

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA

ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE SIETE HERBICIDAS RECOMENDADOS PARA
LEGUMINOSAS, SOBRE LA VIABILIDAD Y FORMACION DE NODULOS POR LA
BACTERIA Rhizobium japonicum.

TESIS

Presentada a la Honorable Junta Directiva de la
FACULTAD DE AGRONOMIA
de la Universidad de San Carlos de Guatemala

Por

JAVIER VADILLO PORTABELLA

Al conferirsele el título de

INGENIERO AGRONOMO

En el grado académico de

LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

Guatemala, Enero de 1985

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

D.L.
01
T(226)

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

DR. EDUARDO MEYER MALDONADO

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO	ING. AGR. CESAR A. CASTAÑEDA S.
VOCAL 1o	ING. AGR. OSCAR R. LEIVA R.
VOCAL 2o	ING. AGR. GUSTAVO A. MENDEZ. G.
VOCAL 3o	ING. AGR. ROLANDO LARA A.
VOCAL 4o	P. A. LEOPOLDO JORDAN Z.
VOCAL 5o	PROFESOR LEONEL A. GOMEZ L.
SECRETARIO	ING. AGR. RODOLFO ALBIZUREZ P.

TRIBUNAL QUE PRACTICO EL EXAMEN GENERAL PRIVADO.

DECANO	DOCTOR ANTONIO SANDOVAL S.
EXAMINADOR	ING. AGR. MANUEL MARTINEZ
EXAMINADOR	ING. AGR. GUSTAVO MENDEZ
EXAMINADOR	ING. AGR. OSCAR LEIVA
SECRETARIO	ING. AGR. CARLOS R. FERNANDEZ



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia.....
Asunto.....
.....

28 de enero de 1985

Ingeniero Agrónomo
César Castañeda
Decano Fac. Agronomía

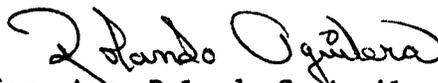
Señor Decano:

De manera atenta me dirijo a usted para hacer de su conocimiento que en esta fecha he finalizado la asesoría del trabajo de investigación de tesis del estudiante JAVIER VADILLO PORTABELLA con carnet No. 56240 quien efectuó el trabajo titulado "ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE SIETE HERBICIDAS RECOMENDADOS PARA LEGUMINOSAS, SOBRE LA VIABILIDAD Y FORMACION DE NODULOS POR LA BACTERIA Rhizobium japonicum!"

El presente trabajo considero que llena los requisitos científicos obligatorios y constituye además un aporte importante al paquete tecnológico nacional e internacional en el uso de inoculantes, por lo que sugiero su aprobación.

Sin otro particular me suscribo deferentemente de usted.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"


Ing. Agr. Rolando G. Aguilera M.
ASESOR

Guatemala,

Enero de 1985

HONORABLE JUNTA DIRECTIVA

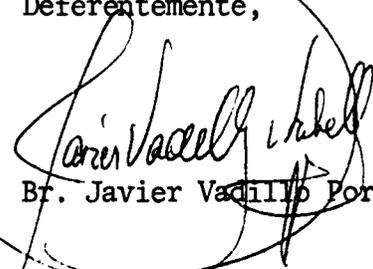
HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

De conformidad a lo que establece la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de tesis titulado:

ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE SIETE HERBICIDAS RECOMENDADOS
PARA LEGUMINOSAS, SOBRE LA VIABILIDAD Y FORMACION DE NODU
LOS POR LA BACTERIA Rhizobium japonicum.

Presentándola como requisito previo a optar al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado académico de Licenciado en Ciencias Agrícolas.

Deferentemente,



Bf. Javier Vacillo Portabella.

AGRADECIMIENTO

Deseo patentizar mi agradecimiento.

A mi Asesor Ingeniero Agrónomo Rolando Gustavo Aguilera Mejía,
por su interés, dedicación y guía durante el desarrollo de mi tesis.

Al Ingeniero Agrónomo Infieri, José Roberto Portabella Lou.

Al Licenciado en Química Erick Estuardo Juárez Vargas.

Al Presidente de la Asociación Nacional de la Soya, Sr. Julio Roberto
Ruiz Umaña.

Al Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial
(ICAITI).

A los departamentos de: Microbiología, Fitopatología, Química y Es-
tadística de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos
de Guatemala.

A las siguientes compañías: Agro Comercial, Agro Químicas de Guatema-
la, S. A., Cyanamid (Fertipest, S. A.), Hoechst, I.C.O. Panamericana
S. A., Transagroquímica de Centroamérica, S. A.

TESIS QUE DEDICO

A Dios: Por quien todo es posible.

A la memoria de mi madre: María Teresa Portabella Pous de Vadillo.

A mi padre: Mariano Vadillo Quinzaños.

A mi hermano: Lic. Mariano Vadillo Portabella

A todos mis familiares.

A la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

RESUMEN

El presente trabajo es una investigación que concierne a la sobrevivencia de las bacterias radicícolas (Rhizobium) presentes en plantas leguminosas, frente a la acción letal o mutagenicamente nociva de los biocidas (herbicidas), dando al final de la presente investigación una recomendación confiable, sobre cada uno de los distintos herbicidas empleados en el estudio y los cuales son recomendados para el cultivo de leguminosas.

Los objetivos que se plantearon fueron los siguientes:

1. Obtener información sobre el nivel de daño, inmunidad o beneficio en el proceso de nodulación de las bacterias Rhizobium, con respecto a la aplicación de los herbicidas recomendados para leguminosas.
2. Determinar el efecto que causan siete herbicidas recomendados para leguminosas, sobre la viabilidad del Rhizobium, creciendo en medio de cultivo puro.

El experimento se desarrolló en dos fases: en la fase de laboratorio, la supervivencia del Rhizobium se evaluó usando el método de diluciones y conteo en cajas de petri, con medio de cultivo tratado con los herbicidas: bentazon, dalapon, fluazifop-butyl, linuron, metaloclor, pendimethalin y trifluralina. En la fase de invernadero, se evaluó el efecto de los herbicidas anteriormente mencionados en plantas de soya Glycine max de la variedad Júpiter, inoculadas con la cepa CIAT. 51.

La investigación se efectuó en el laboratorio de Microbiología y en el invernadero de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

El diseño experimental utilizado en el laboratorio para evaluar la supervivencia del Rhizobium fué un irrestricto azar, que constó de 15 tratamientos con 6 repeticiones (3 repeticiones X 2 diluciones = 6), lo cual da un total -

de 90 unidades experimentales, tomándose como parámetro, el número de rizobios/cm³. de caldo nutritivo.

El análisis efectuado demostró que la supervivencia del Rhizobium japonicum, que no está en simbiosis, no se ve afectado estadísticamente por la presencia de herbicidas en relación al testigo, pero que existen tratamientos como pendimethalin y trifluralina que manifestaron un menor número de colonias.

En la fase de invernadero, el diseño experimental utilizado fué un irrestricto azar, que constó de 8 tratamientos con 5 repeticiones, lo que da un total de 40 unidades experimentales. Los parámetros utilizados en la evaluación fueron los siguientes:

- a. Peso de nódulos.
- b. Número total de nódulos.
- c. Número de nódulos grandes y medianos.
- d. Altura de plantas.
- e. Peso de materia seca de plantas.

El análisis estadístico y la interpretación de los cuadros de resultados, demostraron diferencias importantes en los distintos parámetros de medición, los que en resumen se pueden indicar de la siguiente manera: la simbiosis Rhizobium japonicum - Glycine max es afectada significativamente por el uso de herbicidas. Esto sucede cuando la comparación se efectúa contra testigo, siendo los herbicidas: fluazifop-butil, linuron y metaloclor los que presentaron comportamiento de alta confiabilidad.

CONTENIDO

	Pag.
RESUMEN	i
I INTRODUCCION	1
II JUSTIFICACION DEL PROBLEMA	2
III HIPOTESIS	4
IV OBJETIVOS	
A) FIJACION SIMBIOTICA DEL NITROGENO	5
B) LAS BACTERIAS Y SU PROCESO DE NODULACION.....	7
C) CONDICIONES DE CRECIMIENTO DE LOS RIZOBIOS	9
D) FACTORES QUE LIMITAN LA NODULACION	9
E) CARACTERISTICAS DE LA NODULACION	10
F) CARACTERISTICAS DEL <u>Rhizobium japonicum</u>	11
VI MATERIALES Y METODOS	
A) LOCALIZACION	12
B) PROCEDIMIENTO	12
C) MATERIAL EXPERIMENTAL	12
D) METODOLOGIA	14
VII RESULTADOS	22
A) DISCUSION DE RESULTADOS	28
VIII CONCLUSIONES	31
IX RECOMENDACIONES	32
X BIBLIOGRAFIA	33
XI APENDICE	34
A) FASE DE INVERNADERO.....	34
B) FASE DE LABORATORIO	42

I. INTRODUCCION

Sin duda alguna el mundo entero necesita más y más técnicos y científicos para trabajar en la fijación simbiótica de nitrógeno por Rhizobium-Leguminosa (7).

El presente trabajo es una investigación que concierne a la sobrevivencia de las bacterias radicícolas (Rhizobium), frente a la acción letal o mutagenicamente nociva de los biocidas (herbicidas). El estudio interesa a la fisiología vegetal, a la microbiología y a la agricultura, a la que estos microorganismos prestan grandes servicios en la fijación de nitrógeno atmosférico y síntesis de los productos nitrogenados que ceden a las plantas leguminosas y al suelo (5).

La deterioración del medio ambiente y el abastecimiento de alimentos no adecuados en muchas regiones de nuestro país, podrían ser atribuidos en gran parte al uso excesivo e inadecuado de herbicidas. Por otro lado, la falta de estudios e información sobre como producir mayor volúmen y calidad de productos agrícolas sin perjudicar a los distintos elementos que se encuentran en un ecosistema, es muy escasa, por lo que el presente estudio trata de dar un valioso aporte para conocer en forma concreta los distintos efectos que tienen los herbicidas en bacterias Rhizobium, que provocan la nodulación en plantas leguminosas.

Nuestro principal objetivo, es que al final de la presente investigación podamos hacer una recomendación confiable, sobre cada uno de los distintos herbicidas recomendados para el cultivo de leguminosas y de esta manera dar un pequeño aporte para mejorar la tecnificación de la agricultura en Guatemala.

La presente investigación, se evaluó en el Laboratorio de Microbiología y en el Invernadero de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

II. JUSTIFICACION DEL PROBLEMA

El cultivo de plantas leguminosas en Guatemala tiene gran importancia, no sólo para aliviar la escasez de alimento, especialmente en forma de proteína para consumo humano, sino también en cuanto a la alimentación ganadera que ocupa grandes extensiones de tierra en nuestro país. Muchos agricultores tratan de obtener una mayor producción por unidad de área cada año y a la vez aplican todos los insumos posibles, pero aún así, las producciones son escasamente altas por un tiempo; tendiendo cada vez más a incrementarse los costos de producción y los problemas fitosanitarios, lo cual conlleva al uso de mayor cantidad y diversidad de pesticidas.

Desgraciadamente hemos de confesar que el empirismo y la poca teoría todavía dirigen el desarrollo de nuevos herbicidas. Una composición química permite elucidar fácilmente la comprobación de la actividad y selectividad de los herbicidas -contrariamente, por ejemplo, la comprobación del efecto farmacológico. Que una composición sirve de herbicida, se comprueba fácilmente; en cambio, demostrar la eficacia del herbicida y en que estriba el mecanismo de su eventual selectividad, es un proceso altamente complicado y lento. La ciencia de herbicidas es aún muy joven y actualmente es más fácil descubrir un nuevo herbicida utilizable empíricamente que aclarar el mecanismo exacto de eficacia y selectividad de un herbicida con éxito en la práctica (1).

En la actualidad, en Guatemala se desconoce totalmente la información con respecto a la interacción existente entre los herbicidas y las bacterias radicícolas (Rhizobium); con lo que dichos productos pueden ser seleccionados incorrectamente al azar por los distintos agricultores, sin preveer futuros problemas.

En el mercado nacional, existe una extensa variedad de productos herbicidas para el cultivo de leguminosas, pero en ninguno de los mismos se hace referencia a los efectos nocivos o inmunes que tienen sobre dicha bacteria, por lo que el presente estudio adquiere importancia indiscutible.

III. HIPOTESIS

- A) Los herbicidas recomendados para el cultivo de leguminosas, causan la muerte del Rhizobium.
- B) Los herbicidas recomendados para el cultivo de leguminosas, disminuyen la viabilidad y el número de nódulos de Rhizobium en las plantas.

IV. OBJETIVOS

A) GENERALES

Analizar la simbiosis Rhizobium-leguminosa, como proceso natural, y su interacción con productos herbicidas en medios controlados.

B) ESPECIFICOS

- 1) Obtener información sobre el nivel de daño, inmunidad o beneficio en el proceso de nodulación de las bacterias Rhizobium, con respecto a la aplicación de los herbicidas recomendados para leguminosas.
- 2) Determinar el efecto que causan 7 herbicidas recomendados para leguminosas, sobre la viabilidad del Rhizobium, creciendo en medio de cultivo puro.

V. REVISION DE LITERATURA

A) FIJACION SIMBIOTICA DEL NITROGENO

El fenómeno de la fijación simbiótica del nitrógeno es característico de las leguminosas, y explica, en gran parte, la importancia de éstas en los sistemas de rotación de cultivos (3).

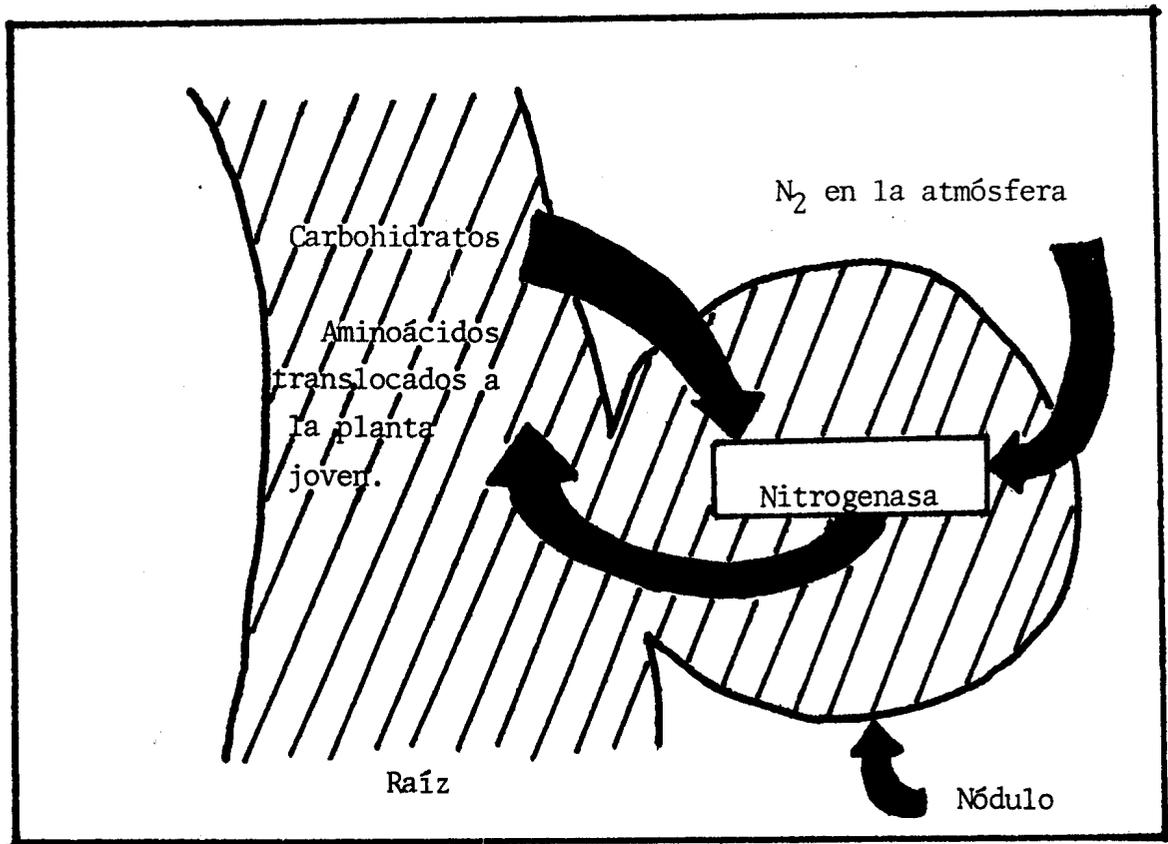
La fijación de nitrógeno es, básicamente, un proceso de "autofertilización" o sea, se logra que las plantas elaboren su propio fertilizante. Las raíces de las plantas leguminosas se "infectan" con bacterias que viven en el suelo (2). Estas bacterias radicícolas simbióticas de las leguminosas, o rizobios, nombre que toman por pertenecer al género Rhizobium, tienen un ciclo de vida; cuando viven libres en el suelo, son bacilos flagelados, móviles, saprófitos y no fijan nitrógeno. Luego cuando entran por los pelos absorbentes radicales hasta el parénquima central de la raíz de las plantas de la familia leguminosas provocan una intensa proliferación celular y la consiguiente formación de unas hipertrofias, globosas o alargadas, llamadas nódulos. A pesar de su distinta forma, todos poseen la misma estructura anatómica (ROTH SCHILD 1963) (5).

El nódulo funciona como un pequeño órgano. Cuando los rizobios se establecen como endófitos en el citoplasma de las células del nódulo, sufren por regla general las siguientes modificaciones: pierden los flagelos, se vuelven sedentarios, no se reproducen más, adquieren formas de clava o de letras V, X, e Y. Estas formas pleomórficas se denominan bacteroides (BRIGGS 1958, BALASSA 1958). Aquí empieza la etapa simbiótica entre la bacteria y la planta huésped (5).

Los bacteroides fijan nitrógeno molecular atmosférico del aire que

circula entre los terrones del suelo, y lo transforma bajo la forma de compuestos nitrogenados, a la planta, que crece mejor y aumenta su reserva en sustancias protéicas. A su vez los bacteroides reciben de la sabia elaborada de la planta hospedante (5) energía procedente de los carbohidratos que la planta elabora en el proceso de fotosíntesis. Parte de esa energía se utiliza en la transformación del nitrógeno atmosférico en forma de nitrógeno-orgánico que la planta puede utilizar (2).

Esquema No. 1 (2).



En el nódulo, las bacterias absorben N₂ atmosférico que llena los espacios que quedan entre las partículas del suelo. Por medio de una enzima especial (Nitrogenasa) que tienen las bacterias, el N₂ se convierte en amoníaco y este se combina con los carbohidratos producidos

por la fotosíntesis para formar aminoácidos. Estos constituyen las unidades que integran las proteínas vegetales (2).

Es importante señalar que ni la bacteria sola, ni la planta sola pueden fijar nitrógeno; es una acción sinérgica. El movimiento de las sustancias se lleva a cabo por los haces vasculares conductores del nódulo, que rodean la zona bacteriana central (5).

La intensa actividad metabólica de los bacteroides dura tanto como la vida útil del nódulo, que puede alcanzar varios meses. Con el tiempo; el nódulo entra en la etapa senescente, se desintegra, se desprende de la raíz y queda en la tierra, donde cede nitrógeno al suelo. Los bacteroides así liberados reinician su ciclo; se transforman en bacilos flagelados, saprófitos, listos para infectar nuevas plantas leguminosas. También en cultivo in vitro los bacteroides desaparecen y sólo crecen bacilos (5).

Entre los beneficios de la simbiosis se encuentran las siguientes: alimentación más fuerte para la humanidad, pasto más rico para el ganado, nitrógeno en el suelo, reducción del uso de abonos nitrogenados y mermar la cantidad de nitrógeno soluble en los cursos de agua internos (6).

B) LAS BACTERIAS Y SU PROCESO DE NODULACION

En forma esquemática, la nodulación en leguminosas se lleva a cabo de la siguiente manera (observar esquema número 2 página No. 8). (3):

- (1) Bacterias Rhizobium. Son pequeños bastoncitos que se mueven en el suelo por medio de flagelos periféricos. Viven libres en el suelo.
- (2) Las bacterias se dirigen hacia los pelos absorbentes de la raíz y se acumulan en un lugar del pelo; por atracción de las sustancias.

(3) Sólo cuando han brotado las primeras hojas verdaderas, en el proceso de la fotosíntesis, las hojas producen ciertas sustancias que llegan a la raíz de la planta.

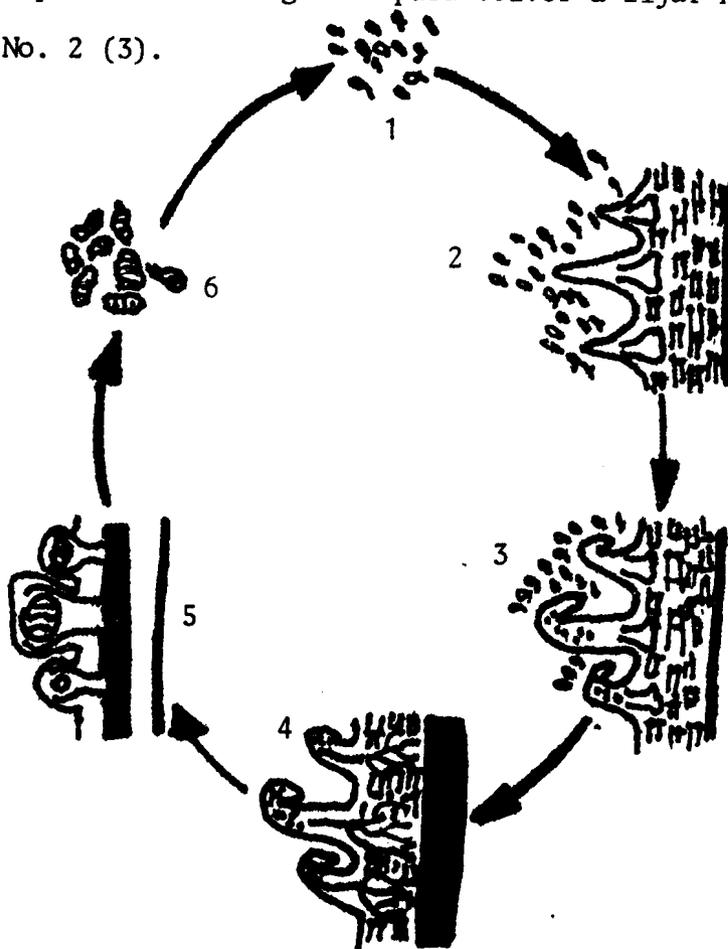
El pelo secreta auxinas que rizan los pelos. Las bacterias penetran en el punto donde el pelo se riza.

(4) Los pelos continúan rizándose. Una vez que las bacterias penetran en el pelo, empiezan a multiplicarse. Estas crean un hilo de infección que une las células xilemáticas de la raíz.

(5) Las células infectadas se dividen por estímulo de las bacterias para formar nodulaciones en la raíz.

(6) Cuando las células que rodean el nódulo envejecen, dejan salir las bacterias infectadas. Estas quedan libres en el suelo, sin movilidad, en espera de otra legumbre para volver a fijar nitrógeno.

Esquema No. 2 (3).



C) CONDICIONES DE CRECIMIENTO DE LOS RIZOBIOS

Las condiciones de crecimiento de los rizobios son (3):

- 1) Temperatura: los rizobios se desarrollan en forma óptima a temperaturas entre 29 y 30°C.
- 2) pH: las bacterias pueden reproducirse en suelos con un pH entre 4.5 y 9.6.
- 3) Fertilidad del suelo: entre más fértil sea el suelo, mayor número de rizobios. Sin embargo, si el suelo tiene altas concentraciones de nitrógeno, o una mayor que la del nitrógeno atmosférico, no se realiza la nodulación. El fósforo debe existir en cantidades adecuadas para que haya una buena concentración de bacterias. El calcio y el molibdeno son indispensables para que se realice la fijación de nitrógeno.
- 4) Oxígeno: los rizobios son organismos aerobios. No obstante, estos pueden sobrevivir en suelos con contenido de oxígeno inferior al de la atmósfera.

D) FACTORES QUE LIMITAN LA NODULACION

- 1) Químicos: según PAYNE y FULTS, 1947; en un estudio en el que trabajaron con herbicidas e insecticidas, tales como el 2,4D, DDT y Colorado 9, reportaron que el número de nódulos bacteriales de la raíz del frijol común era afectada de la siguiente manera: el compuesto 2,4D en pequeñas cantidades (2 a 16 ppm. de suelo) y DDT en concentraciones un poco mayores (127 ppm.) -

decrecieron la nodulación. El insecticida Colorado 9, a la misma concentración, no tuvo efecto decreciente en el número de nódulos (4).

En pruebas donde éstos químicos fueron aplicados en plantas de crecimiento rápido, hubo un pequeño cambio en el número de los nódulos, de cualquier forma cuando estos nódulos fueron seccionados, muchos de ellos manifestaronse suaves y delgados aunque la planta de donde se recolectaron parecía estar normal. Esto sugiere que pueden haber significantes cambios morfológicos y fisiológicos en la bacteria (4).

- 2) Climáticos: ciertas características del medio ambiente, como lo es la temperatura, limitan la fijación de nitrógeno y el rendimiento de las plantas. En América Central, Brasil, Colombia y Venezuela, existen muchas regiones en las cuales las temperaturas del suelo son demasiado altas para lograr una buena fijación de nitrógeno y un alto rendimiento de las plantas (2).

E) CARACTERISTICAS DE LA NODULACION

1) Nodulación

deficiente: los nódulos son pequeños, duros y esféricos. Son de color blanco. Se distribuyen a lo largo del sistema radicular. (3).

2) Nodulación

eficiente: los nódulos son grandes, carnosos y rosados en su interior. El número y la distribución de los nódulos

están relativamente restringidos. Se alojan principalmente en la proximidad del cuello de las primeras raíces secundarias (3).

F) CARACTERISTICAS DEL Rhizobium japonicum

Según J. M. Vincent (7) el Rhizobium japonicum posee las siguientes características:

- 1) Desarrollo en agar levadura-manitol de 25° a 28°C: poco desarrollo después de 5 días; leve a moderado crecimiento en 10 días, incoloro, blanco o rara vez rosado, leve formación de goma.
- 2) Desarrollo de nodulación: en cuanto a la planta Glycine max Merr (Soya), el Rhizobium japonicum siempre presenta nodulación.

VI. MATERIALES Y METODOS

A) LOCALIZACION

El estudio de la influencia de herbicidas recomendados para leguminosas, sobre la viabilidad y formación de nódulos por la bacteria Rhizobium japonicum, se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología y en el Invernadero de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, ubicado en la Ciudad Universitaria, zona 12, ciudad capital. Para tal efecto, la viabilidad se efectuó en el Laboratorio de Microbiología y el efecto sobre la nodulación se determinó en el Invernadero.

B) PROCEDIMIENTO

Primeramente se obtuvo información acerca de los herbicidas más utilizados en el cultivo de leguminosas, que se encuentran en vigencia en el mercado nacional y de fácil adquisición para los distintos agricultores del país. Se obtuvieron un total de siete herbicidas. Los criterios que se tomaron para la selección de los productos fueron: - aceptación del producto, viabilidad del ingrediente activo, frecuencia de uso y recomendación por parte del mismo.

C) MATERIAL EXPERIMENTAL

- 1) Rhizobium japonicum, cepa CIAT 51, proporcionada por el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) de Cali, Colombia.
- 2) Plantas de soya (Glycine max), de la variedad Júpiter, la cual posee buenas características para formar nódulos además de ser una planta de buen prospecto para Guatemala.
- 3) Herbicidas: bentazon (basagran), dalapon (basfapon), fluazifopbutil (fusilade), linuron (afalon), metaloclor (dual 960 EC), -

pendimethalin (prowl 500 E), trifluralina (herbiflur)

- a) Bentazon 50%. Herbicida foliar de contacto, selectivo a leguminosas, actúa sobre malezas de hoja ancha y cyperaceas.
 - b) Dalapon 85%. Herbicida sistémico para control de gramíneas.
 - c) Fluazifop-butil. Selectivo a plantas de hoja ancha. Sistémico, se puede aplicar en pre y post-emergencia ya que se absorve por el floema y xilema de las plantas.
 - d) Linuron. Lo absorven las malezas por la raíz y hojas e inhibe la reacción de Hill, es selectivo a leguminosas y en el suelo se degrada fácilmente por los microorganismos en suelos calcáreos y húmedos. Se puede aplicar en pre y post-emergencia.
 - e) Metaloclor. Pertenece al grupo de las acetanilidas, es selectivo a leguminosas, se aplica después de la siembra y tiene buen efecto sobre gramíneas y menor sobre hoja ancha. Su aplicación es al suelo, lo cual puede hacerse antes de la siembra y si hay poca humedad es necesario incorporarlo.
 - f) Pendimethalin. Actúa sobre el crecimiento celular, se aplica en pre-emergencia ya que se absorve por la raíz de las malezas, es selectivo a leguminosas actuando sobre gramíneas y malezas de hoja ancha.
 - g) Trifluralina. Herbicida selectivo a leguminosas, aplicado en pre-emergencia e incorporado al suelo, se degrada fácilmente en los suelos con alto contenido de materia orgánica.
- 4) Invernadero para cultivar plantas, equipos y reactivos de laboratorio necesarios para preparar y cultivar Rhizobium (7).

D) METODOLOGIA

La metodología de investigación del presente estudio, se llevó a cabo en 2 fases: una de laboratorio y otra de invernadero.

1) Fase de laboratorioa) Designación de tratamientos

Los tratamientos que se realizaron se expresan en el siguiente cuadro: (observar cuadro de tratamientos para laboratorio en página No. 15).

b) Diseño del experimento

El diseño experimental utilizado fué el irrestricto azar, con dos dosis de herbicida (5 y 10 ppm.) X 2 diluciones de bacteria X 3 repeticiones (o sea un total de 12 cajas de petri por cada herbicida a evaluar).

c) Modelo estadístico y análisis empleado

El modelo estadístico utilizado fué el siguiente:

$$Y_{ij} = U + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta de la ij-ésima unidad experimental.

U = Efecto de la media general.

T_i = Efecto del i-ésimo tratamiento.

E_{ij} = Efecto del error experimental asociado a la ij-ésima unidad experimental.

Y el análisis efectuado, fué para el tipo de diseño empleado (ver inciso anterior) aunque también se incluyó un análisis factorial para evaluar la dosis y la interacción de dosis X herbicida.

Cuadro de tratamientos de laboratorio

TRATAMIENTO	DOSIS DE I.A. EN PPM.	CANTIDAD DE P.C./CAJA ^o
BENTAZON I.A. = 480 Grs/Lt	5	0.00029 Cm ³ .
	10	0.00059 Cm ³ .
DALAPON I.A. = 85%	5	0.00015 Grs.
	10	0.0003 Grs.
FLUAZIFOP-BUTIL I.A. = 250 Grs/Lt	5	0.00057 Cm ³ .
	10	0.00112 Cm ³ .
LINURON I.A. = 52.8%	5	0.00027 Grs.
	10	0.00053 Grs.
METALOCOR I.A. = 960 Grs/Lt	5	0.00014 Cm ³ .
	10	0.00029 Cm ³ .
PENDIMETHALIN I.A. = 500 Grs/Lt	5	0.00028 Cm ³ .
	10	0.00057 Cm ³ .
TRIFLURALINA I.A. = 480 Grs/Lt	5	0.00029 Cm ³ .
	10	0.00059 Cm ³ .
TESTIGO	----	-----

I.A. = INGREDIENTE ACTIVO.

P.C. = PRODUCTO COMERCIAL.

CAJA^o = CAJA DE PETRI CONTENIENDO 25 Cm³. DE MEDIO.

d) Preparación de medios de cultivo para Rhizobium

Para la preparación del medio de cultivo se utilizó la fórmula que recomienda Vincent (7) la cual está constituida por lo siguiente:

K_2HPO_4	0.5 Grs/Lt.
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2 Grs/Lt.
NaCl.....	0.4 Grs/Lt.
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	0.01 Grs/Lt.
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.4 Grs/Lt.
Extracto de levadura.....	100.0 cm^3 /Lt.
Manitol	10.0 Grs/Lt.
Agar	20.0 Grs/Lt.

Después de mezclar los compuestos anteriores se llevó todo a pH 7.60 y se esterilizó en autoclave.

El medio anterior se utilizó en los casos que fué necesario cultivar la bacteria en cajas de petri o en tubos de ensayo, más cuando se cultivó la bacteria en caldo líquido no se utilizó agar en la fórmula anterior.

e) Cultivo del Rhizobium

La bacteria, inicialmente fué facilitada por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Agronomía y sólo fué necesario rejuvenecer el cultivo en medio sólido. Este fué el paso previo para preparar el cultivo que serviría para evaluar la sobrevivencia de la bacteria con los herbicidas.

Para cultivar el Rhizobium en caldo se procedió a sembrar cuatro erlenmeyers de 250 cm^3 . con aproximadamente 100 cm^3 . de

medio de cultivo líquido, los cuales se incubaron durante 6 días en agitación continua a 28°C.

f) Metodología para la evaluación de la supervivencia del *Rhizobium* en los herbicidas.

Previo a esta evaluación fué necesario tener listos:

- f.1) Erlenmeyers con 90 y 99 cm³. de agua estéril, que sirvieron para diluir las concentraciones de bacteria. El número de erlenmeyers, estuvo determinado en función del número de tratamientos y diluciones efectuados.
- f.2) Botellas con 250 cm³. de medio de cultivo para *Rhizobium* con agar (medio sólido) que se mantuvieron líquidos, previo a su utilización en un baño de María a 50°C.
- f.3) Pipetas estériles de 1 y 10 cm³.; así como también cajas de petri debidamente identificadas de acuerdo al tratamiento aplicado.

Con los erlenmeyers conteniendo agua estéril, se procedió a efectuar las diluciones del caldo de cultivo de bacteria, en una cámara de aislamiento. Las diluciones efectuadas fueron: 1×10^2 , 1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 y 1×10^6 .

Estas diluciones, se hicieron en cada traslado, utilizando pipetas estériles, de acuerdo al método expresado por Vincent (7) en su libro Manuel Práctico de Rhizobiología. A continuación las botellas con 250 cm³. de medio de cultivo se les adicionaron los distintos herbicidas a evaluarse, en las dosis respectivas a cada tratamiento (ver cuadro de tratamientos de laboratorio pag. 15).

El paso siguiente fué, colocar en las cajas de petri estériles y acuerdo a la dilución anotada en las mismas, 1 cm^3 de suspensión de bacteria (las diluciones empleadas fueron 1×10^5 y 1×10^6) antes de colocar en cada caja, el medio de cultivo con su respectivo tratamiento herbicida.

Antes de que el medio de cultivo se solidificara en las cajas, se agitaron en formas circular y lineal, con el objeto de distribuir las bacterias. El paso siguiente fue incubar las cajas inoculadas y tratadas a 28°C durante 5 días y después contar colonias.

2) Fase de invernadero

a) Localización del experimento

Esta fase se realizó en el invernadero de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos.

b) Tratamientos estudiados

Los tratamientos estudiados en el invernadero fueron los siguientes: (ver cuadro de tratamientos para invernadero en pag. 19).

c) Diseño experimental

El diseño realizado, fue de irrestricto azar y constó de 8 tratamientos con cinco repeticiones cada uno, lo cual dá un total de 40 unidades experimentales.

d) Modelo estadístico y análisis del experimento

El modelo estadístico utilizado fué el mismo que para la fase de laboratorio (ver pag. 14) y el análisis que se efectuó de acuerdo al diseño empleado (ver inciso anterior)

Cuadro de tratamientos de invernadero

TRATAMIENTO	EPOCA DE APLICACION	DOSIS RECOMENDADA P.C.	DOSIS EXPERIMENTAL P.C./AREA ^o
BENTAZON	POST-EMER. ¹	2.00-3.00 Lts/Mz.	0.0112 Cm ³ .
DALAPON	POST-EMER. ¹	5.50 Kgs/Ha.	0.0173 Grs.
FLUAZIFOP-BUTIL	POST-EMER.	1.00 Lt./Mz.	0.0045 Cm ³ .
LINURON	PRE-EMER. ²	1.00-2.50 Kgs/Ha.	0.0055 Grs.
METALOCOR	PRE-EMER. ²	1.75-2.75 Lts/Ha.	0.0071 Cm ³ .
PENDIMETHALIN	PRE-PSI. ³	1.50 Lts/Mz.	0.0067 Cm ³ .
TRIFLURALINA	PRE-PSI. ³	1.80 Lts/Mz.	0.0081 Cm ³ .
TESTIGO	-----	-----	-----

P.C. = PRODUCTO COMERCIAL

AREA^o = AREA DE MACETA = 0.0314 Mts².

1. POST-EMER. = POST-EMERGENTE.
2. PRE-EMER = PRE-EMERGENTE INCORPORADO AL SUELO (DESPUES DE LA SIEMBRA).
3. PRE-PSI. = PRE-EMERGENTE, PRESIEMBRA INCORPORADO AL SUELO (ANTES DE SIEMBRA).

e) Preparación de materiales del experimento

Para montar el trabajo fué necesario efectuar lo siguiente:

- e.1) Preparar una mezcla de suelo y arena en relación 3:1 - respectivamente, mezclarla y homogenizarla.
 - e.2) Analizar el contenido de N, P, K, Ca y Mg para determinar los requerimientos para las plantas de soya y adicionar a excepción de N₂ lo necesario. El resultado de estos análisis demostró la necesidad de incorporar 0.1884 grs. de P. (obtenido del fertilizante triple su perfosfato) y 0.1884 grs. de K. (obtenido del fertilizante muriato de potasio).
 - e.3) Preparar macetas de 3.7 litros (1 galón) con la mezcla de suelo y arena debidamente identificada con su tratamiento y repetición.
 - e.4) Desinfectar las semillas de soya utilizando para el efecto el siguiente método: en una solución de bicloruro de mercurio al 0.1% acidificado con HCl grado reactivo, se colocaron semillas por 1 minuto, luego se hicieron cinco lavados a la semilla con agua estéril y después se procedió a inocular la semilla con la cepa Rhizobium japonicum CIAT 51 (para el inóculo se partió de cultivos puros de bacteria sembrados en tubos de ensayo.
- Con todos los materiales descritos en el orden anterior se procedió a sembrar 10 semillas por maceta previendo un nivel bajo de viabilidad de las mismas. Luego de su germinación se dejaron únicamente 2 plantas por maceta.

- f) Datos que se tomaron
- f.1) Peso de nódulos.
 - f.2) Número total de nódulos.
 - f.3) Número de nódulos grandes y medianos.
 - f.4) Altura de plantas.
 - f.5) Peso de materia seca de plantas.

g) Manejo del experimento

Un día antes de efectuar la siembra se aplicaron los tratamientos pre-psi. conforme a la descripción del producto, - después se procedió a sembrar la semilla inoculada la cual - presentó un 50% de germinación. Un día después de la siembra, se efectuaron los tratamientos pre-emergentes y a los diez - días se procedió a efectuar un raleo en todas las macetas a fin de dejar solamente 2 plantas por maceta. Los tratamientos post-emergentes se efectuaron cuando las plantas tenían 2 hojas compuestas.

No se aplicó ningún químico tal como fungicidas o insecticidas para evitar la distorsión de resultados a la hora de interpretación de los mismos, sobre el efecto de los distintos herbicidas sobre el Rhizobium.

A los 70 días de la siembra, cuando el 80% de las plantas estaban floreadas, se cortaron a nivel de la base del tallo, esta parte de la planta fué colocada en bolsas de papel previamente identificadas con el número de tratamientos y repetición al cual pertenecían, después se procedió a lavar la raíz cuidadosamente y se colocó en una bolsa de plástico previamente identificada. En el laboratorio se tomaron los datos mencionados anteriormente.

VII. RESULTADOS

Los resultados presentados en los siguientes cuadros son el resumen de los datos obtenidos en el estudio y servirán de base para la discusión de los mismos.

Cuadro No. 1: Resultados sintéticos de significancia de las variables analizadas en invernadero y laboratorio, para conocer el efecto de los herbicidas sobre el Rhizobium. (observar cuadro en pag. No. 23).

Cuadro No. 2: Comparación de promedios de las variables estadísticamente significativas para los datos de plantas en invernadero, y efecto en porcentaje de la disminución o aumentos con relación al testigo. (observar cuadros: 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5)

Cuadro No. 2.1: Peso de nódulos.

Cuadro No. 2.2: Número total de nódulos.

Cuadro No. 2.3: Número de nódulos grandes y medianos.

Cuadro No. 2.4: Altura de plantas (cms.).

Cuadro No. 2.5: Peso seco de planta (grs.).

Cuadro No. 3: Efecto de las dosis de herbicidas sobre el número de Rhizobios/cm³. de caldo nutritivo (multiplicado X 10⁵). (observar cuadro No. 3 en pag. No. 27).

Quadro No. 1

FUENTES DE VARIACION	VARIABLES ANALIZADAS PARA INVERNADERO					VARIABLES ANALIZADAS PARA LABORATORIO
	PESO DE NODULOS	No. TOTAL DE NODULOS	No. NODULOS GRANDES Y MEDIANOS	ALTURA PLANTAS	PESO MATERIA SECA DE PLANTAS	No. DE COLONIAS DE Rhizobium / CAJA
HERBICIDAS	**	**	**	**	**	**
DOSIS (B)						N.S.
INTERACCION (AXB)						N.S.

** = ALTAMENTE SIGNIFICATIVO AL 1%

N.S. = NO SIGNIFICATIVO

Cuadro No. 2.1

PESO DE NODULOS				
TRATAMIENTO	\bar{X}	DIF.	% AUMENTO	% DISMINUCION
FLUAZIFOP-BUTIL	1.7212	A	96.30	
LINURON	1.4549	AB	65.94	
METALOCOR	1.2378	ABC	41.17	
TESTIGO	0.8768	BCD		
PENDIMETHALIN	0.7843	CD		10.55
BENTAZON	0.4929	DE		43.79
DALAPON	0.5218	E		94.55
TRIFLURALINA	0.0196	E		97.77

Cuadro No. 2.2

NUMERO TOTAL DE NODULOS				
TRATAMIENTO	\bar{X}	DIF.	% AUMENTO	% DISMINUCION
TESTIGO	80.40	A		
FLUAZIFOP-BUTIL	69.40	AB		13.68
BENTAZON	63.60	AB		20.90
LINURON	62.40	AB		22.39
METALOCOR	50.60	BC		37.06
DALAPON	35.20	C		56.22
PENDIMETHALIN	28.40	C		65.67
TRIFLURALINA	3.00	D		96.27

Cuadro No. 2.3

NUMERO DE NODULOS GRANDES Y MEDIANOS				
TRATAMIENTO	\bar{X}	DIF.	% AUMENTO	% DISMINUCION
FLUAZIFOP-BUTIL	55.60	A	63.53	
LINURON	45.40	A	33.53	
TESTIGO	34.00	AB		
METALOCLOR	33.20	AB		2.35
PENDIMETHALIN	16.60	BC		51.18
BENTAZON	12.40	BC		63.53
TRIFLURALINA	0.80	C		97.65
DALAPON	—	C		100.00

Cuadro No. 2.4

ALTURA DE PLANTAS (CMS.)				
TRATAMIENTO	\bar{X}	DIF.	% AUMENTO	% DISMINUCION
BENTAZON	50.11	A	12.00	
METALOCLOR	49.43	A	10.48	
LINURON	46.60	A	4.16	
TESTIGO	44.74	AB		
FLUAZIFOP-BUTIL	44.34	AB		0.89
PENDIMETHALIN	43.96	AB		1.74
TRIFLURALINA	34.65	B		22.55
DALAPON	19.34	C		56.77

Cuadro No. 2.5

PESO SECO DE PLANTA (GRS.)				
TRATAMIENTO	\bar{X}	DIF.	% AUMENTO	% DISMINUCION
LINURON	7.94	A	6.72	
METALOCLOLOR	7.54	A	1.34	
TESTIGO	7.44	A		
PENDIMETHALIN	7.38	A		0.81
FLUAZIFOP-BUTIL	7.36	A		1.08
BENTAZON	4.52	B		39.25
TRIFLURALINA	3.96	B		46.77
DALAPON	1.30	C		82.53

Cuadro No. 3

HERBICIDA	DOSIS	\bar{X}	DIF.	% AUMENTO CON RELACION AL TESTIGO	% DISMINUCION CON RELACION AL TESTIGO
DALAPON	0	99	A	175.00	
DALAPON	1	97	A	169.44	
LINURON	1	92	A	155.56	
LINURON	0	90	A	150.00	
METALOCOR	0	85	A	136.11	
FLUAZIFOP-BUTIL	0	72	AB	100.00	
BENTAZON	0	64	ABC	77.78	
METALOCOR	1	59	ABC	63.89	
FLUAZIFOP-BUTIL	1	58	ABCD	61.11	
BENTAZON	1	57	ABCD	58.33	
TRIFLURALINA	1	57	ABCD	58.33	
TESTIGO	—	36	BCD		
PENDIMETHALIN	0	35	BCD		2.78
TRIFLURALINA	0	28	CD		22.22
PENDIMETHALIN	1	16	D		55.56

DOSIS (0) = 5 PPM

DOSIS (1) = 10 PPM

36×10^5 = 100% DE LA POBLACION

A) DISCUSION DE RESULTADOS

Se inicia esta discusión con un análisis individual y luego general de las variables consideradas, que en su orden son: peso de nódulos, número de nódulos, número de nódulos grandes y medianos, altura y peso seco de plantas y por último, número de bacterias/cm³. de caldo nutritivo tratado con herbicida.

Las primeras cinco variables pertenecen a observaciones de plantas en invernadero y la última corresponde al efecto del herbicida sobre las bacterias creciendo en medio de cultivo tratado con herbicida. Antes de proceder a este análisis, es necesario formarse una imagen amplia del efecto de los herbicidas sobre el Rhizobium. Para ello el cuadro sintético No. 1, muestra rápidamente, en qué variables hubo un efecto significativo y en cuales la aplicación de herbicidas no tuvo significancia. Esta observación permite seguir un orden de discusión organizado y sencillo, así como también, evita la presentación de cuadros innecesarios.

1) EFECTO DE LOS HERBICIDAS SOBRE NODULOS

Como se observa en el cuadro No. 1 las variables: peso de nódulos, número total de nódulos y número de nódulos grandes y medianos mostraron resultados altamente significativos. El análisis individual de cada una de ellas manifestó que tratamientos tales como: fluazifop-butil, linuron y metaloclor no causaron daño a la nodulación ya que por el contrario su peso fue superior al testigo.

El número total de nódulos observado en el cuadro No. 2.2 es una variable de poca confiabilidad bajo el punto de vista objetivo, pero a pesar de ello, en el experimento realizado fue coincidente que tanto

en este parámetro como en el peso de nódulos (cuadro No. 2.1) fluazifop-butil y linuron manifestaron un comportamiento similar. Estos dos herbicidas se comportaron estadísticamente a la par del testigo, eso si, sin ningún porcentaje de aumento sobre el mismo. El bentazon manifestó también un alto número de nódulos pero su mayoría fue de pequeño tamaño (ver cuadro No. 2.3) e indudablemente de poco peso (ver cuadro No. 2.1), la razón prevaleciente de esto se puede juzgar por el mayor desarrollo en altura de la planta (cuadro No. 2.4) y el poco peso de la misma (cuadro No. 2.5), ésta última observación implica una alteración fisiológica en el metabolismo de la planta, causado por el herbicida y en consecuencia un efecto que repercutió en el tamaño de los nódulos no así en el número.

El tercer parámetro analizado o sea, el número de nódulos grandes y medianos guarda una relación estrecha con el parámetro "peso de nódulos" (ver cuadro 2.3 y 2.1 respectivamente) ya que los mismos herbicidas que fueron superiores acá; manifestaron poseer un afecto positivo sobre el crecimiento de los mismos. Es decir fluazifop-butil y linuron presentaron porcentajes más altos de nódulos grandes que el testigo. Metaloclor no fue superior al testigo pero fue estadísticamente igual.

2) EFECTO DE LOS HERBICIDAS EN LA PARTE FOLIAR

Como podemos observar en el cuadro No. 1, las variables para la parte foliar: altura y peso seco de plantas, obtuvieron la categoría de altamente significativos.

Ambas variables no pueden discutirse aisladamente ya que están íntimamente relacionadas. Los cuadros No. 2.4 y 2.5 muestran claramente que a excepción de la trifluralina, el dalapon y bentazon todos los herbicidas manifestaron un comportamiento estadísticamente igual. Vale la pena indicar que en el cuadro No. 2.4 el bentazon aparece como igual al tes-

tigo en lo relativo a su altura, pero no así en peso, esto ya se discutió anteriormente, cuando se indicó que dicho producto parece haber causado un efecto fisiológico que provocó un crecimiento delgado del tallo y una planta con poco peso incidiendo como también ya se indicó sobre el peso de nódulos.

3) EFECTO DE LAS DOSIS DE HERBICIDAS SOBRE EL NUMERO DE BACTERIAS/CM³.
DEL CALDO NUTRITIVO TRATADO.

De por sí el análisis estadístico sólo marcó diferencias estadísticas entre herbicidas, más no así entre las dosis aplicadas (ver cuadro 1), ahora bien el análisis del cuadro 3 aparentemente muestra que en relación al testigo no existen diferencias estadísticas de que los herbicidas tengan un efecto letal sobre la bacteria, ya que si se usa como comparador el testigo veremos que para arriba y abajo de la posición del mismo las diferencias no se marcan.

Debe discutirse de nuevo el hecho positivo que aparentemente tienen los herbicidas evaluados, sobre la bacteria y la planta, ya que por ejemplo resaltan algunos herbicidas como el linuron, fluazifop-butil y metolclor, principalmente en su dosis más baja, con altos porcentajes de sobrevivencia que inclusive, superan al mismo testigo.

Aparte de esto aparece dalapon como el excitante mayor en el número de bacterias en cultivo, lo cual es independiente del efecto observado en plantas. El efecto sobre el número de nódulos, tamaño y peso de los mismos, sobre la soya se debió a que dalapon causó toxicidad y provoca la disminución de peso de las plantas, las cuales al ser alterada su fisiología repercutieron indiscutiblemente sobre los demás parámetros.

VII. CONCLUSIONES

- A) Todas las variables analizadas mostraron diferencias altamente significativas por efecto del herbicida aplicado más no por la dosis.
- B) El uso de los herbicidas fluazifop-butil, linuron y metaloclor presentan un comportamiento de alta confiabilidad en la asociación Rhizobium-leguminosa ya que no causa daño a la planta y a la nodulación.
- C) El bentazon no disminuye el número de nódulos en la asociación Rhizobium-leguminosa pero causa daño a la fisiología de la planta y en consecuencia al desarrollo de los nódulos.
- D) La viabilidad de la bacteria en medio nutritivo no se ve afectada estadísticamente por los herbicidas en relación al testigo, pero existen tratamientos como: pendimethalin y trifluralina que manifiestan menor número de colonias, estos mismos herbicidas estuvieron en las otras variables analizadas en la planta abajo del testigo.

IX RECOMENDACIONES

- A) Evaluar los tratamientos de presente estudio en condiciones de campo, para corroborar los resultados obtenidos a nivel de invernadero.
- B) Realizar trabajos similares al presente, empleando otras leguminosas que tengan importancia económica y alimenticia para el país.
- C) Evaluar el efecto que puedan tener otros herbicidas en el desarrollo de la simbiosis Rhizobium-leguminosa.

X. BIBLIOGRAFIA

1. DUBACH, P. Efectos y principios de selectividad de los herbicidas. Basilea, Suiza, CIBA-GEIGY, s.f. s.p.
2. LA FIJACION del nitrógeno en el frijol, la planta elabora su propio fertilizante. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Serie AS-6 1,978 s.p.
3. FRIJOL y chícharo; producción vegetal. México, Trillas, 1,982 58p.
4. FULTS, J. L. and Payne, M. G. Some effects of 2,4-D DDT, and Colorado 9 on the bacteria *Rhizobium Leguminosarum* Frank in the root nodules of the common bean. *American Journal of Botany* 33(5): 245-248 1,947
5. I. DE ROTHSCHILD, D. Larga sobrevivencia de bacterias radicícolas en nódulos preservados en líquidos antimicrobianos y posible nuevo método intranodular de preservación. Trabajo comunicado a las XV Jornadas Argentinas de Botánica y IX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. Buenos Aires, Argentina s.d.e. pp.1-11
6. RHIZOBIUM MIRCEN informativo No. 1, Porto Alegre, Brasil, Microbiological Resources Center 1,978 19p.
7. VINCENT, J. M. Manual Práctico de rhizobiología. México, Centro Regional de Ayuda Técnica, 1,975 200p.

No. Bo.
9/11/11



XI. APENDICE

A) FASE DE INVERNADERO

CUADRO No. 1

PESO DE NODULOS POR MACETA (2 PLANTAS) EXPRESADO EN GRS.

HERBICIDA APLICADO *	REPETICION					MEDIA
	I	II	III	IV	V	
FLUAZIFOP-BUTIL	2.082	1.4057	1.6744	1.669	1.7746	1.72116
LINURON	1.2093	1.5622	1.9869	1.6023	0.914	1.45494
METALOCOR	0.8198	1.7589	1.5691	1.3071	0.7340	1.23778
TESTIGO	0.7286	1.0270	1.0044	0.8280	0.7959	0.87678
PENDIMETHALIN	1.0022	0.6934	0.2445	1.2869	0.6943	0.78426
BENTAZON	0.2983	0.3027	0.3468	0.2999	1.2167	0.49288
DALAPON	0.0817	0.0237	0.05416	0.0378	0.0631	0.05218
TRIFLURALINA	0.0819	-----	0.0697	-----	0.0093	0.01958

* DOSIS COMERCIAL (VER EN MATERIALES Y METODOS, CUADRO DE TRATAMIENTOS PARA INVERNADERO).

CUADRO No. 2

TOTAL DE NODULOS POR MACETA (2 PLANTAS)

HERBICIDA APLICADO *	REPETICION					MEDIA
	I	II	III	IV	V	
TESTIGO	75	84	108	70	65	80.40
FLUAZIFOP-BUTIL	61	53	66	81	86	69.40
BENTAZON	80	52	51	55	80	63.60
LINURON	52	72	56	61	71	62.40
METALOCOR	50	57	56	67	33	50.60
DALAPON	30	30	43	36	37	35.20
PENDIMETHALIN	34	21	18	42	27	28.40
TRIFLURALINA	4	--	9	--	2	3.00

* DOSIS COMERCIAL (VER EN MATERIALES Y METODOS, CUADRO DE TRATAMIENTOS PARA INVERNADERO).

CUADRO No. 3

TOTAL DE NODULOS GRANDES Y MEDIANOS POR MACETA (2 PLANTAS)

HERBICIDA APLICADO *	REPETICION					MEDIA
	I	II	III	IV	V	
FLUAZIFOP-BUTIL	58	43	49	50	78	55.60
LINURON	43	49	42	53	40	45.40
TESTIGO	19	56	29	40	26	34.00
METALOCOLOR	20	40	42	35	29	33.20
PENDIMETHALIN	19	11	7	28	18	16.60
BENTAZON	--	3	6	4	49	12.40
TRIFLURALINA	--	--	4	--	--	0.80
DALAPON	--	--	--	--	--	0.00

* DOSIS COMERCIAL (VER EN MATERIALES Y METODOS, CUADRO DE TRATAMIENTOS PARA INVERNADERO).

CUADRO No. 4

ALTURA DE PLANTA POR MACETA (2 PLANTAS) EXPRESADO EN CMS.

HERBICIDA APLICADO *	REPETICION					MEDIA
	I	II	III	IV	V	
BENTAZON	45.90	53.70	47.30	48.45	55.20	50.11
METALOCOR	42.55	72.25	43.95	46.65	41.75	49.43
LINURON	49.35	46.35	44.85	46.70	46.05	46.60
TESTIGO	49.50	39.70	41.10	47.20	46.20	44.74
FLUAZIFOP-BUTIL	41.55	44.20	45.25	46.50	44.20	44.34
PENDIMETHALIN	45.45	46.25	40.70	43.25	44.15	43.96
TRIFLURALINA	34.75	29.35	37.40	33.35	38.40	34.65
DALAPON	20.30	19.15	21.05	19.05	17.15	19.34

* DOSIS COMERCIAL (VER EN MATERIALES Y METODOS, CUADRO DE TRATAMIENTOS PARA INVERNADERO).

CUADRO No. 5

PESO SECO DE PLANTA POR MACETA (2 PLANTAS) EXPRESADO EN GRS.

HERBICIDA APLICADO *	REPETICION					MEDIA
	I	II	III	IV	V	
LINURON	7.40	8.20	8.10	9.00	7.00	7.94
METALOCOR	7.50	7.50	7.60	7.30	7.80	7.54
TESTIGO	6.70	7.60	7.40	8.40	7.10	7.44
PENDIMETHALIN	7.50	7.30	7.80	6.90	7.40	7.38
FLUAZIFOP-BUTIL	6.30	7.20	7.80	8.50	7.00	7.36
BENTAZON	3.40	4.60	4.50	4.10	6.00	4.52
TRIFLURALINA	2.60	4.00	4.70	5.00	3.50	3.96
DALAPON	1.80	1.10	0.80	1.30	1.50	1.30

* DOSIS COMERCIAL (VER EN MATERIALES Y METODOS, CUADRO DE TRATAMIENTOS PARA INVERNADERO).

ANALISIS DE VARIANZA INCLUYENDO AL TESTIGO

CUADRO No. 6

PESO DE NODULOS

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
TRATAMIENTOS	7	13.654	1.951	20.392**
ERROR	32	3.061	0.096	
TOTAL	39	16.714		

CUADRO No. 7

TOTAL DE NODULOS

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
TRATAMIENTOS	7	22640.375	3234.339	23.258**
ERROR	32	4450	139.063	
TOTAL	39	27090.375		

CUADRO No. 8

TOTAL DE NODULOS GRANDES Y MEDIANOS

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
TRATAMIENTOS	7	14701.10	2100.16	16.89**
ERROR	32	3978.40	124.33	
TOTAL	39	18679.50		

** SIGNIFICATIVO AL 1% DE PROBABILIDAD

CUADRO No. 9

ALTURA DE PLANTA

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
TRATAMIENTOS	7	3630.282	518.612	18.346**
ERROR	32	904.60	28.269	
TOTAL	39	4534.882		

CUADRO No. 10

PESO SECO DE PLANTA

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
TRATAMIENTOS	7	201.828	28.833	60.557**
ERROR	32	15.236	0.476	
TOTAL	39	217.064		

** SIGNIFICATIVO AL 1% DE PROBABILIDAD

B) FASE DE LABORATORIO

CUADRO No. 1

RESULTADOS DEL NUMERO DE COLONIAS DE RHIZOBIUM EN LAS DILUCIONES EMPLEADAS

		REPETICION Y DILUCION EMPLEADA						MEDIAS DE REPETICION			MEDIA
		I		II		III		I	II	III	
		1×10^5	1×10^6	1×10^5	1×10^6	1×10^5	1×10^6	1×10^5	1×10^5	1×10^5	
HERBICIDA	DOSIS										
	0	61	7	49	8	30	9	66	65	60	64
BENTAZON	1	45	9	13	10	64	3	68	57	47	57
	0	85	11	117	7	100	11	98	94	105	99
DALAPON	1	87	14	102	8	80	9	114	91	85	97
	0	112	6	97	7	64	3	86	84	47	72
FLUAZIFOP-BUTIL	1	80	9	56	6	42	2	85	58	31	58
	0	102	9	61	7	115	10	96	66	108	90
LINURON	1	126	6	121	6	136	5	93	91	93	92
	0	117	5	120	6	100	6	84	90	80	85
METALOCLOR	1	50	6	73	7	68	3	55	72	49	59
	0	21	5	12	2	75	3	36	16	53	35
PENDIMETHALIN	1	14	2	13	1	17	2	17	12	19	16
	0	15	5	16	3	38	2	33	23	29	28
TRIFLURALINA	1	52	8	58	1	100	4	66	34	70	57
TESTIGO	-	44	2	36	3	57	3	32	33	44	36

DOSIS (0) = 5 PPM

DOSIS (1) = 10 PPM

ANALISIS DE VARIANZA INCLUYENDO AL TESTIGO

CUADRO No. 2

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
TRATAMIENTOS	14	28793.33	2056.66	10.117**
ERROR	30	6098.66	203.288	
TOTAL	44	34892		

ANALISIS DE VARIANZA SIN INCLUIR AL TESTIGO

CUADRO No. 3

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.
TRATAMIENTOS	13	26507.619	2039.048	9.4997**
A	6	23363.286	3893.881	18.1412**
B	1	298.666	298.666	N.S. 1.3914
AB	6	2845.666	474.277	N.S. 2.2096
ERROR	28	6010.	214.643	
TOTAL	41	32517.619		

** SIGNIFICATIVO AL 1% DE PROBABILIDAD.

N.S. NO SIGNIFICATIVO AL 1% DE PROBABILIDAD.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia

Asunto

"IMPRIMASE"

A large, stylized handwritten signature in black ink, appearing to read 'C. Castañeda S.'.



ING. AGR. CESAR A. CASTAÑEDA S.
D E C A N O