteria partiendo de ampollas con *Rhizobium* liofilizado.

Con una lima para vidrio se rompe la ampolla y a continuación con una pipeta Pasteur esteril conteniendo 1/2 ml de agua esteril, se disuelve el contenido de la misma hasta formar una suspensión que se coloca en varias cajas de petri conteniendo un medio apropiado de cultivo. Con un asa bacteriológica se distribuye la bacteria en el medio y se espera que crezca para proceder a su subcultivación y multiplicación.

3.3.2 Método para aislar el *Rhizobium* de los nódulos de la raíz.

Los mejores nódulos son separados de la raíz y a continuación se lavan perfectamente. En cajas de Petri debidamente esterilizadas se desinfecta el nódulo en las siguientes etapas:

- 1) Colocación del nódulo en alcohol etílico absoluto por 3 minutos.
- 2) Paso del nódulo a una solución de bicloruro de mercurio al 0.10/o acidificado con HCl grado reactivo (5 ml. en 100 de sol. de $HgCl_2$).
- 3) Cinco lavados sucesivos en agua destilada y esteril.

Con este proceso el nódulo queda desinfectado externamente y el mismo se traslada una caja de Petri con un medio adecuado para el desarrollo de la bacteria en donde se presiona con una pinza y luego se distribuye su contenido en la superficie del medio, utilizando una tasa bacteriológica.

El siguiente paso será el de purificación de la misma a base de sub-cultivos sucesivos.

Las técnicas anotadas en el párrafo 3.3.1 y 3.3.2 se basan en las técnicas expuestas por Vincent (22) y en experiencias adquiridas en entrenamiento previo (1)

3.4 Medio utilizado para el cultivo del *Rhizobium*.

El medio que se utilizó para este proceso es el que anota Vincent (22) y el cual está preparado a partir de los siguientes materiales:

K_2HPO_4	0.5	gr.
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2	gr.
NaCl	0.1	gr.
Mannitol	10.0	gr.
Extracto de levadura	100	ml.
Agar	20	gr.
pH	6.8	
Agua destilada	necesaria para llevar a 1000 ml de medio	

Todo esto esterilizado a 120°C y 15 libras de presión por 20 minutos.

3.5 Variedades de Frijol (*Phaseolus vulgaris*).

Las variedades de frijol seleccionadas para este estudio fueron:

Ipala 72, San Pedro Pinula 72 y Negro Jalpatagua. Todas son recomendadas comercialmente por el Programa de Frijol del ICTA, por su alto rendimiento y resistencia a las enfermedades más comunes. Tomando sus características más importantes, Molina (17) las describe así:

Descripción de Planta	Ipala 72	San Pedro Pinula 72	Negro Jalpatagua
Tamaño	60 cms	65 cms	50 cms
Hábito de crecimiento	Semideterminado	Determinado	Determinado
Días de Floración	34-40	35-40	30-40
Color de la Flor	rosada	rosada	morada
Ciclo vegetativo	85-90 días	90-95 días	85-90 días
Color de la semilla	negro	negro	negro
Rendimiento en Kg/Ha.	1300-3000	1300-1200	1300-2000
Adaptación en MSNM	300-1500	300-1500	100-1000

3.6 Tratamientos seleccionados por experimentos:

Los tratamientos empleados se basaron en la inoculación de las 3 variedades de frijol por las 14 cepas de Rhizobium, dichos tratamientos se resumen así:

Experimento No. 1

Variedad de
Frijol

Cepa de Rhizo-
bium inoculada

Ipala 72

Testigo
ICTA No. 21
" " 22
" " 23
" " 24
" " 25
" " 26

San Pedro
Pinula 72

Testigo
ICTA No. 21
" " 22
" " 23
" " 24
" " 25
" " 26

Negro Jaipa-
tagua

Testigo
ICTA No. 21
" " 22
" " 23
" " 24
" " 25
" " 26

Experimento No. 2

Variedad de
Frijol

Cepa de Rhizo-
bium inoculada

Ipala 72

Testigo
ICTA No. 1
" " 2
" " 3
" " 4
" " 5
" " 6
" " 7
" " 8

San Pedro
Pinula 72

Testigo
ICTA No. 1
" " 2
" " 3
" " 4
" " 5
" " 6
" " 7
" " 8

Negro Jalpa-
tagua

Testigo
ICTA No. 1
" " 2
" " 3
" " 4
" " 5
" " 6
" " 7
" " 8

3.7 Diseño de los Experimentos.

El diseño empleado en los experimentos fue en parcelas sub-divididas con 3 repeticiones, en las cuales cada unidad experimental estuvo constituida por una Jarra de Leonard con 2 plantas cada una.

3.8 Toma de Datos

En base a los días de floración las plantas se cosecharon a los 40 días de la siembra y se tomaron los datos siguientes:

- a) *Peso de materia seca de la parte aérea de las plantas, cortadas a nivel de la corona de la raíz.*
- b) *Número total de nódulos de las raíces.*
- c) *Número de nódulos en los primeros 3 centímetros de la raíz.*
- d) *Peso de materia seca de los nódulos de la raíz.*

3.9 Conducción del Experimento

3.9.1 Siembra de los experimentos:

Los experimentos se sembraron con 3 días de diferencia. Esto tuvo como objeto dar un tiempo prudencial en la preparación de los materiales necesarios para el montaje del otro experimento, así como tener a la vez un tiempo adecuado para poder cosechar los mismos a los 40 días de su siembra.

Se utilizó en la siembra semillas perfectamente desinfectadas con una solución de bicloruro de mercurio al 0.2o/o acidificado con HCl grado reactivo según la técnica que expone Vincent (22).

Se colocaron 4 semillas por Jarra de Leonard, cuya germinación se observó alrededor de los 7 días, fecha en la cual se

efectuó un raleo dejando únicamente 2 plantas por jarra con el fin de que no existiera competencia en el desarrollo de las plantas.

3.9.2 Inoculación de los Experimentos.

Inmediatamente después del raleo de plantas, se procedió a inocular el Rhizobium de acuerdo a los tratamientos seleccionados, esta inoculación se efectuó con una suspensión de bacteria preparada de sub-cultivos de ésta, en cajas de Petri, preparadas según las técnicas ya anotadas.

3.9.3 Aplicación de Solución traza de Nitrógeno.

A los diez días después de sembrados los experimentos se les aplicó a cada Jarra de Leonard 5 ml de una solución que contenía 0.5 ml de solución madre de KNO_3 a 2.280/o.. Esta mínima cantidad de nitrógeno tuvo como fin el mantenimiento de las plantas mientras los Rhizobios podían multiplicarse y formar los nódulos en las raíces.

3.9.4 Control y mantenimiento de los experimentos.

En los 30 días siguientes únicamente fue necesario mantener el nivel de agua destilada a cada Jarra de Leonard.

3.9.5 Otras observaciones y datos tomados.

Se llevó un control de temperaturas máximas y mínimas a lo largo de todo el período vegetativo así como se consideró conveniente tomar fotografías al inicio de la fijación de nitrógeno por los Rhizobios y a los 39 días después de la siembra.

IV ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADO

4.1 Análisis de resultados.

Los experimentos realizados se llevaron a cabo en un ambiente que cumpliera con las condiciones externas de pH, fertilidad y temperatura enumeradas en el capítulo II.

El pH y la fertilidad se controlaron fácilmente utilizando las "Jarras de Leonard" como se explica en el capítulo III, y para conocer la condición de temperatura durante el desarrollo de los experimentos, los primeros 30 días se llevó un control diario de la misma dentro del invernadero.

Estos datos se presentan en el cuadro 1, puede observarse que la temperatura promedio fue de 27.9 y 28°C para cada experimento respectivamente, lo cual queda dentro del rango ya anotado en la revisión de literatura.

Los análisis de peso de materia seca de plantas, nódulos, número de nódulos totales y en los primeros 3 cm. de raíces se hicieron por separado y por experimento. Los mismos se presentan a continuación en el orden siguiente: Del cuadro 2 al 4 lo referente al Experimento No. 1 y del cuadro 5 al 7 lo referente al Experimento No. 2. Para efectuar los análisis de varianza en ambos experimentos, los números de nódulos totales y en los 3 primeros cm. de raíz, se transformaron a su valor logarítmico para cumplir con condiciones de dicho análisis, más no fue así con los datos de materia seca de plantas y nódulos con los cuáles se trabajó en forma normal.

El Experimento No. 1 en el cuál se trabajó con cepas de Rhizobium nativas hubo diferencias altamente significativas entre las medias de los tratamientos por inoculantes. Las cuáles se mostraron constantes para los 4 tipos de datos analizados en el experimento.

El análisis efectuado en el Experimento No. 2 mostró al igual que el Experimento No. 1, diferencias altamente significativas entre tratamientos por inoculantes, mostrándose estas en forma generalizada en los valores promedio del peso de la materia seca de plantas y nódulos, número de nódulos totales en la raíz y en los primeros 3 Cms. de la misma.

A un nivel del 50/o de probabilidad y en lo que respecta únicamente al número total de nódulos y en los primeros 3 Cms. de raíz en el Experimento No. 2, se detectaron diferencias en las variedades estudiadas.

Estos mismos valores mostraron la existencia de una interacción entre inoculante y variedad a un nivel de significancia del 10/o.

El posterior análisis de los tratamientos con diferencias significativas se resumen en el cuadro 8 para el Experimento No. 1 y en el cuadro 9 y 10 para el Experimento No. 2.

Haciendo referencia al cuadro 8 se observa que las cepas de Rhizobium ICTA No. 23, 24, 25 y 26 evaluadas en el Experimento No. 1 mostraron ser estadísticamente iguales pero superiores a las cepas ICTA No. 21, 22 y el testigo, en su capacidad de producir mayores promedios de materia seca por planta. Los valores obtenidos para materia seca de nódulos, número total de nódulos y número de estos en los primeros 3 Cms. de raíz, fueron estadísticamente iguales en todas las cepas probadas, salvo el testigo que fue el indicador de las diferencias estadísticas detectadas para estos datos.

Las medias de tratamientos presentadas en el cuadro 9 y 10 para el Experimento No. 2 respondieron a los tratamientos aplicados en la siguiente forma:

Para el análisis de los pesos de materia seca de plantas las cepas ICTA No. 2, 5, 6 y 8 mostraron ser superiores a las cepas ICTA No. 1, 3, 4, 7 y el testigo.

El peso de materia seca de nódulos tuvo sus más altos rendimientos con las cepas ICTA No. 1, 2, 5, 6 y 8.

El número total de nódulos en la raíz y en los primeros 3 Cms. de la misma, mostró que las mayores infecciones por las bacterias se alcanzaban con las cepas ICTA No. 1, 2, 3, 5, 6, 7 y 8.

Las variedades de frijol que fueron estadísticamente superiores por su facilidad de ser infectadas fueron la variedad San Pedro Pinula 72 y la variedad Negro Jalpatagua.

En el cuadro 10 se muestran las medias de rendimiento de nódulos totales y en los primeros 3 Cms. de raíz por Jarra de Leonard, obtenidas de los tratamientos de inoculantes y variedades que acusaron un efecto de interacción. Se observó que las medias de tratamiento de los inoculantes en cada variedad de frijol tuvieron una respuesta muy parecida de interacción con los inoculantes estudiados, marcándose únicamente en el testigo y en la cepa ICTA No. 4 diferencias significativamente inferiores al resto de tratamientos.

CUADRO 1

**CONDICIONES DE LA TEMPERATURA DEL
INVERNADERO DURANTE EL DESARROLLO
DE LOS EXPERIMENTOS**

<i>EXPERIMENTO No. 1</i>				<i>EXPERIMENTO No. 2</i>			
<i>Día</i>	<i>temp.</i>	<i>Día</i>	<i>Temp.</i>	<i>Día</i>	<i>Temp.</i>	<i>Día</i>	<i>Temp.</i>
1	27.5°C	16	32.0°C	1	31.5°C	16	26.0°C
2	30.0°C	17	29.5	2	28.5°C	17	26.0
3	30.0	18	24.0	3	29.0	18	27.0
4	31.0	19	24.0	4	30.0	19	28.5
5	32.0	20	25.0	5	29.0	20	27.5
6	31.5	21	26.0	6	31.0	21	27.5
7	28.5	22	26.0	7	34.0	22	27.0
8	29.0	23	27.0	8	28.5	23	27.5
9	30.0	24	28.5	9	29.0	24	27.0
10	29.0	25	27.5	10	28.0	25	24.0
11	31.0	26	27.5	11	32.0	26	29.0
12	34.0	27	27.0	12	29.5	27	28.0
13	28.5	28	27.5	13	24.0	28	28.0
14	29.0	29	27.0	14	24.0	29	27.0
15	28.0	30	24.0	15	25.0	30	28.5
<i>Media</i>		28.3°C		<i>Media</i>		27.9°C	

CUADRO 2

Rendimiento medio de materia seca (gr. por jarra de Leonard) de plantas de frijol y nódulos, en los tratamientos del experimento I

Cepa de <i>Rhizobium</i>	MATERIA SECA DE PLANTAS				MATERIA SECA DE NODULOS			
	Ipala	San Pedro Piru-la-72	Negro Jalpatagua	Media	Ipala-72	San Pedro Piru-la-72	Negro Jalpatagua	Media
Testigo	1.143	0.520	0.622	0.762	0.2053	0.0878	0.0780	0.1237
ICTA 21	1.902	1.403	1.407	1.570	0.7222	0.4635	0.4476	0.5444
"	2.160	1.163	1.383	1.569	0.6636	0.3358	0.5014	0.5003
"	2.786	1.533	2.210	2.177	0.6439	0.3412	0.3716	0.4522
"	2.907	1.098	1.785	1.930	0.5583	0.3191	0.4202	0.4325
"	2.843	1.400	1.982	2.085	0.5704	0.3914	0.4045	0.4554
"	2.985	1.758	2.178	2.307	0.6436	0.6579	0.6161	0.6392
Media	2.389	1.272	1.652		0.5725	0.3709	0.4056	

CUADRO 3

Número medio de nódulos totales y en los primeros 3 cm. de raíz (por jarra de Leonard) obtenidos en los tratamientos aplicados al experimento I.

Cepa de <i>Rhizobium</i>	No. de Nódulos totales				Número de Nódulos en los 3 1ros. Cms.			
	San Pedro Negro		Negro		San Pedro Negro		Negro	
	Ipala-72	Media	Jalpatagua	Media	Ipala-72	Media	Jalpatagua	Media
Testigo	166	171	146	171	25	43	56	42
ICTA 21	365	346	329	346	195	183	171	183
ICTA 22	240	261	268	261	155	223	145	174
ICTA 23	294	257	233	257	203	144	108	151
ICTA 24	375	340	333	340	289	256	216	254
ICTA 25	365	320	257	320	271	270	198	246
ICTA 26	302	302	318	302	187	241	204	211
Media	301	286	269	286	189	194	157	

CUADRO 4

Componentes de Varianza para los datos tomados en el experimento I.

Fuente de Variación	Grado de Libertad	grs. de M.S. de plantas		grs. de M.S. Nódulos		No. de Nódulos en los 1ros 3 cm.	
		Cuadro Medio		Cuadro Medio		Cuadro Medio	
Repeticiones	2	0.064	0.0319	0.141	0.333		
Inocular-tes	6	2.514 **	0.2311 **	2.292 **	3.331 **		
Error (A)	12	0.249	0.0317	0.786	0.199		
Variedades	2	6.776	0.2438	0.082	0.042		
Inoc. X Var.	12	0.166	0.0135	0.090	0.016		
Error (B)	28	0.166	0.5030	0.315	0.218		
Total	62						

** = Significativo al 1% de Probabilidad

CUADRO 5

Rendimiento medio de materias seca (gr. por jarra de Leonard)
de plantas de frijol y nodulos, en los
tratamientos del experimento 2.

Cepa de Rhizobium	MATERIA SECA DE PLANTAS			MATERIA SECA DE NODULOS				
	San Pedro		Negro	San Pedro		Negro		
	Ipala-72	Pinula-72	Jalpatagua	Ipala-72	Pinula-72	Jalpatagua		
Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media		
Testigo	0.527	1.262	0.957	0.915	0.0000	0.1517	0.3416	0.1644
ICTA 1	1.897	1.780	1.995	1.890	0.7431	0.5042	0.8261	0.6911
ICTA 2	2.290	2.067	2.377	2.244	0.5975	0.5259	0.5365	0.5532
ICTA 3	1.442	1.147	1.678	1.422	0.4319	0.2751	0.3893	0.3654
ICTA 4	0.677	0.785	0.757	0.739	0.1154	0.1958	0.1641	0.1584
ICTA 5	2.677	2.372	3.093	2.713	0.6194	0.5660	0.6699	0.6184
ICTA 6	2.777	1.768	2.107	2.217	0.8117	0.4646	0.6316	0.6359
ICTA 7	0.883	1.042	1.318	1.080	0.4509	0.2583	0.3651	0.3580
ICTA 8	2.937	2.378	2.977	2.763	0.5623	0.5767	0.6869	0.6086
Media	1.798	1.622	1.917	1.917	0.5415	0.4397	0.5763	0.5763

CUADRO 6

Número medio de nódulos totales y en los primeros 3 cms. de raíz
(por jarra de Leonard) obtenidos en los tratamientos
aplicados al experimento 2.

Cepa de <i>Rhizobium</i>	Número total de Nódulos			Números de Nódulos en los 1ros. 3 cms.						
	San Pedro		Negro	San Pedro		Negro		Media		Media
	Ipala-72	Pinula-72		Ipala-72	Pinula-72	Ipala-72	Pinula-72	Media		
Testigo	000	74	192	89	000	39	181	73		
ICTA 1	371	251	296	306	244	218	258	240		
ICTA 2	220	211	196	209	140	171	149	154		
ICTA 3	273	232	247	250	179	211	198	196		
ICTA 4	86	80	106	91	84	67	53	68		
ICTA 5	272	289	299	287	133	241	252	209		
ICTA 6	477	259	236	324	268	216	183	223		
ICTA 7	236	237	242	238	96	185	181	154		
ICTA 8	305	245	293	281	216	160	233	203		
Media	248	209	234		151	168		188		

CUADRO 7

Componentes de Varianza para los datos tomados en el experimento 2.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	grs. de M.S. de Plantas Cuadrado Medio	grs. M.S. de Nódulos Cuadrado Medio	No. total de Nódulos Cuadrado Medio	No. de Nódulos en los Iros. ecm. Cuadrado Medio
Repeticiones	2	0.357	0.0008	0.488	0.442
Inoculantes	8	5.295 **	0.3801 **	1.901 **	1.948 **
Error (A)	16	0.295	0.0287	0.169	0.255
Varietades	2	0.592	0.1075	0.440 *	0.458 *
Inoc. X Var.	16	0.226	0.0292	0.477 **	0.448 **
Error (B)	36	7.365	0.0476	0.132	0.107
Total	80				

* = Significativo al 50/o de Probabilidad.

** = Significativo al 10/o de Probabilidad.

CUADRO No. 8

Medias de tratamiento del experimento 1 ordenadas de acuerdo a su valor creciente.

Descripción del Dato Tratamiento	Gr. de M.S. de Plantas		Gr. de M.S. de Nódulos		No. Total de Nódulos		No. de Nódulos en 1 ros. 3 Cm. Raíz	
	Cepa	Media	Cepa	Media	Cepa	Media	Cepa	Media
Inoculantes	Testigo	0.762	Testigo	0.1237	Testigo	171	Testivo	42
	No. 22	1.569	No. 24	0.4325 **	No. 23	257 **	No. 23	151 **
	No. 21	1.570	No. 23	0.4522 **	No. 22	261 **	No. 22	174 **
	No. 24	1.930 **	No. 25	0.4554 **	No. 26	302 **	No. 21	183 **
	No. 25	2.085 **	No. 22	0.5003 **	No. 25	320 **	No. 26	211 **
	No. 23	2.177 **	No. 21	0.5444 **	No. 24	340 **	No. 25	246 **
No. 26	2.307 **	No. 26	0.1639 **	No. 21	346 **	No. 24	254 **	
Varietad de Frijol	S.P.P. 72	1.272	S.P.P. 72	0.3709	I. 72	301	S.P.P. 72	194
	N.J.	1.652	N.J.	0.4056	S.P.P. 72	286	I. 72	189
	I 72	2.389	I 72	0.5725	N.J.	269	N.J.	194

*= Medias estadísticamente iguales al 50/o de significancia
 ***= Medias estadísticamente iguales al 10/o de significancia
 S.P.P. 72 = San Pedro Pimela 72

CUADRO No. 9

Medias de tratamiento del Experimento 2 ordenadas de acuerdo
a su valor creciente.

Descripción del Dato Tratamiento	Gr. de M.S. de Plantas		Gr. de M.S. de Nódulos		No. Total de Nódulos		No. de Nódulos en Iros. 3 Cm. Raíz	
	Cepa	Media	Cepa	Media	Cepa	Media	Cepa	Media
Inoculantes	No. 4	0.739	No. 4	0.1584	Testigo	89	Testigo	73
	Testigo	0.915	Testigo	0.1644	No. 4	91	No. 4	68
	No. 7	1.080	No. 7	0.3580	No. 2	209 **	No. 7	154 **
	No. 3	1.422	No. 3	0.3654	No. 7	242 **	No. 2	154 **
	No. 1	1.890	No. 2	0.5532 **	No. 3	250 **	No. 3	196 **
	No. 6	2.217 **	No. 8	0.6086 **	No. 8	281 **	No. 8	203 **
	No. 2	2.244 **	No. 5	0.6184 **	No. 5	287 **	No. 5	209 **
	No. 5	2.713 **	No. 6	0.6359 **	No. 1	306 **	No. 6	223 **
No. 8	2.763 **	No. 1	0.6911 **	No. 6	324 **	No. 1	140 **	
Variedad de Frijol	S.P.P. 72	1.622	S.P.P. 72	0.4397	S.P.P. 72	209 *	I. 72	151
	I. 72	1.789	I. 72	0.5415	N.J.	234 *	S.P.P. 72	168 *
	N.J.	1.917	N.J.	0.5763	I. 72	248	N.J.	188 *

* = Medias estadísticamente iguales al 50/o de significancia.

** = Medias estadísticamente iguales al 10/o de significancia.

S.P.P. 72 = San Pedro Pinula 72

I. 72 = Ipala 72

N.J. = Negro Jalpatagua.

CUADRO No. 10

Comparación de medias de rendimiento del número total de nódulos y en los tres primeros Cm. de raíz (por jarra de Leonard) para la interacción inoculante por Var. en el experimento 2.

Cepa	Número total de Nódulos			Número de Nódulos en los 3 Iros. Cms.			Negro Jalpatagua				
	Ipala 72	San Pedro Pinula 72	Cepa Negro Jalpatagua	Ipala 72	San Pedro Pinula 72	Cepa Negro Jalpatagua					
Testigo	000 NS	Testigo NS	74	ICTA 4	106	Testigo NS	000	Testigo NS	39	ICTA 4 NS	53
ICTA 4	86 NS	ICTA 4 NS	80	Testigo 1992	1992	ICTA 4 NS	84	ICTA 4 NS	67	ICTA 2	149
ICTA 7	236	ICTA 3	232	ICTA 2	196	ICTA 7	96	ICTA 8	160	Testigo	181
ICTA 2	220	ICTA 2	211	ICTA 6	236	ICTA 5	133	CITA 2	171	ICTA 7	181
ICTA 5	272	ICTA 7	237	ICTA 7	242	ICTA 2	140	ICTA 7	185	ICTA 6	183
ICTA 3	273	ICTA 8	245	ICTA 3	247	ICTA 3	179	ICTA 3	211	ICTA 3	198
ICTA 8	305	ICTA 1	251	ICTA 8	293	ICTA 8	216	ICTA 6	216	ICTA 8	233
ICTA 1	371	ICTA 6	259	ICTA 1	296	ICTA 1	244	ICTA 1	218	ICTA 5	252
ICTA 6	477	ICTA 5	289	ICTA 5	299	ICTA 6	268	ICTA 5	241	ICTA 1	258

NS = Medias que no resultaron significativas al efectuar la prueba comparativa del error estandar de la diferencia.

4.2 DISCUSION DE RESULTADOS.

En los análisis efectuados a los experimentos se utilizarón los datos que de acuerdo a Vincent (22), Sandmann (21), Döbereiner, Arruda y Penteado (9), pueden reflejar los efectos de la fijación de nitrógeno por el Rhizobium en las plantas inoculadas con este.

Se inicia esta discusión de resultados partiendo del No. de nódulos en los primeros 3 Cms. de raíz.

Puede decirse que los resultados obtenidos aquí concuerdan en cierta forma con las observaciones de Burton, citadas por Döbereiner et al (9), ya que las plantas inoculadas con las diferentes cepas de Rhizobium en ambos experimentos no mostraron ser diferentes unas a otras, pues en el caso del experimento No. 2 que al analizarlo bajo este punto e vista hubo diferencias altamente significativas entre el testigo y la cepa ICTA No. 4, con respecto al resto de cepas, desde el inicio de desarrollo de la planta la cepa No. 4 se comportó como el testigo, y de lo cual hablaré mas adelante.

Burtón (7), señala que la posición de los nódulos es debida a un efecto de la técnica de inoculación y se corroboró, con las variedades empleadas en este estudio, pues observaciones apriori de la nodulación de estas en el suelo acusaron una amplia distribución en sus raíces como lo señala el investigador citado. Estas razones hacen pensar que la interpretación de eficiencia simbiótica no puede ser evaluada a travez de estos datos ya que la posición de los mismos se puede considerar influenciada por el tipo de inoculación empleada, que acumuló en grandes porcentajes los nódulos en esta pequeña región de la raíz en los experimentos efectuados.

Los análisis del número total nódulos en la raíz no muestran para nuestro caso diferencias de valor práctico en cuanto al efecto de inoculantes se refiere, pues estos valores no reflejan el tamaño o desarrollo de los mismos en la raíz. Este dato

está apoyado por las observaciones que hace Döbereiner, Arruda y Penteado (9), cuando dice que no existe una correlación entre el número de nódulos y la fijación de nitrógeno atmosférico. Si se presenta siempre el mismo caso que nos ocupa no es posible pensar en diferenciar con este criterio la mejor o mejores cepas fijadoras de nitrógeno para las variedades estudiadas.

Al observar los datos de materia seca de plantas y nódulos nos acercamos más a la realidad observada, pues a pesar que en el experimento 1 no existieron diferencias reales en el peso de materia seca de nódulos provocadas por la aplicación de los inoculantes estudiados, en el experimento 2 si se marcaron diferencias de un grupo de cepas con otro. En ambos casos el grupo de cepas de *Rhizobium* con diferencias altamente significativas y con las cifras más altas enmarcó al grupo de cepas que produjeron los rendimientos más altos de materia seca de plantas y que fueron ICTA No. 23, 24, 25, 26, 2, 5, 6 y 8.

La evaluación arriba citada para seleccionar las cepas con mayor capacidad de fijación de nitrógeno pueden apoyarse en la tesis de Döbereiner, Arruda y Penteado (9), que encontraron que existe una relación bastante constante entre la cantidad de tejido nodular y la cantidad de nitrógeno fijado.

Las diferencias entre variedades, detectadas en el experimento 2 cuando se analizó el número de nódulos totales y en los primeros 3 Cms. de raíz, presentan una interrogante, pues las mismas variedades no mostraron ser diferentes en el experimento 1, por lo cual creemos que será conveniente tener mas elementos de juicio para su discusión.

Utilizando las mismas variables en este experimento, también se pudo observar un efecto de interacción entre inoculante y variedad, lo que corrobora el efecto de selectividad entre hospedero y cepa de *Rhizobium* que menciona Erdman (12) y Döbereiner (15). Estos resultados fueron levemente detectados ya que todos los inoculantes, salvo el testigo y la cepa ICTA No. 4, fueron iguales estadísticamente, aunque para fines

prácticos pueden considerarse a las cepas con mas alto valor promedio como las mas eficientes para la infección de las raíces de las variedades empleadas. De tal manera la cepa ICTA No. 6 es la que mejor nodula a la variedad Ipala 72. La cepa ICTA No. 5 a la variedad San Pedro Pinula 72 y la cepa ICTA No. 1 y 5 a la variedad Negro Jalpatagua.

Los resultados mostrados a través de los análisis efectuados nos dan un rango bastante amplio para escoger entre las cepas estudiadas, la mejor para una determinada variedad. Aunque en base a los principios de selectividad (12, 15) y las conclusiones de Brakel (5), Burton, Allen y Berger (7), Döbereiner y Ruschel (11), Döbereiner, Arruda y Penteado (9) y principalmente tomando en consideración que los mejores rendimientos, en peso de materia seca de plantas bajo las condiciones de los experimentos realizados, pueden ser un indice de una buena fijación del nitrógeno atmosférico por el *Rhizobium*.

Se consideran como las mejores cepas las siguientes: Cepa ICTA No. 26 para la variedad Ipala 72 y Cepa ICTA No. 8 para la variedad Negro Jalpatagua y San Pedro Pinula 72, ya que estas mostraron promover una mayor cantidad de peso de materia seca total (ver cuadro No. 8 y 9).

En el apéndice se presentan varias fotografías y gráficas para que el lector pueda tener una comprensión más amplia sobre este estudio.

V CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en los experimentos discutidos permiten concluir que:

- 5.1 *La evaluación de las cepas de Rhizobium que lograron mejor desarrollo de las plantas cualquiera que fuese la variedad de frijol en los 2 experimentos son las siguientes: ICTA No. 24, 25, 23, 26, 6, 2, 5 y 8.*
- 5.2 *El peso total de materia seca de nódulos puede ser un índice de eficiencia simbiótica, ya que fueron en cierta forma coincidentes los datos obtenidos con el desarrollo y contenido de materia seca, observado en las plantas.*
- 5.3 *Para utilidad práctica pueden usarse las cepas ICTA No. 26 para la variedad Ipala 72 y la Cepa ICTA No. 8 para las variedades Negro Jalpatagua y San Pedro Pinula 72, pues fueron las que mejor rendimiento promedio de materia seca produjeron en las plantas al ser inoculadas.*
- 5.4 *La mejor manera de interpretar la eficiencia simbiótica entre la planta y el Rhizobium, utilizando el sistema de selección con Jarras de Leonard, fué: Analizando el peso de materia seca de plantas y nódulos.*
- 5.5 *El número de nódulos tan grande que se observó en la base de la raíz fué debido a la forma de inocular las plantas y a las condiciones de desarrollo de las mismas en las Jarras de Leonard.*
- 5.6 *Las cepas con mayor capacidad de infectar a las variedades con relación al número de nodulos por planta fueron:*
ICTA No. 6 para la variedad Iapala 72.
ICTA No. 5 para la variedad San Pedro Pinula 72.
ICTA No. 1 y 5 para la variedad Negro Jalpatagua.

La mayor capacidad de infectar, no necesariamente es indicador de una mayor fijación de nitrógeno atmosférico.

- 5.7 *La cepa ICTA No. 4 que marcó un comportamiento similar al testigo es de suponer que equivocadamente fué aislada y sub-cultivada como Rhizobium, por lo que no deberá ser usada en futuros trabajos.*
- 5.8 *Las diferencias observadas entre las variedades estudiadas en el experimento 2 necesitan ser corroboradas para ser discutidas.*
- 5.9 *La evaluación de los resultados permite inferir que en principio se logró el objetivo buscado, pero los inoculantes seleccionados deberán ser evaluados bajo condiciones naturales del cultivo, lo cual sería una aplicación de este trabajo que convendría realizar.*

VI BIBLIOGRAFIA

- 1) AGUILERA, M. ROLANDO G. *Notas manuscritas del curso de microbiología de suelos de CIAT. Cali Colombia, Centro Internacional de Agricultura Tropical. Junio de 1973 (Inedito).*
- 2) BARROS, S. RAGGIO, N. and RAGGIO, M. *Effecte and temperature on infection if isolated bean roots by Rhizobia. En: Plant Physiology. 38 (2) (p.p. 171-174): 1963.*
- 3) BATTYANY, C. *Evolución de la producción y de la inoculación de leguminosas en América Latina. Ed. por J Döberoiner, P.A. da Eira, A.A. Franco e A.B. Campelo, in "As leguminosas na agricultura tropical". Anais do seminario sobre metodología e planejamiento de pesquisa con leguminosas tropicais.. Brasil, Instituto de Pesquisa Agropecuária do Centro-Sul. Brasil, 25-31 Julho. 1970. 294. p.*
- 4) BHADURI, P.N. and SEN, RATNA. *Distribution pattern of nodules in Phaseolus species and Glycine max. En: Indian Journal of Genetics Plant Breeding. 28 (3) p.p. 287-296. Nov. 1968.*
- 5) BRAKEL, JACQUES. *La Fixation symbiotique de l'azote chez le haricot (Phaseolus vulgaris L.) Comparaison de l'activité fixatrice de diverses souches de Rhizobium. En: Bulletin des Recherches Agronomiques de Gembloux. Belgica. (n.s.) 1 (4). p.p. 525-533. 1966.*
- 6) BROCK, THOMAS D. *Biología de los microorganismos. Barcelona España. Edit Omega S.A., 1971. p.p. 410-411.*

- 7) BURTON, J.C. ALLEN, O.N. and BERGER, K.C. Response of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to inoculation with mixtures of effective and ineffective Rhizobia. In: Soil Science Society of America. Proceeding 18 (2): p.p. 156-159. 1954.
- 8) DATE, R.A. Microbiological problems in the inoculation and nodulation of legumes. En: Plant and Soil. Netherlands. Vol. 32: (p.p. 707-724): 1970.
- 9) DOBEREINER, J. BERGALLO de ARRUDA Y PENTEADO, F. Avaliacao da fixacao do nitrogenio, em leguminosas pela regressao do nitrogenio total das plantas sobre el peso dos nódulos. En: Pesquisa Agropecuaria Brasileira Vol. 1 (p.p. 233-237): 1966.
- 10) DOBEREINER, J. BERGALLO DE ARRUDA Y PENTEADO, F. Especificidades hospedeira, em variedades de soja, na simbiose com *Rhizobium*. En: Pesquisa Agropecuaria Brasileira. Vol 1. (p.p. 207-210): 1966.
- 11) DOBEREINER, J. y RUSCHEL, A.P. Fixacao simbiotica do nitrogenio atmosférico in feijao (*Phaseolus vulgaris*). I. Influencia do solo e da variedade. Rio Janeiro, Instituto de ecologia e experimentacao agricola. Comunicado tecnico No. 10. 1961. pp. 1-15.
- 12) ERDMAN, LEWIS. W. Inoculación de leguminosas con bacteria ¿En que consiste? ¿Cual es su función?.. Ed. por: Estados Unidos, Dpto. de Agricultura, División de investigaciones Agrícolas. Trad. por: México, Centro Regional de ayuda Tecnica A.I.D., 1972. Boletín del Agricultor No. 2003. p.p. 2-8.

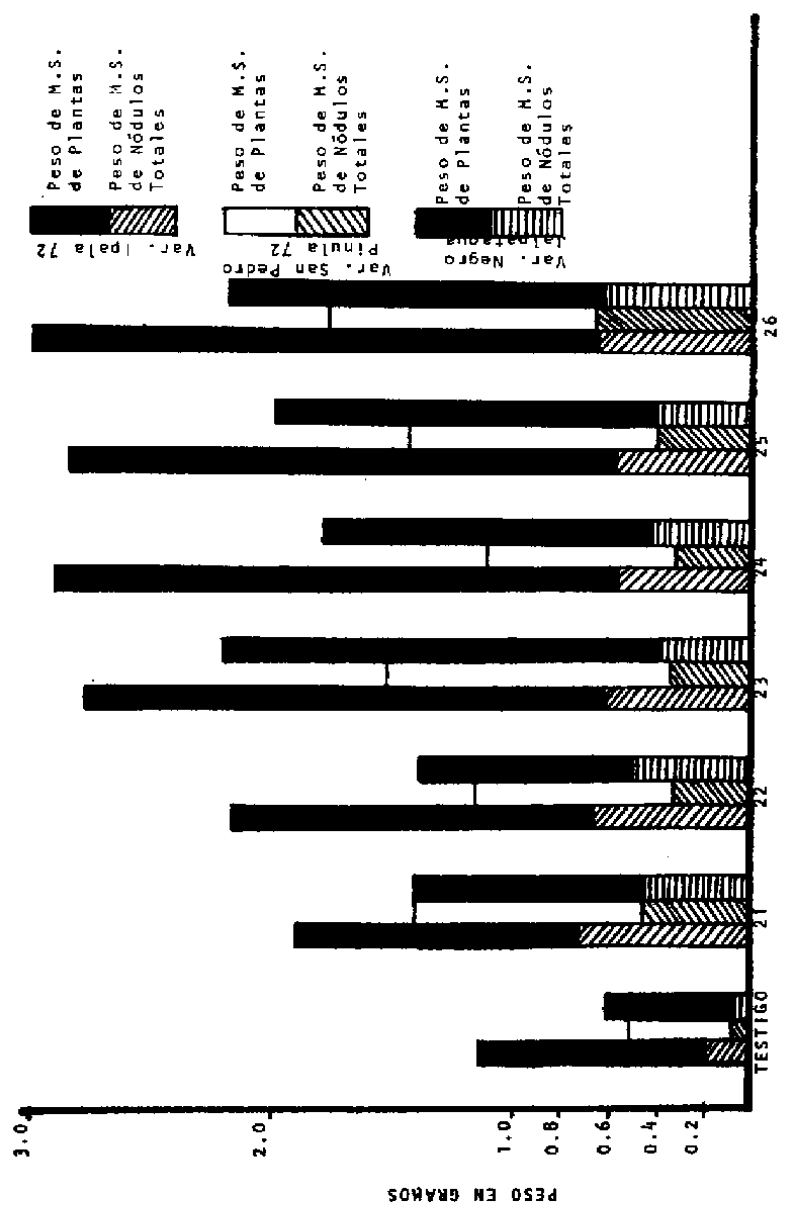
- 13) ESTRADA, LUIS ALBERTO. *La fertilización del frijol. Guatemala, Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas, Programa de Nutrición Vegetal. Septiembre de 1973. 4 p. (Material mimeografiado).*
- 14) FORTUNA, SILVEIRA. *Aspectos practicos da simbiose rizobio-leguminosa. Turrialba, Costa Rica, IICA/OEA: Centro de Enseñanza e Investigación. 1969 p.p. 2-19. (material mimeografiado).*
- 15) FRANCO, A.A. y DOBEREINER, J. *Especificidad de hospedeira na simbiose con Rhizobium feijao e influencia de diferentes nutrientes. En: Pesquisa Agropecuaria Brasileira. Vol. 2 (p.p. 467-474). 1967.*
- 16) MASAYA, SANCHEZ PORFIRIO. *Situación actual del frijol en Guatemala. En: Reunión técnica sobre programación de investigación y extensión en frijol y otras leguminosas de grano para América Central, Turrialba, Costa Rica. Vol. 1. 20-29 Mayo. 1969. 79 p.*
- 17) MOLINA, LETONA CESAR Y GARCIA, S. ARNOLDO. *Cuatro variedades de frijol negro para la zona baja y media de Guatemala. Guatemala, Ministerio de Agricultura, DIGESA, Proyecto de investigación en frijol. 1973. p.p. 2-6.*
- 18) PETERS, R.J. and ALEXANDER, M. *Effect of legume exudates on the root nodule bacteria. En: Soil Science. Vol. 102 (6): p.p. 380-387. 1966.*
- 19) RUSCHEL, PUPPIN ALAIDES. ALVAHYDO, ROBERTO Y PENTEADO, ALBERTO FIGUEIREDO. *Influencia do calcio, do magnesio e da acidez sobre o Rhizobium phaseoli en meio de cultura. Rfo Janeiro, Instituto de Ecología e Experimentacao Agrícolas. Comunicado Técnico No. 16 1962 p.p. 1-12.*

- 20) ROUGHLEY, R. J. and VINCENT, J. M. Growth and survival of *Rhizobium* spp. in peat culture. En: *Journal of applied bacteriology*. 3092: p.p. 364-365. 1967.
- 21) SANDMANN, W.P.L. The practical aspect of *Rhizobium* bacteriology at grasland reseach stación. Marandellas Rhodesia. *Grasland Reseach Stación*, 1970.
- 22) VINCENT, J.M. A manual for the practical study of root nodule bacteria. Great Britain. Edt. Burgess and Son Ltda. 1970.
- 23) WAKSMAN, SELMAN A. *Soil Microbiology*. New York, John Wiley y Sons ed. 1959. p.p. 208-215.

Vo. Bo. PALMIR R. de QUAN
BIBLIOTECARIA

VII APENDICE

GRAFICO No. 1
 Rendimiento de Materia Seca de Plantas y Módulos totales
 para el experimento I.



NUMERO DE CEPA DE ICTA

GRAFICO NO. 2
 Rendimiento de Materia Seca de Plantas y Módulos totales para el experimento 2.

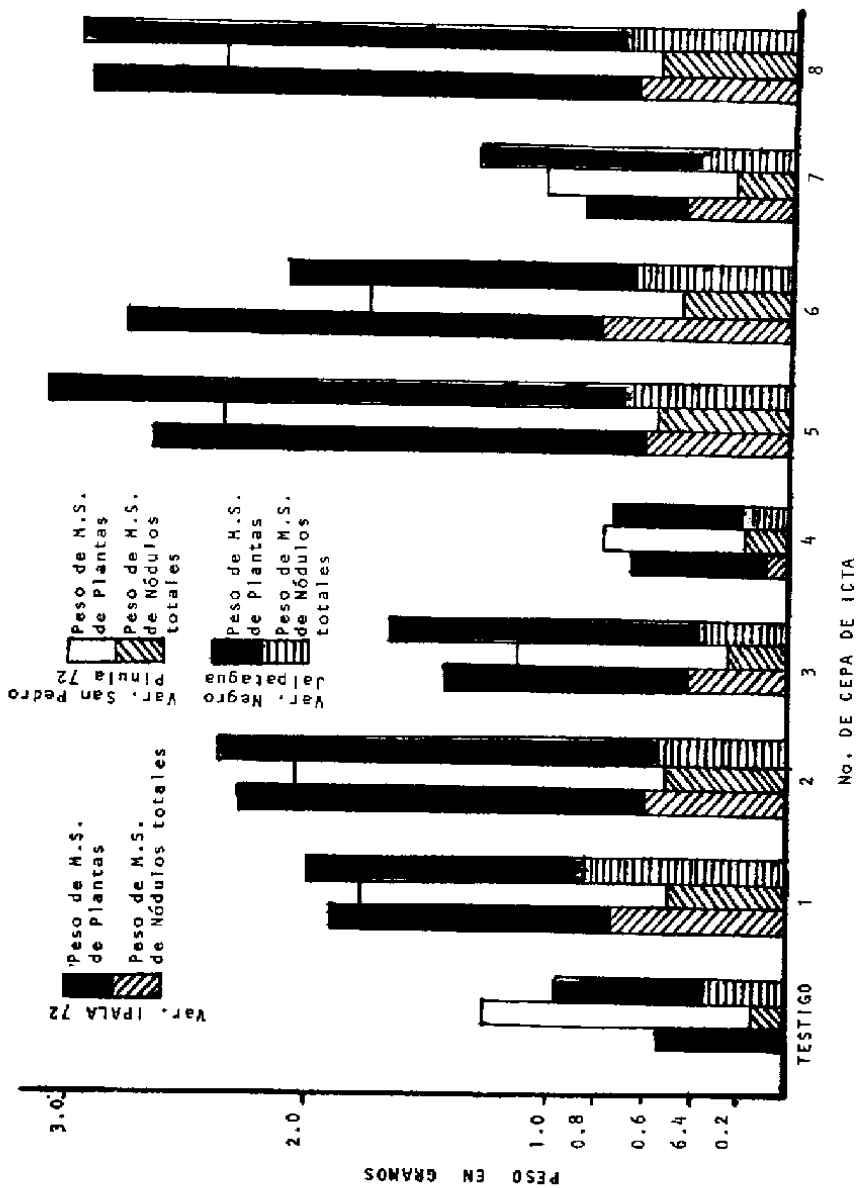
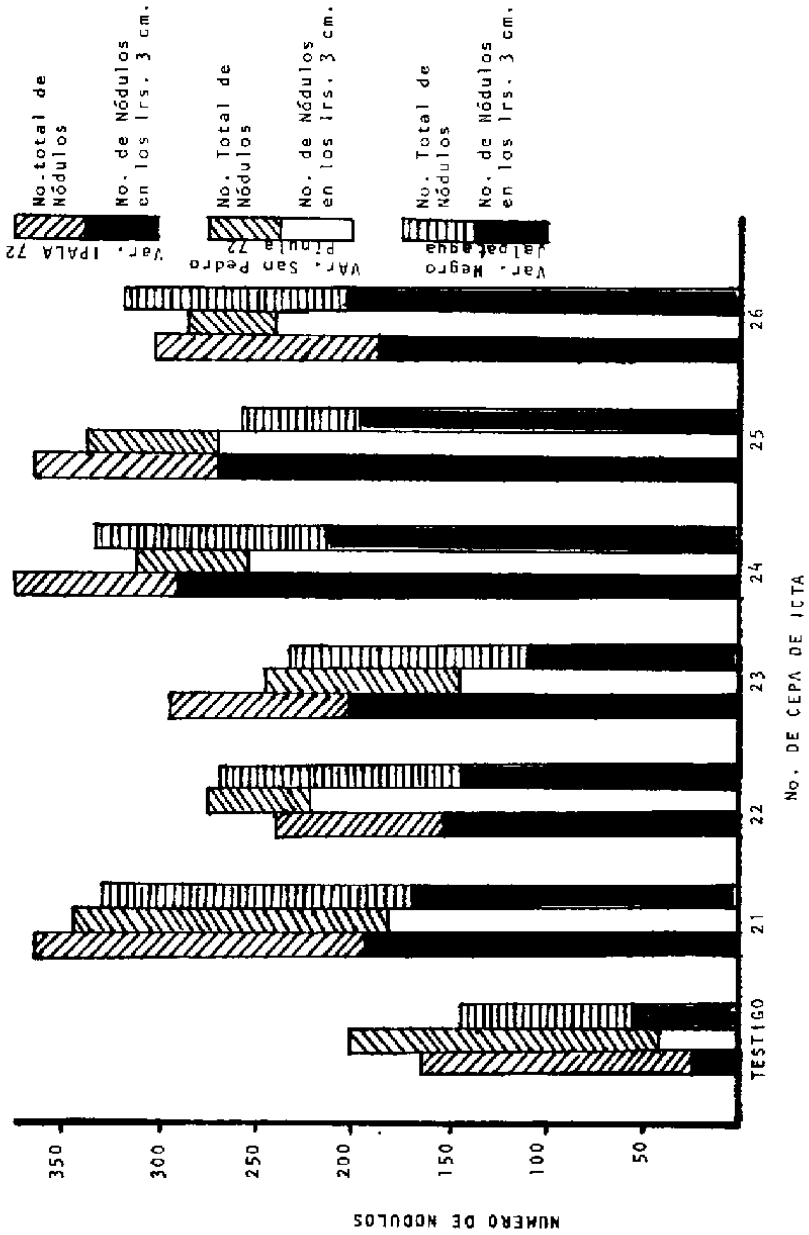
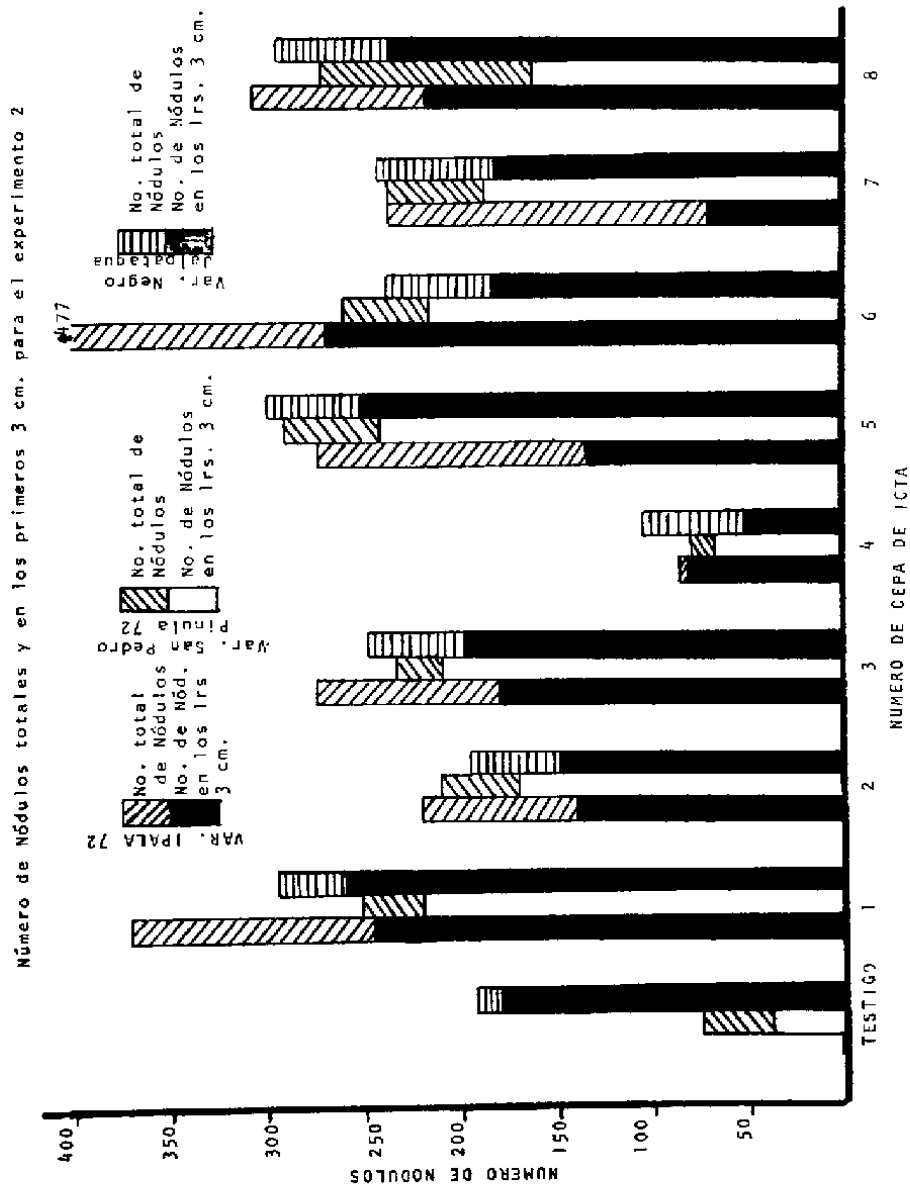


GRAFICO No. 3

Número de Módulos totales y en los primeros 3 cm. de raíz para el experimento 1.



GRAFICÓ No. 4



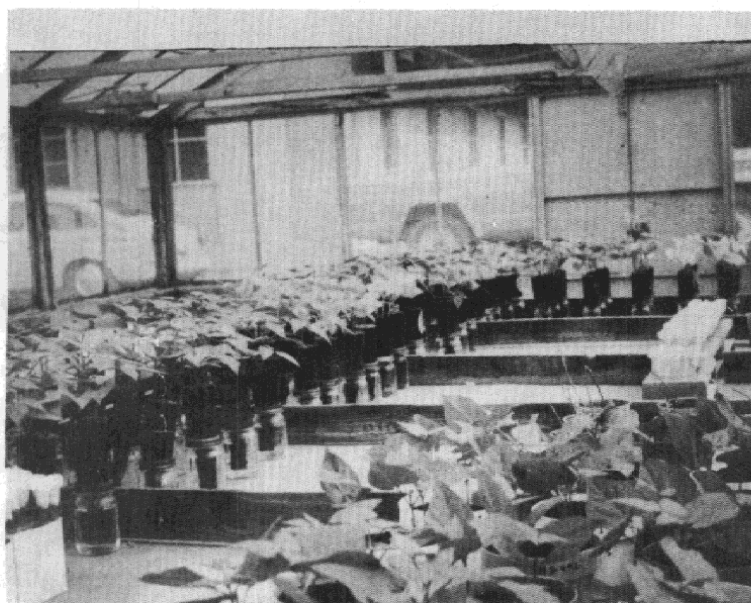


Foto 1
Panorama General de los experimentos en el invernadero.

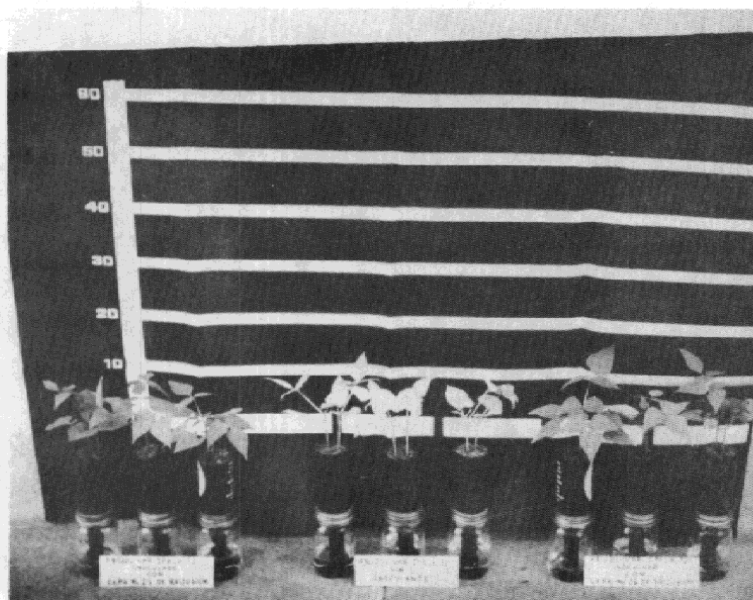


Foto 2
Comparación de plantas de frijol utilizando en su fase inicial el nitrógeno atmosférico fijado por las cepas ICTA 24 y 26 contra el testigo.

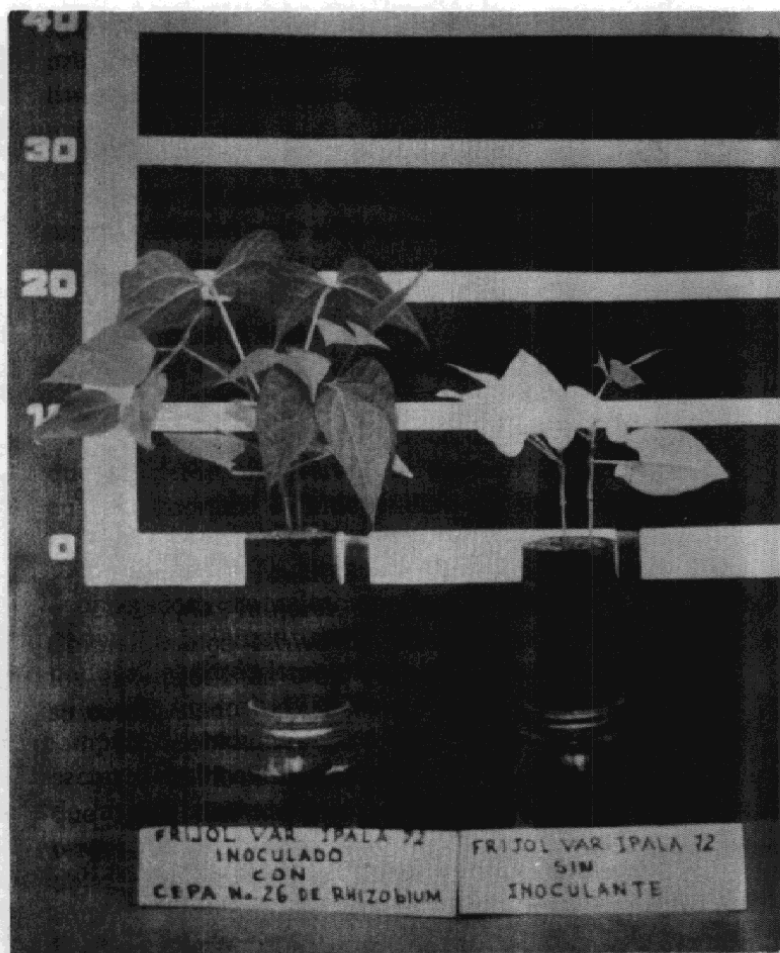


Foto 3
Comparación a los 39 días de siembra del efecto de la cepa ICTA 26 contra el testigo

IMPRIMASE:

Ing. Agr. Edgar L. Ibarra A.
Decano