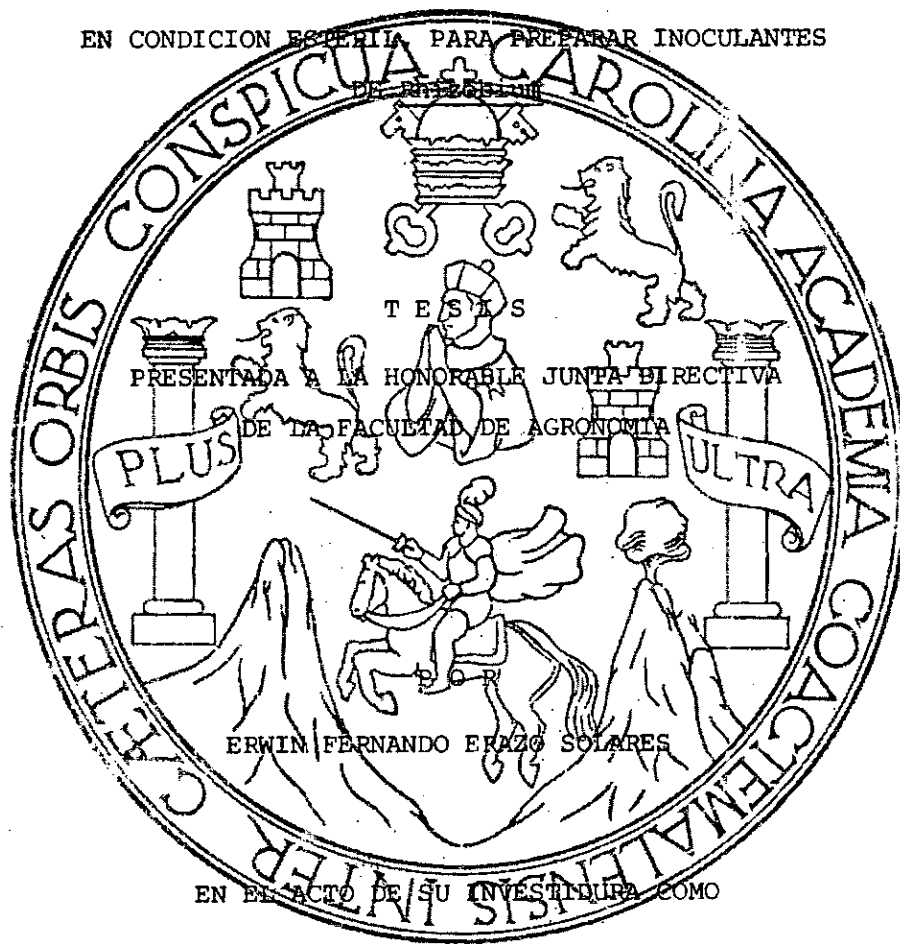


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMIA

EVALUACION DE CUATRO SUELOS CON ALTO CONTENIDO ORGANICO  
EN CONDICION ESTERIL PARA PREPARAR INOCULANTES



INGENIERO AGRONOMO

EN EL GRADO ACADEMICO DE  
LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

**TESIS DE REFERENCIA  
NO**

**SE PUEDE SACAR DE LA BIBLIOTECA  
BIBLIOTECA CENTRAL-USAC.**

Guatemala, agosto de 1988

PROPIEDAD DE LA I

LIBROS DE GUATEMALA

DL  
01  
T(1114)

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

R E C T O R

LIC. RODERICO SEGURA TRUJILLO

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO	Ing. Agr. Anibal B. Martínez Muñoz
VOCAL PRIMERO	Ing. Agr. Gustavo A. Méndez Gómez
VOCAL SEGUNDO	Ing. Agr. Jorge Sandoval Illescas
VOCAL TERCERO	Ing. Agr. Mario Melgar
VOCAL CUARTO	Br. Marco Antonio Hidalgo
VOCAL QUINTO	P.A. Bayron Milián V.
SECRETARIO	Ing. Agr. Rolando Lara Alecio

TRIBUNAL QUE PRACTICO EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Agr. César Castañeda Salguero
EXAMINADOR	Ing. Agr. Negli René Gallardo Pérez
EXAMINADOR	Ing. Agr. Edgar Alvarado Méndez
EXAMINADOR	Ing. Agr. Celestino Polanco Salguero
SECRETARIO	Ing. Agr. Carlos Fernández Pérez



Referencia: PP-121-88  
Asunto: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

20 de junio de 1988.

Señor Decano  
Ing. Agr. Anibal B. Martinez Muñoz  
Facultad de Agronomía  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
Ciudad Universitaria, Zona 12.

Ingeniero Martinez:

Me dirijo a usted para hacer de su conocimiento que, en base a la designación emanada de su Despacho, procedí a asesorar el trabajo de tesis del estudiante: Erwin Fernando Erazo Solares, Carnet: 27114, titulado: "EVALUACION DE CUATRO SUELOS CON ALTO CONTENIDO ORGANICO, EN CONDI CION ESTERIL, PARA PREPARAR INOCULANTES DE *Rhizobium*".

Debo manifestar que esta investigación, además de constituir una información de base dentro del Proyecto de Fijación Biológica de Nitrógeno, llena la calidad técnica y científica que nuestra Alma Mater exige, por lo que sugiero su aprobación.

Atentamente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

  
Ing. Agr. Rolando G. Aguilera M.  
A S E S O R

RGAM/eqded

Guatemala,  
julio de 1988

HONORABLE JUNTA DIRECTIVA  
HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con las normas establecidas en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, someto a su consideración el trabajo de tesis titulado:

"Evaluación de cuatro suelos con alto contenido orgánico, en condición estéril, para preparar inoculantes de Rhizobium".

Presentado como requisito previo a optar al título profesional de Ingeniero Agrónomo, en el grado académico de Licenciado en Ciencias Agrícolas.

Agradeciendo su deferencia, me es grato suscribirme muy atentamente,

  
Erwin Fernando Erazo Solares

ACTO QUE DEDICO

A LA MEMORIA DE  
MI MADRE Zoila Esperanza Solares de García  
(Forjadora del triunfo que hoy logro)

A MIS TIOS Especialmente a Berta y a Maura (agra-  
decidiéndole sus sacrificios durante la  
realización del presente trabajo); y  
a Gloria, Piedad, Adelfo y Vidal.

A MIS PRIMOS Aida Elizabeth, Gloria Haydeé, Oscar  
Roberto y Luis Enrique

A MIS SOBRINOS Escobar Solares y Vides Murga  
Que sea éste un ejemplo a seguir

ESPECIALMENTE A María del Carmen

A MI PADRE Francisco Erazo Leiva

CON ESPECIAL CARINO A Lic. Julio García Castillo y Luis  
Enrique García Pinot

A LAS FAMILIAS Mejía Andrade  
Vides Murga y  
García Castillo

A MIS COMPAÑEROS Ing Agr. Luis E. Andrade  
Ing. Agr. Víctor Alvarez Cajas  
Ing. Agr. Carlos Cáceres  
Ing. Agr. Víctor Manuel Sabán  
Ing. Agr. Marino Barrientos  
Ing. Agr. Raúl Menéndez  
Ing. Agr. Gabriel Heredia  
Ing. Agr. Carlos Sanabria  
Ing. Agr. Edwin Zapparolli T.

A MI QUERIDO SAN LUIS, PETEN

A MIS AMIGOS EN GENERAL

## AGRADECIMIENTOS

- Al Ing. Agr. Rolando Aguilera Mejía, por su asesoría, dedicación y acertada orientación, la cual hizo posible llevar a cabo el presente trabajo.
- Al Ing. Agr. Rolando U. Barrios por su valiosa y desinteresada ayuda en la elaboración del mismo.
- Al personal del laboratorio de Microbiología Agrícola de la Facultad de Agronomía.
- A la Dirección General de Energía Nuclear, Sección Agropecuaria, por las facilidades para irradiar los materiales utilizados en el presente trabajo.

## CONTENIDO

	PAGINA
RESUMEN	i
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVO	3
III. HIPOTESIS	4
IV. REVISION DE LITERATURA	5
V. MATERIALES Y METODOS	15
VI. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS	24
VII. CONCLUSIONES	31
VIII. RECOMENDACIONES	32
IX. BIBLIOGRAFIA	33
X. APENDICE	35

## INDICE DE CUADROS

CUADRO No.		PAGINA
1	Suelos muestreados y su procedencia	16
2	Características físico-químicas de los análisis de interés en los suelos seleccionados	17
3	Datos experimentales del conteo de rizobios en los diferentes soportes y en las diferentes fechas	27
4	Análisis de varianza de los datos de población de rizobios efectuados a las diferentes turbas en cada fecha de conteo	28
5	Valores promedios de población de rizobios obtenidos en diferentes fechas de conteos ordenados en forma descendente	29



## RESUMEN

"EVALUACION DE CUATRO SUELOS CON ALTO CONTENIDO ORGANICO, EN CONDICION ESTERIL, PARA PREPARAR INOCULANTES DE Rhizobium".

"EVALUATION OF FOUR SOIL TYPES WITH HIGH ORGANIC CONTENT, IN STERILE CONDITION, FOR Rhizobium INOCULANT PREPARATION".

El trabajo se efectuó en los laboratorios de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala; siendo el objetivo determinar cuál de los cuatro substratos previamente seleccionados y esterilizados a una dosis de 5 Mrads de rayos Gamma, era el más adecuado para mantener poblaciones altas de rizobios (arriba del  $\times 10^7$  cel/gr, conforme a lo establecido por las normas internacionales para la evaluación de inoculantes).

La metodología consistió en coleccionar 10 suelos con posibilidades de constituirse como soportes, se efectuaron los análisis físico-químicos necesarios y se seleccionaron 4 suelos que por su mayor contenido de materia orgánica y su alta capacidad de retención de humedad podían constituirse como posibles soportes.

Los suelos seleccionados provienen de los municipios de Chiantla, Chiquique, Purulhá y Capellania.

A continuación se procedió a la preparación de los soportes (esterilización, neutralización del Ph secado y tamizado). Se rejuveneció la bacteria Rhizobium leguminosarium bio var phaseoli cepa TAL 1376 y con ella se impregnaron los soportes. Después de la maduración del inoculante se conservó en un lugar con temperaturas semejantes a las que durante un mal manejo en bodegas y tiendas puede estar sometido el inoculante (26°C). Seguidamente se hicieron conteos cada 20 días, utilizando el método directo de conteo de bacterias de Miles Misra hasta que ya no hubieron poblaciones de bacterias.

Se utilizaron 4 tratamientos. Uno para cada substrato. El modelo estadístico seleccionado fue completamente al azar con 3 repeticiones.

Los resultados mostraron que los suelos Chiantla y Chinique, fueron los que mantuvieron durante más tiempo (77 días) poblaciones altas de rizobios, mientras que los suelos Purulhá y Capellania mantuvieron durante 64 días poblaciones aceptables de rizobios.

## I. INTRODUCCION

El aumento de la población mundial es un hecho innegable que trae como consecuencia una acentuada escases de energía y alimentos, ésto da lugar a que la producción de alimentos por medio de técnicas que no exijan una alta dependencia de la energía, se torne cada vez más importante. En las últimas cuatro décadas el aumento de la productividad vegetal está siendo altamente correlacionada con el consumo de fertilizantes nitrogenados (5).

La simbiosis o asociación entre las leguminosas y las bacterias del género Rhizobium pueden suprimir en gran parte las necesidades de Nitrógeno, así como a ayudar a incrementar el rendimiento y productividad de las leguminosas. Para que esto ocurra, una leguminosa debe estar eficientemente inoculada del Rhizobium específico (14).

Para que haya una nodulación abundante, se hace necesario una alta población del rizobio específico junto o próximo a la superficie radicular de la leguminosa hospedera, sin embargo, no siempre se presentan altas poblaciones de estirpes eficientes para que ocurra una nodulación efectiva, en estos casos se utiliza la práctica de inoculación artificial con estirpes de rizobios de comprobada eficiencia fijadora de  $N_2$  (14).

La utilización de técnicas de inoculación de cepas eficientes es una alternativa de importancia para Guatemala, para reducir los costos de producción, máxime si analizamos la gran cantidad de hectáreas que anualmente se siembran en nuestro país (1).

En Guatemala existen zonas agrícolas y zonas para ganado bovino, las cuales se incrementan cada año, principalmente en la zona norte de Izabal, Cobán, Huehuetenango y el departamento del Petén.

Estas razones y las mencionadas anteriormente, establecen la necesidad de efectuar programas de investigación enfocados al estudio de la re-

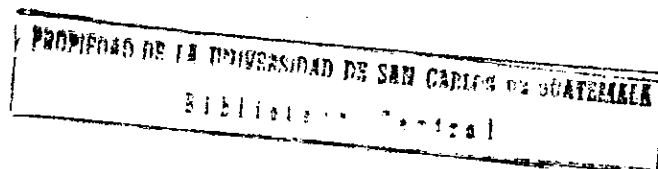
lación simbiótica leguminosa-Rizobium en las diferentes zonas del país (1).

Existen dos aspectos que determinan la calidad del inoculante y por lo tanto su éxito en el campo: La bacteria y el soporte. La bacteria determina el potencial cualitativo y el soporte el potencial cuantitativo del inoculante. Los estudios sobre la bacteria y el soporte son continuos y determinan la evolución de la calidad del inoculante en el tiempo (7).

Uno de los problemas para la elaboración de inoculantes es la escasa disponibilidad de materiales aptos para ser usados como soportes para Rhizobium (9).

Los suelos con alto contenido orgánico constituyen sin lugar a dudas, la forma más ampliamente utilizada como soporte y la que ha permitido la producción y comercialización de grandes volúmenes de inoculantes de alta calidad (7).

Por lo expuesto anteriormente, en el presente trabajo se evaluará la supervivencia de una cepa de Rhizobium con inoculantes elaborados sobre cuatro suelos con alto contenido de materia orgánica diferentes.



## II. OBJETIVO

Determinar cuál de los cuatro substratos estériles a evaluar, es el más adecuado para soportar poblaciones altas de Rhizobium (igual o más de  $1 \times 10^7$  cel/gr) en condiciones de laboratorio.

### III. HIPOTESIS

"Los cuatro substratos estériles a evaluar constituyen un medio adecuado para la preparación de inoculantes de Rhizobium".

#### IV. REVISION DE LITERATURA

Los microorganismos empleados para la preparación de inoculantes pertenecen a la familia Rhizobiaceae. El género Rhizobium se caracteriza por su capacidad de fijar  $N_2$  atmosférico en simbiosis con las leguminosas.

Una característica destacable que debe ser tomada en cuenta en la selección de este microorganismo para la preparación de inoculantes es la variabilidad de las cepas, principalmente en lo que se refiere a su invasibilidad y capacidad de fijación de  $N_2$ . En general existe una buena correlación entre los resultados obtenidos en laboratorio, en cámaras especiales con luz artificial y los ensayos realizados en campos. Sin embargo, es importante tener presente que el microorganismo en el suelo está sujeto a una serie de factores como Ph, clima, presencia de microflora antagónica, que puede modificar marcadamente los resultados bajo tan diferentes condiciones.

La capacidad de fijación de  $N_2$  y el poder de infección son las características más importantes que deciden la elección de una cepa que será destinada a la preparación de un inoculante. Generalmente se trata de preparar inoculantes con cepas de amplio espectro, es decir, que sean efectivas frente a diversas especies vegetales (3).

#### METODOS DE CONSERVACION DE Rhizobium:

Pará el mantenimiento del Rhizobium deben tenerse en cuenta los siguientes aspectos: viabilidad, poder de infección y capacidad de fijar  $N_2$  (3). Varias son las técnicas propuestas y entre los métodos de conservación más utilizados podemos mencionar:

##### 1. Cultivos en Agar:

Fueron los primeros inoculantes que aparecieron en el mercado. En la década del 20 se reemplazaron por inoculantes de base sólida en USA, en 1952 en Australia y en 1964 en Uruguay principalmente por la

alta tasa de mortalidad durante el secado luego de su aplicación de semilla.

En algunos países se utilizan todavía para solicitudes concretas de inoculantes, pero su uso se restringe fundamentalmente a cubrir la de manda de investigación. En este caso se utilizan directamente o para preparar inoculantes en base sólida.

2. Cultivos Líquidos:

No están disponibles en el mercado. Su uso se restringe a ensayos de investigación en condiciones controladas de laboratorio o invernáculos y para preparar inoculantes de base sólida.

3. Cultivos concentrados congelados:

Para preparar estos inoculantes los cultivos líquidos de rizobios se concentran y congelan rápidamente lográndose concentraciones de  $1 \times 10^{12}$  cel/ml. Los cultivos congelados se distribuyen en tubos plásticos, botellas o latas y se mantienen en estado congelado con hielo se co. Una vez descongelados el inoculante debe utilizarse dentro de las primeras 24 horas. En USA se utilizan en dilución con agua para aplicación al suelo en cultivos de soya y maní, habiéndose obtenido resultados exitosos aún bajo condiciones desfavorables.

4. Cultivos liofilizados:

La liofilación se logra congelando las soluciones intracelulares y removiendo la humedad a través de la membrana celular bajo vacío sin permitir que los contenidos celulares se deshíelen.

El proceso requiere equipo sofisticado y experiencia técnica. Se utilizan buffers para aumentar la estabilidad de las células. Normalmente se utiliza talco como soporte para la inoculación de las semillas. No se encuentra en el mercado debido al alto costo de produc-



ción y pobre sobrevivencia de la bacteria en la semilla inoculada.

5. Cultivos impregnados al vacío:

La semilla actúa como soporte y la cubierta ofrece protección a la bacteria. Se utilizan cultivos congelados de alta concentración. El proceso se realiza al vacío. La bacteria penetra a la semilla a través del micrópilo y por poros o hendiduras propias de la cubierta seminal. El proceso ofrece ventajas al industrial y al agricultor pero la sobrevivencia de la bacteria es pobre.

6. Cultivos en aceite:

Cultivos de Rhizobium en medio líquido se concentran por centrifugación y liofilización y se suspenden normalmente en aceite de maní. El aceite se calienta previamente a 120° durante 12 horas para obtenerlo libre de agua y rizobios (7).

SOPORTES:

Uno de los problemas para la elaboración de inoculantes es la escasa disponibilidad de materiales aptos para ser usados como soportes para rizobios. El material más recomendado ha sido la turba.

Cuando en un país se dificulta obtener turbas de calidad se hace necesario la búsqueda de nuevos materiales, con mayor razón cuando se trata de países netamente agrícolas que disponen de subproductos agrícolas abundantes en producción y poco uso en el país, como las cascarillas vegetales, pulpas, etc.

En Colombia, cita Mora de González (9), que los trabajos realizados en este campo hasta ahora son pocos y han sido realizados por el CIAT, allí se ensayaron las turbas de Nariño y Antioquía que presentaron buenos resultados como soportes; asimismo, carbones minerales procedentes de las

minas de La Fragua, la Merced y Bohemia. El bagazo de la caña, subproducto de la industria azucarera fué ensayado y no demostró buenos resultados como soporte.

Actualmente se están construyendo sistemas para reciclar los desechos orgánicos (domésticos y agrícolas), obteniéndose un producto en forma de tierra seca, la cual es comercializada como abono para jardines. Se han elaborado trabajos investigando el comportamiento de Rhizobium phaseoli en estas turbas, no encontrándose diferencia significativa en el desarrollo de Rhizobium en turba y en algunas combinaciones compost turba (5).

Otro aspecto destacable que se ha observado en diferentes países es el tipo de soporte o mejor dicho la calidad de turba que se utiliza. Desgraciadamente no todas las turbas presentan las mismas propiedades, es por ello que su uso debe ser muy bien conducido a los efectos de no producir material deficiente. Existen turbas que tienen muy baja capacidad de retención de agua y se presentan en forma de barro cuando se humectan a valores de 50-55% con caldo. En esos casos, siempre que se desee tener productos al estado de polvo, se deberá modificar las propiedades de estos materiales con aditivos o impregnar estos materiales con volúmenes de caldo de fermentación menores aunque más concentrados (2).

#### LA TURBA COMO SOPORTE:

La turba es sin duda la forma más ampliamente utilizada y la que ha permitido la producción y comercialización de grandes volúmenes de inoculantes de alta calidad. Esto se debe a las siguientes propiedades:

- a. Alta capacidad de absorción de agua;
- b. Sirve como medio nutritivo del rizobio promoviendo su desarrollo y crecimiento;
- c. Favorece la sobrevivencia de la bacteria durante la comercialización del producto y en la semilla inoculada.

Estas propiedades permiten normalmente obtener mejor nodulación en condiciones de campo que cuando emplean otro tipo de inoculantes.

No todas las turbas son igualmente útiles como soporte para la bacteria y por lo tanto su selección será determinante de la calidad final del inoculante. Algunas de las propiedades mas importantes a tener en cuenta son: contenido de materia orgánica, capacidad de retención de agua, Ph y salinidad. Estas propiedades pueden ser una indicación del grado de adaptabilidad de una turba a la producción de inoculantes, pero la selección última deberá basarse en los estudios de crecimiento y sobrevivencia de los rizobios seleccionados (7).

#### CULTIVOS EN TURBA MOLIDA:

Una vez extraída del depósito la turba se clasifica y se deja orear. Las manipulaciones posteriores dependen de la metodología de producción u tilizada pero en general pueden distinguirse los siguientes procesos: secado, neutralización, molienda y esterilización.

##### 1. Secado:

Se realiza primeramente al aire y luego en hornos a temperaturas de 100°C durante 12 a 24 horas con lo que se logra una humedad final del 5-7%. Temperaturas mayores alteran las propiedades de las turbas y provocan un excesivo aumento de temperatura en la impregnación. Ambos procesos afectan el crecimiento y la sobrevivencia de la bacteria.

##### 2. Neutralización y Molienda:

La mayoría de las turbas son ácidas y no pueden usarse sin un ajuste previo de pH. El ajuste se realiza a pH de 6.5-7 usando  $\text{CaCO}_3$ , se agrega finalmente molido. Generalmente, el carbonato se agrega antes de la molienda de la turba para asegurar un suficiente mezclado y se

muele en malla 200.

3. Esterilización:

Los resultados de la investigación indican que la esterilización del soporte permite lograr mayor concentración inicial, mejor sobrevivencia de la bacteria y posibilita una mayor duración del inoculante en condiciones de campo. Es fundamentalmente importante para rizobios de crecimiento lento y para situaciones ecológicas donde se requieren altas concentraciones de rizobios sobre la semilla. Actualmente se utilizan tres métodos:

a. Secado rápido (CO-Nitragin USA):

La turba se seca a temperaturas de 620-650°C durante 2 o 3 minutos en un deshidratador. El % final de humedad es de 7-8%, este proceso esteriliza la turba sin afectar sus propiedades. Sin embargo, existen posibilidades de recontaminación durante las operaciones de molienda y tamizado. Se separan 3 fracciones diferentes: Turba granulada (20 a 250 mallas), turba en polvo (100 a 200) y turbas en polvo (200-300 mallas).

La turba se granula en forma natural en el deshidratador.

b. Autoclaveado:

Es el único método que permite cultivos de rizobios absolutamente puros. La turba se enriquece con un caldo nutritivo antes de ser autoclaveada. En Holanda y Checoslovaquia la turba enriquecida se envasa en botellas de vidrio (2/3), tapadas con tapón de algodón y se esterilizan en autoclave durante 3 horas a 121°C. En Nueva Zelandia la turba enriquecida y autoclaveada se coloca en bandejas en una cámara aséptica de crecimiento donde posteriormente se impregna.

c. Irradiación:

Existen varios tipos de radiaciones ionizantes: Alfa, Beta, Gamma poseyendo cada una características diferentes.

En la producción industrial de rayos Gamma, se emplea normalmente los nuclidos  $^{60}\text{Co}$ \* y  $^{137}\text{Cs}$ \*\* . La radiación Gamma  $^{60}\text{Co}$  es la más utilizada en este tipo de investigaciones y tiene una energía de un millón de electrones voltio y una longitud de onda de  $10^{-10}$  cm (10).

Mazón M., M. y Fernández G., J. (10) indican que el RAD, es la unidad utilizada para medir la cantidad de radiación absorbida por cualquier tipo de material y representa la absorción de 100 ergios de energía radiante por gramo de material irradiado.

Ventajas de la Irradiación, como agente esterilizante con respecto a métodos tradicionales:

c.1 Los materiales a esterilizarse pueden empaquetarse con envases herméticos, impenetrables a los microorganismos. La irradiación Gamma penetra a través del envase y alcanza a todas las partes del objeto. Por consiguiente, pueden mantenerse almacenados en estado de esterilidad por un tiempo indefinido con tal de que el envase no se rompa (10).

c.2 Dada la dosis de esterilización usualmente aplicada, las radiaciones no provocan ningún aumento significativo de la temperatura. Por ser un proceso "frío" es posible esterilizar materiales termosensibles. Es desde luego el mejor y a menu

---

\*  $^{60}\text{Co}$  = Cobalto 60, fuente de radiación Gamma

\*\*  $^{137}\text{Cs}$  = Cesio 137, fuente de radiación Gamma.

do el único método para esterilizar preparados de origen biológico (10).

c.3 La radioesterilización se presta a un proceso continuo y totalmente automatizado con un solo parámetro a controlar, el tiempo de exposición.

c.4 La radio esterilización es generalmente mucho más barata que la esterilización con vapor a alta temperatura (10).

En base a lo anterior, se puede observar que las ventajas de la radio esterilización son decisivas. Es más barata y más segura, debido a que la destrucción de gérmenes se consigue después de que el material está ya envasado.

En Australia la turba neutralizada y molida (malla 200) se envasa en bolsas de 0.051 mm de espesor y se esteriliza con rayos Gamma utilizando una dosis de 5 Mrads. El mismo procedimiento se utiliza con éxito en España para inoculantes de soya y se emplea en Uruguay para inoculantes de tréboles. Aunque no se logra una esterilización total, resulta superior a la turba autoclavada durante 4 horas a 121°C. (7).

#### CONTROL DE CALIDAD DE LOS INOCULANTES:

La industria de producción de inoculantes ha evolucionado muy favorablemente en los últimos años como consecuencia de los estudios básicos y aplicados que se han desarrollado en diferentes partes del mundo. Esto ha permitido obtener productos de alta calidad y de eficiencia reconocida que contribuyen a lograr cosechas con altos rendimientos de plantas leguminosas de reconocido valor protéico. Si bien la tecnología de producción puede estar al alcance de los diferentes países se observa hoy en día que aún subsisten algunas dificultades que se traducen en la calidad de inoculantes que se utilizan en algunas naciones de Latinoamérica (2).

El problema radica en la necesidad de contar con personas especializadas y la infraestructura necesaria para asegurar la obtención de productos de buena eficiencia. Una característica que se presenta a menudo en los inoculantes comerciales es su bajo contenido de Rhizobium.

Este aspecto puede estar relacionado en la etapa que implica la obtención de suspensiones celulares con alto número de Rhizobium viables para impregnar soportes.

Entre las causas existentes podríamos citar: equipo mal diseñado, deficiencias en el proceso de esterilización del medio de cultivo que afecte sensiblemente la calidad de nutrientes, baja concentración inicial de células al iniciar el proceso haciendo las fermentaciones excesivamente largas con peligro de contaminación (2).

La producción de inoculantes en gran escala se basa en dos procesos:

1. El desarrollo del rizobio en cultivo puro líquido; y
2. El uso de ese cultivo bien desarrollado para la impregnación de la turba.

Para cada lote de inoculante se realiza un control del caldo antes de su incorporación a la turba un control del inoculante después de la maduración y se continúa el control durante el período de vigencia del inoculante.

Salvo en 1971, todos los años se elaboraron lotes de inoculantes que no pasaron el control de calidad por no contener el mínimo suficiente de Rhizobium/gramo de turba y que por lo tanto, no fueron utilizado en la práctica.

El control de calidad en Uruguay se basa en dos principios básicos:

1. Reconocimiento de la importancia de la calidad del inoculante en

ALONSO  
GOBIERNO DE SAN CARLOS  
Biblioteca Ges

el establecimiento, productividad y persistencia de las leguminosas inoculadas.

2. Protección del ecosistema nacional al asegurar solamente la introducción de cepas seleccionadas (7).



## V. MATERIALES Y METODOS

El desarrollo del presente trabajo se efectuó en los laboratorios de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, siguiendo para el efecto varios pasos, que en síntesis son los siguientes:

1. Localización de fuentes de turba (soportes).
2. Análisis físico-químicos de laboratorio para la selección de los soportes.
3. Determinación de tratamientos y diseño experimental.
4. Preparación de los soportes.
5. Preparación de la bacteria.
6. Impregnación del soporte (turba) y maduración.
7. Evaluación de la sobrevivencia de rizobios.
8. Enálisis estadístico y criterios de evaluación.

Los pasos efectuados se amplían en los siguientes acapites.

### 1. LOCALIZACION DE FUENTES DE TURBA:

Para este paso del trabajo se revisó en el libro "Clasificación de reconocimeinpo de los suelos de la república de Guatemala" de Simmons, Tárano y Pinto (12), la información de los suelos que reportaban en el país contenidos de materia orgánica superiores al 16%. Esto permitió muestrear y traer suelos de los siguientes lugares:

Cuadro 1. Suelos muestreados y su procedencia.

TIPO DE SUELO	DEPARTAMENTO	MUNICIPIO
Balanjuyú	Chimaltenango	Tecpán
Carchá Franco Limoso	Alta Verapaz	Sta. Cruz, A.V.
Civijá Franco Limoso	Quiché	Chinique
Moyuta Franco Limoso	Jutiapa	Jalpatagua
Patsité Franco Arenoso	Quiché	Chichén
Soloma Franco	Huehuetenango	San Juan Ixcoy
Toquilá Franco	Huehuetenango	Chiantla
Soloma Franco	Huehuetenango	Capellania Chiantla
Totonicapán Franco	Totonicapán	Totonicapán
Tamahú Franco	Baja Verapaz	Purulhá

FUENTE: Simmons, Pinto, Tárano (14).

2. ANALISIS FISICO Y QUIMICO DE LABORATORIO PARA LA SELECCION DE LOS SOPORTES:

Como la condicionante básica fué que los suelos a usar como soporte tuvieran más del 16% de materia orgánica se escogieron los cuatro que a través del análisis de laboratorio llenaban este requisito y de los cuales se consignan a continuación las características físico-químicas que interesaban conocer para el estudio.

Cuadro 2. Características físico-químicas de los análisis de interés en los suelos seleccionados.

PROCEDENCIA	COLOR	TEXTURA	% MO	% CRH <sup>1/</sup>	pH Inic.
Purulhá	Café muy oscuro	Franco friable	60.70	100	5.5
Capellania	Café muy oscuro	Franco friable	16.67	93	5.85
Chiantla	Café muy oscuro a negro	Franco limoso friable	18.56	80	6.4
Chinique	Café oscuro	Franco friable	16.94	73	6.2

% MO = Porcentaje de materia orgánica

% CRH = Porcentaje de capacidad de retención de humedad

FUENTE: Análisis realizados por el autor.

### 3. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL:

Los tratamientos seleccionados estuvieron constituidos por las cuatro turbas seleccionadas debidamente impregnadas de la bacteria con una población inicial alta de Rhizobium ( $1.7 \times 10^9$  células/gramo de turba) a las cuales se les efectuaron conteos cada 20 días para conocer la fluctuación de la población en cada turba conforme aumentaba el tiempo hasta un límite, donde la población descendiera de  $1 \times 10^7$  bacterias/gramo de turba (considerado nivel de comercialización mínimo de inoculante).

El diseño del experimento fue al completo azar, utilizándose tres repeticiones que a su vez estuvieron constituidas cada una por el resultado promedio de cuatro sub-unidades, producto de una serie de diluciones programadas (diluciones  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  y  $1 \times 10^8$ ).

1/ Se llama capacidad de retención de humedad (% CRH) al peso de agua en gramos que hay en 100 gramos de suelo secado en estufa en una pasta de suelo saturado. Para determinarla se utilizó el método del mezclado poniendo el suelo en condición de saturación con agua, dejándolo absorber agua por atracción capilar libre. Luego se determinó la cantidad de agua retenida mediante secado en estufa a 105° C. durante 18 horas habiéndose dejado enfriar para luego pesarlo (6a).

4. PREPARACION DE LOS SOPORTES:

Para preparar los soportes fué necesario efectuar los pasos siguientes:

A. Acondicionamiento del pH:

Para este paso fué necesario neutralizar la acidez de los soportes empleados, para lo cual a cada soporte le fueron aplicados niveles progresivos de  $\text{CaCO}_3$  y medido el incremento de pH. De esta manera se pudo establecer la cantidad total de  $\text{CaCO}_3$  necesaria para neutralizar una cantidad dada del soporte (ver apéndice 4). Los anteriores análisis se efectuaron en el laboratorio de Suelos de la Facultad de Agronomía.

B. Secado:

El secado se efectuó utilizando un horno de convección de aire y para el mismo se sometió el soporte a una temperatura de  $80^\circ$  C durante dos días, hasta que el mismo tuvo entre 5 y 7% de humedad.

C. Molido:

Una vez seco el soporte se molió y tamizó en una malla de 200 mesh, lo que nos proporcionó un polvo sumamente fino.

D. Empaque y esterilización:

El polvo fino de turba fué empacado en bolsas plásticas de 15 micrones de grosor en paquetes de 50 gramos y luego se esterilizaron utilizando radiaciones Gamma Co-60, para el efecto se utilizó un aparato irradiador DYNARAD 56, que contiene una fuente de Cobalto-60. Este aparato es propiedad de la Dirección General de Energía Nuclear del Ministerio de Energía y Minas. La dosis utilizada fué de 5 Mrads, conforme lo establecido en la literatura consultada.

5. PREPARACION DE LA BACTERIA:

Para la preparación de la misma se procedió al rejuvenecimiento de la cepa de Rhizobium leguminosarium biovar phaseoli TAL 1376 en tubos con agar inclinado usando medio BYMA (ver apéndice B) y a los cuatro días de desarrollada se inoculó en tres Erlenmeyer con 125cc de caldo nutritivo BYM (medio BYMA con Agar), colocándolo en un agitador magnético durante aproximadamente 72 horas hasta que la población alcanzó un numeroso contenido de bacterias por cc de caldo ( $1.7 \times 10^9$ ).

Previo a la impregnación del soporte (étapa 6), se analizó la pureza y calidad del caldo de cultivo utilizando para ello la siguiente práctica:

- a. La observación de un frotis con Tinción de Gram el que mostró bacilos Gram negativos libres de células Gram positivas.
- b. El recuento total de bacterias para lo cual se preparó una dilución del caldo de cultivo con relación 1:100. La muestra se observó en la Cámara de Petroff proporcionándonos en forma directa el número de células por centímetro cúbico de caldo nutritivo, mismo que fué de  $1.7 \times 10^9$ .

6. IMPREGNACION DE LOS SOPORTES Y MADURACION:

Los soportes neutralizados, secados, molidos, esterilizados y empacados se impregnaron con el caldo de cultivo de Rhizobium leguminosarium biovar phaseoli TAL 1376 a una concentración celular mínima de  $1.7 \times 10^9$  células por gramo de soporte. La impregnación se realizó en forma tal de lograr un producto con un contenido final de humedad que no sobrepasó el 50% de la misma. Los inoculantes así preparados fueron sometidos a un proceso de maduración durante 15 días a la temperatura de 23°C en incubadora.

Finalizado este período, los inoculantes estuvieron listos para iniciar los conteos de bacterias.

7. EVALUACION DE LA SOBREVIVENCIA DE RIZOBIOS:

Esta práctica se efectuó utilizando el método de conteo en platos propuestos por MILES MISRA (15) y que se detalla a continuación:

A. Preparación de diluciones:

Se tomaron por cada muestra a evaluar, dos frascos de 150 ml en los cuales previamente se colocaron esterilizados 99 cc de agua en cada uno, así también fué necesario esterilizar cuatro tubos de ensayo con 9 cc de agua cada uno. Para iniciar las diluciones se tomó un gramo de la muestra a estudiar (inoculante) y se coloca en el primer frasco con 99 cc de agua, en seguida se agitó y con pipetas estériles y en forma sucesiva se trasladó de este primer frasco al segundo, del segundo al tercero y así sucesivamente, 1 ml en cada paso de la suspensión iniciada.

B. Preparación de Cajas:

Utilizando el medio específico para Rhizobium denominado BYMA (ver apéndice 2), se prepararon cajas de Petri, a las cuales previo llenado con el medio fueron esterilizadas.

C. Preparación de Micropipetas:

Para el efecto se utilizaron 50 micropipetas con una tetina de goma, habiéndose numerado del 1 al 50. A continuación se calibraron para establecer cuál era el tamaño de la gota de cada pipeta. Para obtener mayor precisión se calibraron tres veces cada una habiéndose tomado el valor promedio. Esta práctica se realizó contando las gotas que constituían 2 ml en una probeta aforada. De lo anterior se obtuvo un factor de corrección para

cada micropipeta dividiendo los 2 ml dentro del número de gotas (ver apéndice 3)

Continuando con el procedimiento se colocaron las cajas con el medio BYMA en grupos de tres para cada dilución ( $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^8$  = 12 cajas). Previamente antes de sembrarlas se dividieron cada una de las cajas en su base en cuatro sectores, usando para ello un marcador de tinta (cada sector de la caja constituye en este método una repetición dentro de la misma dilución, lo que permite entonces cuatro réplicas por dilución (ver esquema).

La siembra se efectuó entonces en el sector correspondiente de cada caja con una sola gota de la pipeta aforada con la dilución escogida, dejándola caer desde una altura de 2.5 cm de tal manera que se extendiera sobre un área aproximada de 2 centímetros.

Efectuada la siembra se inoculó la bacteria poniendo la caja en posición invertida a 26-28°C durante 4 o 5 días, habiéndose efectuado los recuentos en las áreas de las gotas que mostraron la mayor cantidad de colonias claramente diferenciadas (no confluentes).

El promedio de los recuentos repetidos de una dilución da el recuento viable en el volumen de la gota calibrada que debió multiplicarse por el factor de corrección de cada pipeta a fin de obtener la cantidad de rizobios/gramo de inoculante.

#### 8. ANALISIS ESTADISTICO Y CRITERIOS DE EVALUACION:

Para la evaluación del presente trabajo se consideró la conveniencia de efectuar un análisis de Varianza que siguiera el modelo experimental aplicado, es decir, un análisis completamente al azar en cada fecha de conteo complementado con una interpretación gráfica de la respuesta de cada turba conforme transcurría el tiempo.



El análisis estadístico siguió el siguiente modelo:

$$Y_i = u + T_i + E_i$$

En donde:

$u$  = Efecto de la media general

$T_i$  = Efecto de la  $i$ -ésima modalidad del factor  $T$

$E_i$  = Efecto del error experimental asociado a la  $i$ -ésima unidad experimental.

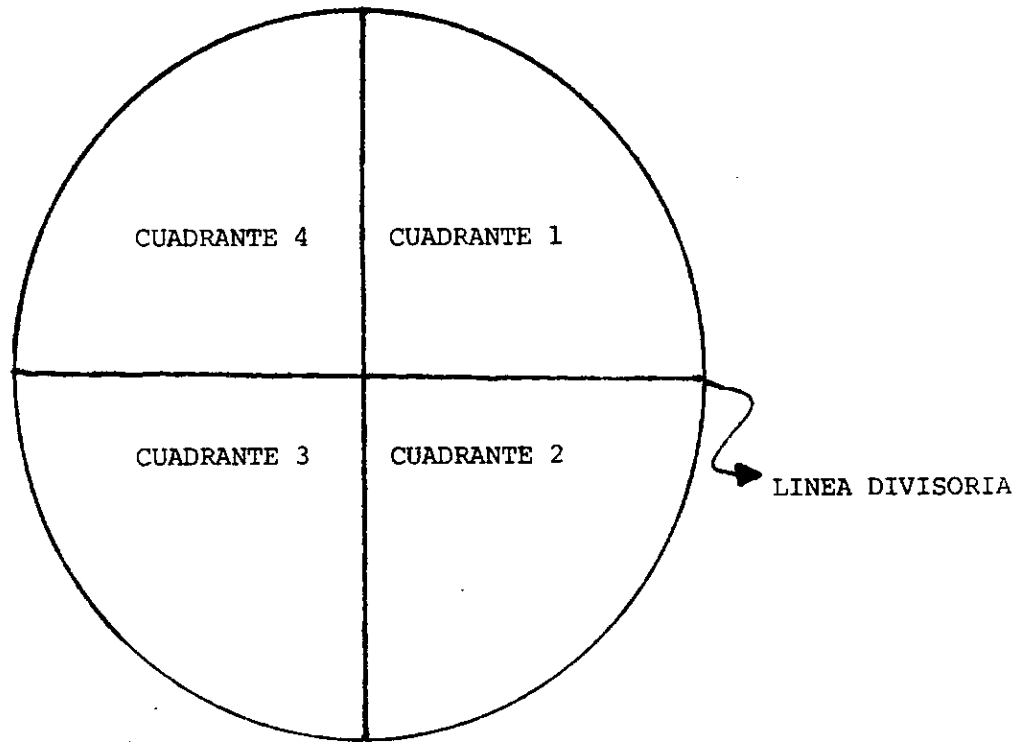
Por otro lado fué necesario establecer un criterio que definiera cuál debería ser el punto tope de los conteos de bacterias en cada inoculante y para ello se siguieron las normas internacionales de evaluación de inoculantes las cuales establecen como criterio lo expresado en la siguiente tabla:

Inoculantes pobres.....	$1 \times 10^7$
Inoculantes dudosos.....	$1 \times 10^8$
Inoculantes satisfactorios.....	$1 \times 10^9$
Inoculantes muy satisfactorios.....	$1 \times 10^9$ en adelante.

Tal como se expresó en el inciso anterior, en el momento que cualquiera de los materiales evaluados presenten a lo largo del tiempo una población igual o menor de  $1 \times 10^7$  rizobios/gramo/inoculante, dejará de ser considerado material de estudio y se podrá considerar como no utilizable.



FORMA DE IDENTIFICACION DE LA BASE DE CADA CAJA DE PETRI



## VI. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

El análisis y discusión de resultados de los soportes evaluados, tal como fué planificado, se desarrollará basándonos en tres puntos de apoyo:

- a. El análisis estadístico
- b. La representación gráfica y
- c. Las normas internacionales de evaluación.

El análisis estadístico no puede desligarse del análisis gráfico, ya que algunos aspectos no visibles con la Estadística, pueden verse claramente en un cuadro de gráficas.

El primer aspecto a considerar es el resultado de supervivencia de las bacterias en las seis fechas en que se efectuaron los conteos (16 de julio, 5 de agosto, 26 de agosto, 16 de septiembre, 6 de octubre y 26 de octubre). Puede notarse que en las fechas 5 de agosto y 16 de septiembre de conteos de rizobios, existieron diferencias significativas entre las turbas evaluadas no así en los conteos del 16 de julio y 26 de agosto en que aparentemente el número de rizobios en los sustratos fué estadísticamente igual (los análisis de los últimos dos conteos se presentan en el cuadro 3, dado que el número estuvo por debajo del límite inferior de supervivencia preestablecido). Los valores promedios ordenados de más a menos población en cada fecha y para cada soporte se presentan en el cuadro 3, así como en la gráfica 1 aparecen las tendencias de la población de rizobios en el tiempo, con estos elementos analizaremos y trataremos de interpretar lo sucedido en función de las características de los sustratos y la tendencia que tienen las bacterias en un soporte nuevo hasta que el mismo envejece.

En el primer conteo de rizobios efectuado y que fué realizado después del período de maduración (17 días) estadísticamente no existieron diferencias entre los diferentes soportes. En esta fecha y tal como lo manifestó la literatura se espera que las poblaciones de rizobios se incrementen

sobre el número inoculado, esta situación se presentó con tres de los diferentes soportes a excepción del suelo CAPELLANIA que en lugar de subir descendió, este comportamiento no se puede explicar claramente, aunque puede suponerse a un efecto de difícil adaptación de la bacteria, ya que en una fecha posterior subió la población mientras los otros soportes bajaban o se mantenían estables. Las causas pueden ser varias pero la más objetiva sería una escasa presencia de nutrientes y/o minerales básicos presentes en este suelo incapaces de soportar por mucho tiempo altas poblaciones de Rhizobium, ya que fué uno de los primeros en manifestar el descenso de su población por abajo de los límites establecidos.

En la segunda lectura las diferencias estadísticas que se marcaron establecieron dos grupos de soportes no bien diferenciados. El suelo CAPELLANIA después de un largo período de adaptación de la bacteria manifestó un rápido ascenso de la población y por un corto período superó a los soportes CHIANTLA, CHINIQUE y PURULHA, aunque este último fué estadísticamente igual.

El descenso inicial de la población de los substratos PURULHA, CHIANTLA y CHINIQUE después de sostener una alta población de rizobios, marcaron un agotamiento de los nutrientes presentes o bien condiciones de inapabilidad a una temperatura sostenida de 26°C y la disminución del porcentaje inicial de humedad del soporte, lo cual es frecuente que ocurra en condiciones reales de manejo en bodegas y venta de productos agrícolas en nuestro país.

En la tercera lectura (57 días después de la inoculación de soportes) la caída de la población de los cuatro soportes fué manifiesta y en esta fecha no existe ninguna diferencia entre uno y otro material estudiado.

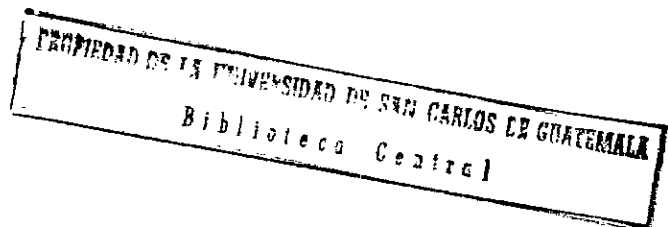
La lectura del día 16 de septiembre, 78 días después de la inoculación de los soportes se detectó que los soportes PURULHA y CAPELLANIA no mantuvieron su población (ver gráfica 1) más allá de los 57 días y que los soportes CHINIQUE y CHIANTLA aunque aún en descenso sostenían poblaciones arriba de  $1 \times 10^7$  rizobios.

.../...

En las siguientes lecturas efectuadas el 6 y 26 de octubre, sirvieron para establecer la tendencia de las curvas de caída y definir el punto límite de utilidad (en días) del soporte definiéndose que CHINIQUE y CHIANTLA pueden ser utilizados como soportes en condiciones adversas durante 77 y 78 días.

La hipótesis planteada establecía que los cuatro soportes constituyen un medio adecuado para la preparación de inoculantes, si consideramos que las normas internacionales para clasificación de inoculantes establecen que los materiales deben presentar como mínimo una población igual o menor de  $1 \times 10^7$  rizobios/gr/inoculante, se podrían plantear dos casos:

- a. Tener inoculantes útiles dentro de un período de 60 días, cuya hipótesis es válida para todos los soportes.
- b. Tener inoculantes útiles dentro de un período mayor de 60 días, cuya hipótesis se nulifica, ya que solo dos de los soportes evaluados sostienen su población arriba de  $1 \times 10^7$ .



Cuadro 3. Datos experimentales del conteo de rizobios en los diferentes soportes y en las diferentes fechas (Expresado en células/gramo de soporte).

SOPORTE	LECTURAS	R E P E T I C I O N		
		PRIMERA	SEGUNDA	TERCERA
Turba Purulhá Estéril	16 Jul.	$3.9625 \times 10^9$	$3.5995 \times 10^9$	$2.3701 \times 10^9$
	5 Ago.	$1.0529 \times 10^9$	$2.4450 \times 10^9$	$1.5256 \times 10^9$
	26 Ago.	$5.3740 \times 10^8$	$9.0600 \times 10^7$	$6.0460 \times 10^8$
	16 Sep.	0.0	0.0	0.0
	6 Oct.	0.0	0.0	0.0
	26 Oct.	0.0	0.0	0.0
Suelo Chinique Estéril	16 Jul.	$2.2162 \times 10^9$	$1.3827 \times 10^9$	$1.0227 \times 10^9$
	5 Ago.	$8.6860 \times 10^8$	$1.2203 \times 10^9$	$4.433 \times 10^8$
	26 Ago.	$1.7020 \times 10^8$	$7.2700 \times 10^7$	$3.9280 \times 10^8$
	16 Sep.	$4.1400 \times 10^7$	$5.0000 \times 10^6$	$4.1600 \times 10^7$
	6 Oct.	0.0	0.0	0.0
	26 Oct.	0.0	0.0	0.0
Suelo Chiantla Estéril	16 Jul.	$1.9539 \times 10^9$	$9.813 \times 10^8$	$1.3966 \times 10^9$
	5 Ago.	$1.1606 \times 10^9$	$1.0815 \times 10^9$	$1.3086 \times 10^9$
	26 Ago.	$3.5500 \times 10^8$	$2.8510 \times 10^8$	$1.8900 \times 10^8$
	16 Sep.	0.0	$4.4300 \times 10^7$	0.0
	6 Oct.	0.0	0.0	0.0
	26 Oct.	0.0	0.0	0.0
Suelo Chiantla Capellania Estéril	16 Jul.	$4.6450 \times 10^8$	$1.3670 \times 10^9$	$1.1050 \times 10^9$
	5 Ago.	$2.8049 \times 10^9$	$4.6300 \times 10^9$	$2.7320 \times 10^9$
	26 Ago.	$2.3840 \times 10^8$	$8.6700 \times 10^7$	$1.9800 \times 10^7$
	16 Sep.	0.0	0.0	0.0
	6 Oct.	0.0	0.0	0.0
	26 Oct.	0.0	0.0	0.0

Cuadro 4. Análisis de varianza de los datos de población de rizobios efectuados a las diferentes turbas en cada fecha de conteo.

PRIMER CONTEO DE FECHA 16 DE JULIO

F.V.	G.L.	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	SIGNIFIC.
Bloque	2	0.078613	0.039	0.186	0.8348
Tratam.	3	2.595703	0.865	4.100	0.0671 NS
Error	6	1.266113	0.211		
Total	11	3.940430			
COEFICIENTE DE VARIACION: 2.1705%					

SEGUNDO CONTEO DE FECHA 5 DE AGOSTO

F.V.	G.L.	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	SIGNIFIC.
Bloque	2	0.495117	0.243	2.527	0.1597
Tratam.	3	3.317383	1.106	11.286	0.0079 *
Error	6	0.587891	0.098		
Total	11	4.400391			
COEFICIENTE DE VARIACION: 1.4826%					

TERCER CONTEO DE FECHA 26 DE AGOSTO

F.V.	G.L.	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	SIGNIFIC.
Bloque	2	1.873535	0.937	1.092	0.3956
Tratam.	3	3.707520	1.236	1.440	0.3211 NS
Error	6	5.148438	0.858		
Total	11	10.729490			
COEFICIENTE DE VARIACION: 4.8739%					

CUARTO CONTEO DE FECHA 16 DE SEPTIEMBRE

F.V.	G.L.	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	SIGNIFIC.
Bloque	2	39.991210	19.996	0.707	0.5327
Tratam.	3	567.035600	189.012	6.685	0.0249 *
Error	6	169.653600	28.276		
Total	11	776,680500			
COEFICIENTE DE VARIACION: 93.6810%					

$\alpha = 0.05$

Cuadro 5. Valores promedios de población de rizobios obtenidos en diferentes fechas de conteos ordenados en forma descendente. (Expresados en células/gramo de soporte).

FECHA: 16 JULIO 1987

SOPORTE	PROMEDIO
Purulhá estéril	$3.3107 \times 10^9$
Chinique estéril	$1.5404 \times 10^9$
Chiantla estéril	$1.4439 \times 10^9$
Capellania estéril	$9.7880 \times 10^8$
NO HUBO SIGNIFICANCIA	

FECHA: 5 AGOSTO 1987

SOPORTE	PROMEDIO
Capellania esteril	$3.3889 \times 10^9$
Purulhá estéril	$1.6745 \times 10^9$
Chiantla estéril	$1.1835 \times 10^9$
Chinique estéril	$8.4400 \times 10^8$

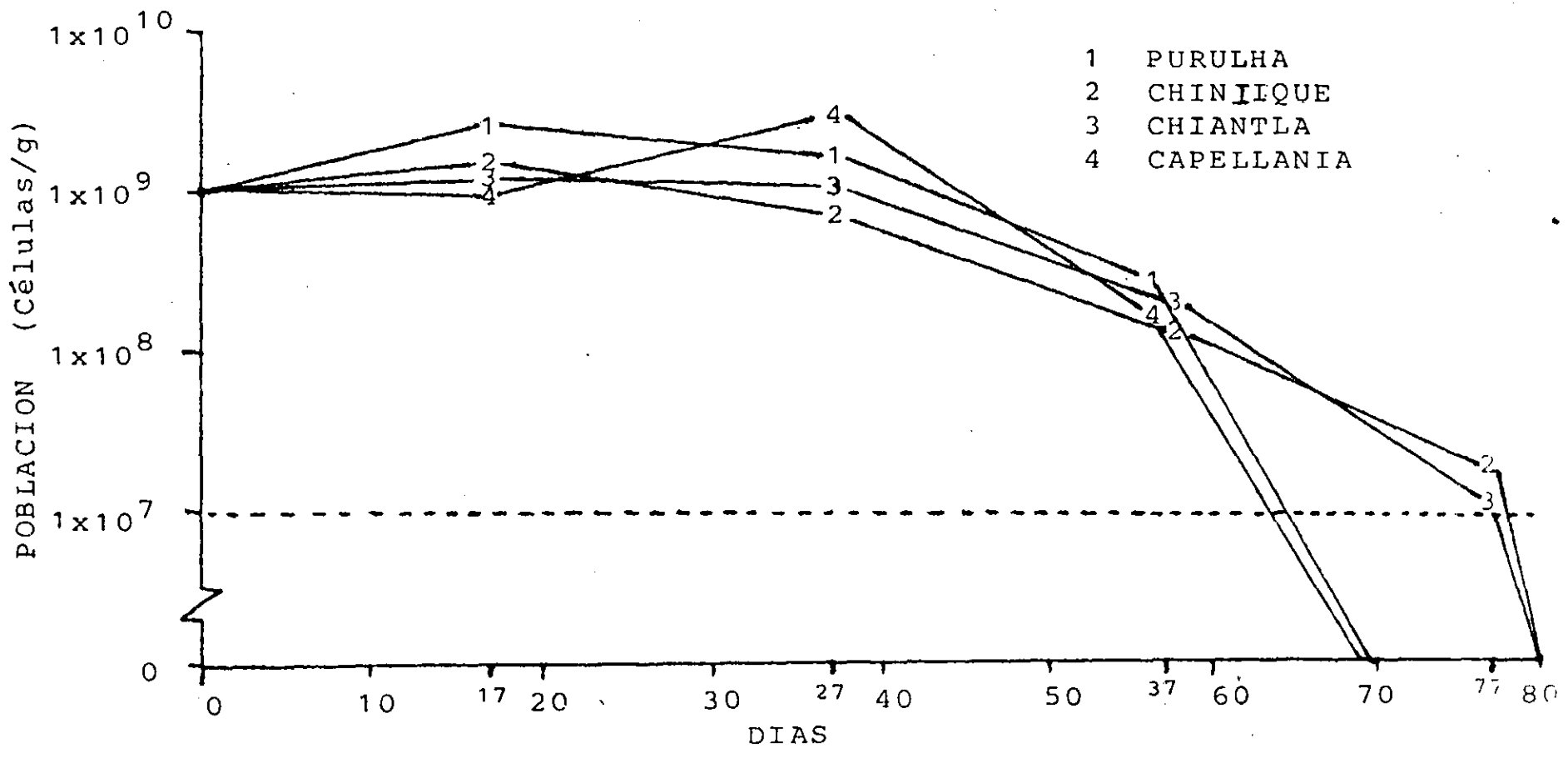
FECHA: 26 AGOSTO 1987

SOPORTE	PROMEDIO
Purulhá estéril	$4.1000 \times 10^8$
Chiantla estéril	$2.7600 \times 10^8$
Chinique estéril	$2.1100 \times 10^8$
Capellania estéril	$1.1400 \times 10^8$
NO HUBO SIGNIFICANCIA	

FECHA: 16 SEPTIEMBRE 1987

SOPORTE	PROMEDIO
Chinique estéril	$2.9300 \times 10^7$
Chiantla estéril	$1.4700 \times 10^7$
Capellania estéril	0.000
Purulhá estéril	0.000

Gráfica 1: Comportamiento gráfico de los soportes estériles evaluados.



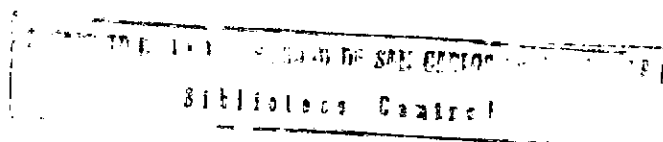


## VII. CONCLUSIONES

1. Se concluye que no todos los soportes esterilizados presentan las mismas cualidades, ya que PURULHA y CAPELLANIA solo mantuvieron poblaciones arriba de  $1 \times 10^7$  durante 64 días.
2. El rápido descenso de la población de rizobios en la mayoría de soportes, después de la maduración, puede tener como causa principal el rápido agotamiento de nutrientes de los sustratos provocado por una actividad bacteriana a 26°C, y la consecuente disminución del porcentaje de humedad del mismo.

### VIII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda la utilización de cualquiera de los sustratos evaluados en forma estéril, siempre y cuando no se exceda el tiempo de utilización por encima de las fechas en que las poblaciones de rizobios bajaron de  $1 \times 10^7$ .
2. Se considera que la conservación de los sustratos estériles a  $26^{\circ}\text{C}$ , refleja las condiciones que podría encontrar el producto en bodegas o expendios agrícolas en nuestro medio. Sin embargo, para fines de investigación se cree que los materiales pueden soportar las poblaciones más tiempo, por lo que se recomienda efectuar conteos periódicos en los soportes evaluados sometiendo éstos a temperaturas de  $4^{\circ}\text{C}$ , después de la maduración.




IX. BIBLIOGRAFIA

1. AGUILERA MEJIA, R.G. s.f. La fijación de nitrógeno atmosférico por Rhizobium, su importancia y alternativas para Guatemala. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 4 p. (Mimeo).
2. BALATTI, A.P. 1986. Nuevas perspectivas en la producción y uso de inoculantes. In Reuniao Latinoamericana sobre Rhizobium (12, 1986, Bra.). Anais. Brazil, Secretaría de Estado Dos Negocios da Agricultura e Abastecimento. p. 525-530.
3. \_\_\_\_\_. s.f. Producción de inoculantes. La Plata, Argentina, Centro de Investigaciones y Desarrollo de Fermentaciones Industriales. 115 p. (Mimeo).
4. BARRIENTOS, M. 1982. Experimentos factoriales. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 11 p.
5. BROSE, E. 1979. Importancia das leguminosas hospedeiras. Porto Alegre, Brasil, s.n. 11 p.
6. COCHRAN, W.; COX, G. 1975. Diseños experimentales. México, Trillas. 661 p.
- 6a. DEWIS, J.; FREITAS, F. 1984. Métodos físicos y químicos de análisis de suelos y aguas. Roma, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. p. 53.
7. LABANDERA, C. 1986. Producción y uso de inoculantes para leguminosas. In Reuniao Latinoamericana sobre Rhizobium (12, 1986, Bra.) Anais. Brazil, Secretaría de Estado Dos Negocios da Agricultura e Abastecimento. p. 502, 504-507.
8. MAZON M., M.P.; FERNANDEZ, G.J. 1976. Efecto de la radiación gamma sobre la conservación de tubérculos de papa durante el período de almacenamiento. Madrid, España, Junta de Energía Nuclear. p. 2-22.
9. MORA DE GONZALEZ, N. et al. 1986. Evaluación de algunos materiales con posibilidad de ser usados como soportes para inoculantes. In Reuniao Latinoamericana sobre Rhizobium (12, 1986, Bra.). Anais. Brazil, Secretaría de Estado Dos Negocios da Agricultura e Abastecimento. p. 15-16.
10. ORGANISMO INTERNACIONAL DE ENERGIA ATOMICA. 1984. Los isótopos en la vida cotidiana. Austria. p. 22-23.
11. REYES CASTAÑEDA, P. 1981. Diseño de experimentos aplicados. 2 ed. México, Trillas. 332 p.
12. SIMMONS, Ch.; TARANO, J.M.; PINTO, J.H. 1959. Clasificación de reconocimiento de los suelos de la república de Guatemala. Trad. Pedro Tirado Sulsona. Guatemala, José Pineda Ibarra. 1000 p.

13. VADES, M. 1986. Factores del suelo limitantes de la fijación biológica de nitrógeno. In Reuniao Latinoamericana sobre Rhizobium (12, 1986. Bra.). Anais. Brazil, Secretaría de Estado Dos Negocios da Agricultura e Abastecimiento. p. 557.
14. VIDOR, C. s.f. Estudios ecológicos de Rhizobium no solo. s.n.t.  
  
Presentado en: Curso Rápido sobre Tecnología de Rhizobium (1979, Porto Alegre, Bra.). s.n.t. p. 525-530.
15. VICENT, J.M. 1975. Manual práctico de rizobiología. Buenos Aires, Argentina, Hemisferio Sur. 200 p.

vo. Co.  
*Petrucci*



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS  
Facultad de Agronomía  
Centro de Documentación e Información Agrícola

X. A P E N D I C E

A P E N D I C E 1

EJEMPLO DE UN ESQUEMA DE DILUCION EN QUE SE ESPERAN APROXIMADAMENTE  $1 \times 10^9$  RHIZOBIOS VIABLES POR GRAMO DE TURBA:

Operación:

			DULICION OBTENIDA
- Tomar 1 gr de turba y colocarlo en el frasco (1) agitar el frasco (1)	(1)	99	$10^2$
- Usar pipeta (1) para tomar 1 cc del frasco (1) y pasarlo al frasco (2)	(2)	99	$10^4$
- Usar pipeta (2) para tomar 1 cc del frasco (2) a (3) agitar frasco (3)	(3)	9	$10^5$
- Usar pipeta (3) para tomar 1 cc de (3) a frasco (4)	(5)	9	$10^7$
- Usar pipeta (4) para mezclar			
- Retener la pipeta (5) para tomar 0.02 cc de (4) a frasco (5)	(5)	9	$10^7$
- Usar pipeta (6) para mexclar el contenido del frasco (5) y tomar aliquotas de $10^8$ para las cajas de Petril			

Ejemplo: Las series ilustradas en el cuadro anterior corresponden a una suspensión de la que se espera que contenga  $1 \times 10^9$  rizo- bios viables por gramo (Otras proporciones podrían requerir esquemas diferentes).

A P E N D I C E 2

MEDIO BYMA (BROCKWELL YEAST MANNITOL AGAR)

Los materiales empleados y el procedimiento de la preparación es el siguiente:

$K_2HPO_4$	10 grs/100 ml $H_2O$	Llamado solución P
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	4 grs/100 ml $H_2O$	Llamado solución Q
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	2 grs/100 ml $H_2O$	Llamado solución $R_1$
NaCl	4 grs/100 ml $H_2O$	Llamado solución $R_2$
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	1 gr /100 ml $H_2O$	Llamado solución D

Preparación del Extracto de Levadura:

Tome 600 grs de levadura y suspéndalo en 5400 mls de  $H_2O$  durante 1 hora, al haberse sedimentado se separará utilizando papel filtro. Se embotella en cantidades de 100 mls esterilizándose en el autoclave a 15 psi durante 15 minutos.

PREPARACION DEL MEDIO

Mannitoli	10 gramos
Solución P Q R	5 ML de cada una
Solución D	1 ML
Extracto de levadura	100 ML
Agar	20 gramos
Agua destilada	880 ML
Azul de bromotinol	5 ML
El Ph deberá estar comprendido entre 6.8 y 7.0	

Para preparar se suspende el Agar en 500 ml de  $H_2O$  y las soluciones

deberán previamente autoclavarse durante 15 minutos. Se agregan los ingredientes necesarios para ajustar el Ph a el rango requerido. Finalmente se esteriliza a 15 psi durante 15 minutos.



APENDICE 3

PIPETA No.	No. GOTAS PROM. X PIPETA	FACTOR CORRECCION
1	50	0.0400
2	89	0.0224
3	50	0.0400
4	56	0.0357
5	50	0.0400
6	66	0.0303
7	82	0.0243
8	62	0.0322
9	68	0.0294
10	60	0.0333
11	56	0.0357
12	63	0.0317
13	74	0.0270
14	60	0.0333
15	49	0.0408
16	59	0.0338
17	65	0.0307
18	56	0.0357
19	80	0.0250
20	50	0.0400
21	60	0.0333
22	60	0.0333
23	63	0.0317
24	59	0.0338
25	59	0.0338
26	60	0.0333
27	76	0.0263
28	59	0.0338
29	63	0.0317
30	57	0.0350
31	56	0.0357
32	62	0.0322
33	58	0.0344
34	40	0.0500
35	47	0.0425
36	49	0.0408
37	77	0.0259
38	52	0.0384
39	69	0.0289
40	66	0.0303
41	57	0.0350
42	55	0.0363
43	60	0.0333
44	80	0.0250
45	60	0.0333
46	62	0.0322
47	62	0.0322
48	53	0.0377
49	71	0.0281
50	54	0.0370

A P E N D I C E 4

CORRECCION DEL Ph DE LAS TURBAS TULIZANDO  $\text{CaCO}_3$  COMO NEUTRALIZANTE:

PURULHA

Grs $\text{CaCO}_3$	Ph
0.00	5.50
0.01	5.65
0.03	5.70
0.05	5.70
0.07	5.75
0.10	5.85
0.12	5.95
0.15	6.15
0.17	6.25
0.20	6.35
0.22	6.40
0.25	6.45
0.27	6.50
0.30	6.60
0.35	6.85
0.37	6.90
0.40	7.05

CHINIQUE

Grs $\text{CaCO}_3$	Ph
0.00	5.85
0.01	5.85
0.03	5.90
0.05	6.00
0.07	6.05
0.10	6.20
0.12	6.15
0.15	6.25
0.17	6.40
0.20	6.50
0.22	6.55
0.25	6.60
0.27	6.70
0.30	6.85
0.35	7.15

CHIANTLA

Gra $\text{CaCO}_3$	Ph
0.00	6.40
0.01	6.45
0.03	6.45
0.05	6.50
0.07	6.60
0.10	6.65
0.12	6.75
0.15	6.85
0.17	6.95
0.20	7.05

CAPELLANIA

Grs $\text{CaCO}_3$	Ph
0.00	6.20
0.01	6.35
0.03	6.50
0.05	6.55
0.07	6.60
0.10	6.60
0.12	6.60
0.15	6.65
0.17	6.80
0.20	6.85
0.22	6.95

A P E N D I C E 5

PRIMER CULTIVO

20 DE JULIO DE 1,987

		DILUCION																		
		CONTEO/GOTA PIPETAS PASTEUR																		
RE	PE	1 x 10 ex 5				1 x 10 ex 6				1 x 10 ex 7				1 x 10 ex 8						
	TI	Cuadrante				Cuadrante				Cuadrante				Cuadrante						
		MED				MED				MED				MED						
	ACION	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4			
PU	I	e	e	e	e	61	47	55	60	155.75	20	25	20	25	22.50	1	1	2	0	1.00
LA	II	e	e	e	e	53	-	60	59	157.33	15	15	16	20	16.50	0	2	0	3	1.25
ES	III	e	e	e	e	46	-	50	47	47.67	17	22	17	13	17.25	0	0	0	0	0.00
TE										153.58					18.75					0.75
IL																				
I	I	e	e	e	e	14	0	53	56	30.75	8	4	8	4	6.00	0	2	2	2	1.50
B:	II	e	e	e	e	54	-	47	44	48.33	8	4	4	6	5.50	0	0	0	2	0.50
ES	III	e	e	e	e	29	-	43	61	44.33	1	8	-	-	4.50	1	0	0	0	0.25
TE										41.14					5.33					0.75
IL																				
I	I	e	e	e	e	60	64	56	62	60.50	29	1	9	0	9.75	0	0	1	0	0.25
17:	II	e	e	e	e	34	8	0	17	14.75	5	7	3	12	6.75	0	0	0	0	0.00
ES	III	e	e	e	e	46	44	59	40	47.25	8	8	8	8	8.00	0	0	0	0	0.00
TE										40.83					8.17					0.08
IL																				
I	I	e	e	e	e	31	25	36	-	30.67	0	0	3	2	1.25	0	0	0	0	0.00
13:	II	e	e	e	e	22	17	20	31	22.50	4	4	3	2	3.25	3	0	0	0	0.75
ES	III	e	e	e	e	-	-	-	-	-	1	2	1	4	2.00	0	0	0	2	0.50
TE										26.58					2.16					0.41
IL																				

\*No se hicieron conteos de colonias por ser demasiadas

- No se contaron por haberse contaminado con otras bacterias

CUADRO No.4 RESULTADO DEL CONTEO DE RIZOBIOS (1er. LECTURA)  
EXPRESADO EN NUMERO DE CELULAS/CM<sup>3</sup> DE DILUCION

SOPORTE	REP.	1x10 <sup>5</sup>	1x10 <sup>6</sup>	1x10 <sup>7</sup>	1x10 <sup>8</sup>
PURULHA ESTERIL	I	-*-	2.0627x10 <sup>9</sup>	6.9750x10 <sup>9</sup>	2.8500x10 <sup>9</sup>
	II	-*-	2.1212x10 <sup>9</sup>	5.1150x10 <sup>9</sup>	3.5625x10 <sup>9</sup>
	III	-*-	1.7634x10 <sup>9</sup>	5.3470x10 <sup>9</sup>	0.0
	X	-*-	1.9824x10 <sup>9</sup>	5.8120x10 <sup>9</sup>	2.1375x10 <sup>9</sup>
CHINIQUE ESTERIL	I	-*-	0.7687x10 <sup>9</sup>	1.6800x10 <sup>9</sup>	4.200x10 <sup>9</sup>
	II	-*-	1.2082x10 <sup>9</sup>	1.5400x10 <sup>9</sup>	1.400x10 <sup>9</sup>
	III	-*-	1.1082x10 <sup>9</sup>	1.2600x10 <sup>9</sup>	0.7000x10 <sup>9</sup>
	X	-*-	1.0282x10 <sup>9</sup>	1.4929x10 <sup>9</sup>	2.1000x10 <sup>9</sup>
CHIANTLA ESTERIL	I	-*-	1.4217x10 <sup>9</sup>	3.7530x10 <sup>9</sup>	0.6870x10 <sup>9</sup>
	II	-*-	0.3460x10 <sup>9</sup>	2.5980x10 <sup>9</sup>	0.0
	III	-*-	1.1100x10 <sup>9</sup>	3.0800x10 <sup>9</sup>	0.0
	X	-*-	0.9595x10 <sup>9</sup>	3.1416x10 <sup>9</sup>	0.2200x10 <sup>9</sup>
CHIANTLA CAPELLA. ESTERIL	I	-X-	0.9500x10 <sup>9</sup>	0.4437x10 <sup>9</sup>	0.0
	II	-*-	0.6975x10 <sup>9</sup>	1.1537x10 <sup>9</sup>	2.2500x10 <sup>9</sup>
	III	-*-	-*-	0.7100x10 <sup>9</sup>	0.7100x10 <sup>9</sup>
	X	-*-	0.8239x10 <sup>9</sup>	0.7668x10 <sup>9</sup>	1.2300x10 <sup>9</sup>

-\*- No se contarón por haber demasiadas.

-\*- Se perdieron por contaminación.

A P E N D I C E 6

SEGUNDO CULTIVO

5 DE AGOSTO DE 1,987

DILUCION																				
CONTEO/GOTA PIPETAS PASTEUR																				
PE	1 x 10 ex 5				1 x 10 ex 6				1 x 10 ex 7				1 x 10 ex 8							
TI	Cuadrante				Cuadrante				Cuadrante				Cuadrante							
ICION	1	2	3	4	MED	1	2	3	4	MED	1	2	3	4	MED	1	2	3	4	MED
I	ε	ε	ε	ε		39	-	51	37	42.33	7	4	4	7	5.50	0	0	0	0	0.00
II	ε	ε	ε	ε		69	59	28	39	48.75	15	9	28	15	16.75	0	0	0	0	0.00
III	ε	ε	ε	ε		59	-	52	55	55.33	-	-	-	-	-	3	0	0	1	1.00
IRIL										48.81										0.33
I	ε	ε	ε	ε		39	-	34	-	36.50	-	8	4	5	5.67	0	0	0	0	0.00
II	ε	ε	ε	ε		74	37	74	58	65.75	5	8	5	8	6.50	0	0	0	0	0.00
III	ε	ε	ε	ε		55	10	26	99	47.50	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
IRIL										49.92										0.00
I	ε	ε	ε	ε		34	70	120	6	57.50	5	-	4	2	3.67	0	0	1	0	0.25
II	ε	ε	ε	ε		32	28	41	40	35.25	5	6	6	10	6.75	0	0	0	0	0.00
III	ε	ε	ε	ε		42	30	33	45	37.50	4	2	1	2	2.25	3	0	0	0	0.75
IRIL										43.42										0.33
I	ε	ε	ε	ε		71	65	-	64	66.67	16	17	22	17	18.00	1	0	1	0	0.50
II	ε	ε	ε	ε		95	84	91	76	86.50	35	25	20	20	25.00	1	0	2	3	1.50
III	ε	ε	ε	ε		62	-	63	56	60.33	22	29	14	17	20.50	1	0	0	0	0.25
IRIL										71.17										0.75

\*No se hicieron conteos de colonias por ser demasiadas

- No se contaron por haberse contaminado con otras bacterias

CUADRO No. 5 RESULTADO DEL CONTEO DE RIZOBIOS (2da. LECTURA)  
EXPRESADO EN NUMERO DE CELULAS/CM<sup>3</sup> DE DILUCION

SOPORTE	REP.	1x10 <sup>5</sup>	1x10 <sup>6</sup>	1x10 <sup>7</sup>	1x10 <sup>8</sup>
PURULHA ESTERIL	I	-*-	1.2064x10 <sup>9</sup>	1.9525x10 <sup>9</sup>	0.0
	II	-*-	1.3890x10 <sup>9</sup>	5.9460x10 <sup>9</sup>	0.0
	III	-*-	1.5769x10 <sup>9</sup>	0.0	3.0000x10 <sup>9</sup>
	X	-*-	1.3900x10 <sup>9</sup>	3.9470x10 <sup>9</sup>	0.0900x10 <sup>9</sup>
CHINIQUE ESTERIL	I	-*-	1.0220x10 <sup>9</sup>	1.5840x10 <sup>9</sup>	0.0
	II	-*-	1.8410x10 <sup>9</sup>	1.8200x10 <sup>9</sup>	0.0
	III	-*-	1.3300x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0
	X	-*-	1.3970x10 <sup>9</sup>	1.1340x10 <sup>9</sup>	0.0
CHIANTLA ESTERIL	I	-*-	1.4959x10 <sup>9</sup>	1.2620x10 <sup>9</sup>	0.7250x10 <sup>9</sup>
	II	-*-	0.9165x10 <sup>9</sup>	2.3280x10 <sup>9</sup>	0.0
	III	-*-	0.9750x10 <sup>9</sup>	0.7760x10 <sup>9</sup>	2.1750x10 <sup>9</sup>
	X	-*-	1.1286x10 <sup>9</sup>	1.4559x10 <sup>9</sup>	0.9570x10 <sup>9</sup>
CHIANTLA CAPELLA. ESTERIL	I	-*-	1.8998x10 <sup>9</sup>	5.0400x10 <sup>9</sup>	1.4750x10 <sup>9</sup>
	II	-*-	2.4650x10 <sup>9</sup>	7.0000x10 <sup>9</sup>	4.4250x10 <sup>9</sup>
	III	-*-	1.7190x10 <sup>9</sup>	5.7400x10 <sup>9</sup>	0.7370x10 <sup>9</sup>
	X	-*-	2.0280x10 <sup>9</sup>	5.9248x10 <sup>9</sup>	2.2100x10 <sup>9</sup>

-\*- No se contarón por haber demasiadas.

A P E N D I C E 7

TERCER CULTIVO

26 DE AGOSTO DE 1,987

		DILUCION																						
RE		CONTEO/GOTA PIPETAS PASTEUR																						
PE		1 x 10 ex 5					1 x 10 ex 6					1 x 10 ex 7					1 x 10 ex 8							
TI		Cuadrante					Cuadrante					Cuadrante					Cuadrante							
ACION		1	2	3	4		1	2	3	4		1	2	3	4		1	2	3	4				
		MED					MED					MED					MED							
1	1	*	*	*	*		-	70	66	28	54.67		0	-	-	-	0.00		0	0	0	0	0.00	
II	II	*	*	*	*		17	8	12	0	9.25		-	-	-	-	-		0	0	0	0	0.00	
III	III	*	*	*	*		80	89	35	42	61.50		0	0	0	0	0.00		0	0	0	0	0.00	
IV	IV										41.81						0.00						0.00	
1	I	80	89	78	65	78.00		9	5	11	9	8.50		0	0	1	1	0.50		0	0	0	0	0.00
II	II	61	82	-	62	68.33		0	0	0	11	2.75		0	0	0	0	0.00		0	0	0	0	0.00
III	III	15	60	80	78	58.25		20	5	15	22	15.50		3	0	5	2	2.50		0	0	0	0	0.00
IV	IV					68.19						8.92						1.00						0.00
1	I	15	25	48	36	31.00		7	16	8	9	10.00		0	0	3	0	0.75		0	0	0	0	0.00
II	II	54	81	68	59	65.50		21	22	25	60	32.00		0	0	0	0	0.00		0	0	0	0	0.00
III	III	-	-	-	-	-		14	7	2	1	6.00		3	2	0	1	1.50		0	0	0	0	0.00
IV	IV					48.25						16.00						0.75						0.00
1	I	65	82	50	78	68.75		19	5	55	13	23.00		0	0	0	0	0.00		0	0	0	0	0.00
II	II	30	-	-	-	30.00		8	7	5	12	8.00		0	0	0	0	0.00		0	0	0	0	0.00
III	III	-	-	-	-	-		1	6	0	0	1.75		0	0	0	0	0.00		0	0	0	0	0.00
IV	IV					49.38						10.92						0.00						0.00

\*No se hicieron conteos de colonias por ser demasiadas

- No se contaron por haberse contaminado con otras bacterias

CUADRO No. 6 RESULTADO DEL CONTEO DE RIZOBIOS (3er. LECTURA)  
EXPRESADO EN NUMERO DE CELULAS/CM<sup>3</sup> DE DILUCION

SOPORTE	REP.	1x10 <sup>5</sup>	1x10 <sup>6</sup>	1x10 <sup>7</sup>	1x10 <sup>8</sup>
PURULHA ESTERIL	I **	**	1.6124x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0
	II	**	0.2729x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0
	III	**	1.8140x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0
	X	**	1.2300x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0
CHINIQUE ESTERIL	I	0.2457x10 <sup>9</sup>	0.2337x10 <sup>9</sup>	0.1925x10 <sup>9</sup>	0.0
	II	0.2152x10 <sup>9</sup>	0.0756x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0
	III	0.1834x10 <sup>9</sup>	0.4260x10 <sup>9</sup>	0.9620x10 <sup>9</sup>	0.0
	X	0.2147	0.2450x10 <sup>9</sup>	0.3850x10 <sup>9</sup>	0.0
CHIANTLA ESTERIL	I	0.9300x10 <sup>9</sup>	0.2950x10 <sup>9</sup>	0.1950x10 <sup>9</sup>	0.0
	II	0.1965x10 <sup>9</sup>	0.9440x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0
	III	**	0.1770x10 <sup>9</sup>	0.3900x10 <sup>9</sup>	0.0
	X	0.1447x10 <sup>9</sup>	0.4720x10 <sup>9</sup>	0.1950x10 <sup>9</sup>	0.0
CHIANTLA CAPELLA. ESTERIL	I	0.1718x10 <sup>9</sup>	0.7820x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0
	II	0.0750x10 <sup>9</sup>	0.2720x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0
	III	**	0.0595x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0
	X	0.1234x10 <sup>9</sup>	0.3709x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0

\*\* - No se contarón por haber demasiadas

\*\*\* - Se perdieron por contaminación.



A P E N D I C E S

CUARTO CULTIVO

16 DE SEPTIEMBRE DE 1,987

DILUCION																					
CONTEO/GOTA PIPETAS PASTEUR																					
RE	1 x 10 ex 5					1 x 10 ex 6					1 x 10 ex 7					1 x 10 ex 8					
	Cuadrante				MED	Cuadrante				MED	Cuadrante				MED	Cuadrante				MED	
ACION	1	2	3	4		1	2	3	4		1	2	3	4		1	2	3	4		
PU	I	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
LA	II	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
ES	III	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
TE	IV					0.00					0.00					0.00					0.00
I	37	26	34	30	31.75	0	0	0	3	0.75	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
II	18	0	0	0	4.50	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
ES	III	25	30	34	31	1.00	1	1	1	1.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
TE	IV					12.42				0.58					0.00						0.00
I	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
II	0	0	0	0	0.00	6	0	0	7	3.25	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
ES	III	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
TE	IV					0.00				1.08					0.00						0.00
I	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
II	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
ES	III	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00
TE	IV					0.00				0.00					0.00						0.00

CUADRO No. 7 RESULTADO DEL CONTEO DE RIZOBIOS (4ta. LECTURA)  
EXPRESADO EN NUMERO DE CELULAS/CM<sup>3</sup> DE DILUCION

SOPORTE	REP.	1x10 <sup>5</sup>	1x10 <sup>6</sup>	1x10 <sup>7</sup>	1x10 <sup>8</sup>
PURULHA ESTERIL	I	0.0	0.0	0.0	0.0
	II	0.0	0.0	0.0	0.0
	III	0.0	0.0	0.0	0.0
	X	0.0	0.0	0.0	0.0
CHINIQUE ESTERIL	I	0.1412x10 <sup>9</sup>	0.0247x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0
	II	0.020x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0	0.0
	III	0.1335x10 <sup>9</sup>	0.0330x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0
	X	0.0982x10 <sup>9</sup>	0.0191x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0
CHIANTLA ESTERIL	I	0.0	0.0	0.0	0.0
	II	0.0	0.1330x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0
	III	0.0	0.0	0.0	0.0
	X	0.0	0.0442x10 <sup>9</sup>	0.0	0.0
CHIANTLA CAPELLA. ESTERIL	I	0.0	0.0	0.0	0.0
	II	0.0	0.0	0.0	0.0
	III	0.0	0.0	0.0	0.0
	X	0.0	0.0	0.0	0.0

A P E N D I C E 9

QUINTO CULTIVO

6 DE OCTUBRE DE 1,987

		DILUCION																			
RE		CONTEO/GOTA PIPETAS PASTEUR																			
PE	TI	1 x 10 ex 5				MED	1 x 10 ex 6				MED	1 x 10 ex 7				MED	1 x 10 ex 8				MED
		1	2	3	4		1	2	3	4		1	2	3	4		1	2	3	4	
16)	I	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
	II	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
	III	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
	IV					0.00					0.00					0.00					0.00
18)	I	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
	II	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
	III	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
	IV					0.00					0.00					0.00					0.00
17)	I	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
	II	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
	III	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
	IV					0.00					0.00					0.00					0.00
13)	I	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
	II	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
	III	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
	IV					0.00					0.00					0.00					0.00

CUADRO No. 8 RESULTADO DEL CONTEO DE RIZOBIOS (5ta. LECTURA)  
EXPRESADO EN NUMERO DE CELULAS/CM<sup>3</sup> DE DILUCION

SDPORTE	REP.	1x10 <sup>5</sup>	1x10 <sup>6</sup>	1x10 <sup>7</sup>	1x10 <sup>8</sup>
PURULHA ESTERIL	I	0.0	0.0	0.0	0.0
	II	0.0	0.0	0.0	0.0
	III	0.0	0.0	0.0	0.0
	X	0.0	0.0	0.0	0.0
CHINIQUE ESTERIL	I	0.0	0.0	0.0	0.0
	II	0.0	0.0	0.0	0.0
	III	0.0	0.0	0.0	0.0
	X	0.0	0.0	0.0	0.0
CHIANTLA ESTERIL	I	0.0	0.0	0.0	0.0
	II	0.0	0.0	0.0	0.0
	III	0.0	0.0	0.0	0.0
	X	0.0	0.0	0.0	0.0
CHIANTLA CAPELLA. ESTERIL	I	0.0	0.0	0.0	0.0
	II	0.0	0.0	0.0	0.0
	III	0.0	0.0	0.0	0.0
	X	0.0	0.0	0.0	0.0

A P E N D I C E 10

SEXTO CULTIVO

26 DE OCTUBRE DE 1,987

DILUCION																				
CONTEO/GOTA PIPETAS PASTEUR																				
1 x 10 ex 5					1 x 10 ex 6					1 x 10 ex 7					1 x 10 ex 8					
Cuadrante				MED	Cuadrante				MED	Cuadrante				MED	Cuadrante				MED	
1	2	3	4		1	2	3	4		1	2	3	4		1	2	3	4		
PU	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
LA	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
ES	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
TE					0.00					0.00					0.00					0.00
IRIL					0.00					0.00					0.00					0.00
I	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
8:																				
II	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
ES																				
TE	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
IRIL					0.00					0.00					0.00					0.00
I	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
7:																				
II	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
ES																				
TE	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
IRIL					0.00					0.00					0.00					0.00
I	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
6:																				
II	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
ES																				
TE	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0.00
IRIL					0.00					0.00					0.00					0.00

CUADRO No. 9 RESULTADO DEL CONTEO DE RIZOBIOS (6ta. LECTURA)  
EXPRESADO EN NUMERO DE CELULAS/CM<sup>3</sup> DE DILUCION

SOPORTE	REP.	1x10 <sup>5</sup>	1x10 <sup>6</sup>	1x10 <sup>7</sup>	1x10 <sup>8</sup>
PURULHA	I	0.0	0.0	0.0	0.0
ESTERIL	II	0.0	0.0	0.0	0.0
	III	0.0	0.0	0.0	0.0
	X	0.0	0.0	0.0	0.0
CHINTQUE	I	0.0	0.0	0.0	0.0
ESTERIL	II	0.0	0.0	0.0	0.0
	III	0.0	0.0	0.0	0.0
	X	0.0	0.0	0.0	0.0
CHIANTLA	I	0.0	0.0	0.0	0.0
ESTERIL	II	0.0	0.0	0.0	0.0
	III	0.0	0.0	0.0	0.0
	X	0.0	0.0	0.0	0.0
CHIANTLA	I	0.0	0.0	0.0	0.0
CAPELLA	II	0.0	0.0	0.0	0.0
ESTERIL	III	0.0	0.0	0.0	0.0
	X	0.0	0.0	0.0	0.0



Referencia  
Asunto 20 de julio de 1988

FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1645.

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

"IMPRIMASE"



ING. AGR. ANIBAL B. MARTINEZ M.  
DECANO

Biblioteca Central