

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE CIENCIAS



EFFECTO DE TRES HERBICIDAS EN DOS SISTEMAS DE  
LABRANZA SOBRE LA ASOCIACION SIMBIOTICA

Rhizobium phaseoli-Phaseolus vulgaris L

T E S I S

Que para obtener el Titulo de

B I O L O G O

P r e s e n t a

JOSE DAVID ALVAREZ SOLIS



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**CONTENIDO.**

	<b>Agradecimientos.....</b>	<b>2</b>
<b>I. -</b>	<b>Resumen.....</b>	<b>4</b>
<b>II. -</b>	<b>Introducción y objetivos... ..</b>	<b>6</b>
<b>III. -</b>	<b>Antecedentes.....</b>	<b>10</b>
<b>IV. -</b>	<b>Materiales y métodos.....</b>	<b>22</b>
<b>V. -</b>	<b>Resultados.....</b>	<b>27</b>
<b>VI. -</b>	<b>Discusión.....</b>	<b>38</b>
<b>VII. -</b>	<b>Conclusiones.....</b>	<b>43</b>
<b>VIII. -</b>	<b>Bibliografía.....</b>	<b>46</b>
	<b>Apéndices y cuadros de análisis de varianza... ..</b>	<b>52</b>

## AGRADECIMIENTOS

## AGRADECIMIENTOS.

Al M. en C. Moisés Cárdenas Alonso, por la orientación en la ejecución y presentación de este trabajo.

A la Microbiol. A. Belén Vesga C., por las facilidades y el apoyo brindado para la realización del presente trabajo.

Al Ing. Armando Tasistro, por su valiosa asesoría durante el desarrollo experimental de ésta investigación.

Al M. en C. Alfredo Echeagaray A., al M. en C. Carlos Aguilar Ortigosa, a la Biol. Patricia Fuentes Mata y al Dr. Jesús Manuel León Cázares, por su valiosa cooperación en la revisión del manuscrito.

A todos los que de una ú otra forma colaboraron en el desarrollo de éste trabajo y siempre estuvieron dispuestos a hacerlo.

## RESUMEN

## I. RESUMEN.

La evaluación de pesticidas sobre la relación Rhizobium-planta reviste gran importancia, debido al efecto que éstos pueden tener sobre la simbiosis. Por lo que el objetivo del presente trabajo fué: evaluar el efecto de tres mezclas de herbicidas (Linurón + Alaclor, Bentazona y EPTC + Paraquat) y dos sistemas de labranza (cero y mínima), sobre la relación Rhizobium-frijol. El trabajo experimental se realizó en campo, con un diseño de parcelas sub-divididas, utilizando las cepas de Rhizobium phaseoli FM-138 y FM-141. Los resultados indican que hubo poco o ningún efecto de los herbicidas probados sobre el número y el peso seco de los nódulos; mientras que el sistema de labranza mínima disminuyó considerablemente el peso seco de los nódulos. Respecto al peso seco de la raíz y de la parte aérea, se observó que el sistema de labranza cero y todos los tratamientos con herbicida tuvieron los valores más altos comparado con la labranza mínima y el testigo sin herbicida respectivamente. Así también respecto al peso seco de la parte aérea, las cepas FM-138 y FM-141 no difirieron significativamente del tratamiento con fertilizante nitrogenado ni del testigo, en el sistema de labranza cero; sin embargo en el sistema de labranza mínima, los valores más altos correspondieron al tratamiento con fertilizante nitrogenado. En cuanto al rendimiento de grano, se observó que cuando no se trató con herbicida, la cepa FM-141 tuvo los valores más altos respecto a las demás fuentes de nitrógeno y cuando se trató con herbicida, los valores mayores ocurrieron con la mezcla Linurón + Alaclor, mientras con los otros herbicidas ocurrió lo contrario.

## INTRODUCCION Y OBJETIVOS

## II. INTRODUCCION Y OBJETIVOS.

El nitrógeno es un elemento indispensable para el desarrollo de los seres vivos y se encuentra muy abundante en forma molecular,  $N_2$ , constituyendo el 79% de la atmósfera; pero para que pueda ser utilizado por las plantas y por consiguiente por los animales, es necesario transformarlo a formas asimilables. En la elaboración de los fertilizantes, ésto se realiza en plantas industriales, empleando altas cantidades de energía para alcanzar las condiciones adecuadas de temperatura y presión, 400 °C y 200 atmósferas (Proceso Haber-Bosch).

En la naturaleza existen microorganismos con un complejo enzimático, capaz de reducir el nitrógeno atmosférico y transformarlo a formas asimilables para los vegetales. A éste proceso se le llama Fijación Biológica de nitrógeno y puede ser realizado por microorganismos de vida libre o simbióticos. Se estima que aproximadamente sobre la tierra, la Fijación Biológica contribuye con 140 millones de toneladas métricas de nitrógeno anualmente, de los cuales el 80% es fijado por organismos simbióticos y el 20% por organismos de vida libre (Vance y Johnson, 1981).

De todas las asociaciones simbióticas funcionales, la fijación de nitrógeno ha sido más estudiada y mejor caracterizada en el sistema Rhizo — bium — leguminosas; en donde la bacteria forma nódulos en las raíces del hospedante, desde donde reduce el nitrógeno atmosférico y puede ser asimilado por la planta.

El desarrollo de una asociación efectiva entre la leguminosa y el Rhizobium, involucra interacciones específicas, en donde la eliminación o modificación de cualquiera de éstas interacciones, podría dar lugar a una asociación no efectiva (Dilworth, 1978; Nápoli, et al., 1978; Newcomb, 1978; Vincent, 1978; Gibson, 1981; Minchin, 1981; Vance y Johnson, 1981). De tal forma que las alteraciones en el medio ambiente, en el hospedante o en la bacteria, pueden causar fallas en la interacción planta-bacteria, ocasionando una baja en la eficiencia de la fijación de nitrógeno.

En éste sentido, la actividad del hombre sobre el medio ambiente edáfico, a través de la labranza, es decisiva sobre las características del suelo y directamente sobre el desarrollo de los microorganismos que habitan en él y en particular sobre las bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico.

Así también, en los últimos años (particularmente en los Estados Unidos de Norteamérica), el sistema de no-labranza ha tenido amplia aceptación (Harrold y Edwards, 1974). Sin embargo, se cuestiona la práctica de la no-labranza; en donde la maleza es controlada con herbicidas en lugar del método mecánico correspondiente al de la labranza (Williams, 1972), y el efecto que éstos pesticidas puedan tener sobre la microflora del suelo (Kecskés, 1972; Hamed y Salem, 1977; Ibrahim, et al., 1977).

Contemplando lo antes expuesto, se planteó el objetivo del presente trabajo, y consistió en evaluar el efecto de tres mezclas de herbicidas (Linurón + Alaclor, Bentazona + surfactante WF y EPTC + Paraquat) y

dos sistemas de labranza (cero y minima), sobre la relación Rhizobium-  
frijol.

## ANTECEDENTES

### III. - ANTECEDENTES.

El uso de las leguminosas como abono verde, fué reconocido desde la antigüedad por los griegos y romanos, quienes en sus escritos mencionan frecuentemente la utilización de cultivos específicos como alfalfa y lupino para mejorar la fertilidad del suelo. Fué hasta 1813 en que Sir Humphry Davy en su libro *Agricultural Chemistry*, indica la posibilidad de que el nitrógeno que se encuentra formando parte de la estructura orgánica del frijol y del chícharo, pueda ser derivado de la atmósfera. Posteriormente, Hellriegel y Wilfart a fines de 1880, citado por Vance y Johnson (1981), demostraron que los nódulos en las raíces de las plantas leguminosas eran debidos a la infección de bacterias y que éste era un proceso benéfico para la planta; en donde las bacterias dentro del nódulo fijan el nitrógeno atmosférico.

Los microorganismos responsables de la fijación de nitrógeno atmosférico en los nódulos de plantas leguminosas, fueron aislados por Beijerinck en 1888, citado por Waksman (1952). Sin embargo, Fred, Baldwin y McCoy (1932), citado por Waksman (1952), reclasifican a las bacterias formadoras de nódulos en las raíces de las leguminosas y con base en la asociación específica entre la bacteria y la planta hospedante, los dividen en siete grupos.

Dentro de la asociación Rhizobium—leguminosa, se ha observado que los miembros de las subfamilias Caesalpinoideae, Mimosoideae y Papilio-

noideae son capaces de formar asociaciones simbióticas funcionales.

Sin embargo, Parker (1968), citado por Postgate (1974), indica que la capacidad de nodulación difiere ámpliamente entre éstas tres subfamilias. Se encontró que de todas las especies estudiadas, el 90% de las Mimosoideae y Papilionoideae son capaces de nodular, en contraste de sólo un 23% de las Caesalpinoideae; que sugiere que la capacidad de nodular fué adquirida después de que las leguminosas se diferenciaron en tres subfamilias.

La mayoría de las investigaciones han sido realizadas en la subfamilia Papilionoideae, la cual contiene a las formas herbáceas de importancia económica. Dentro de las especies de ésta subfamilia se ha observado que generalmente existe una especificidad de invasión sobre la planta huésped y esto parece involucrar la interacción entre los componentes capsulares de la bacteria y las glucoproteínas producidas por el hospedante (Dazzo, 1978; Nápoli, et al., 1978; Broughton, 1978; Bawer y Bhuvaneshwari, 1980).

Los ensayos en campo que evalúan el potencial de la fijación de nitrógeno atmosférico por la asociación Rhizobium— leguminosa, han revelado la importancia que éste sistema tiene; debido a su potencial para reemplazar la fertilización química nitrogenada. Estos indican que algunas especies de Rhizobium en asociación con su planta huésped, son capaces de fijar de 150 a 300 y más kilogramos de nitrógeno por hectárea (Campbell, 1977; Doberciner y Campelo, 1977; Nutman, 1976, citado por Hamdi, 1980).

En nuestro país, el frijol común (Phaseolus vulgaris L.) es uno de los cultivos básicos en la agricultura, constituye la base de la alimentación del pueblo y dada la cantidad de hectáreas dedicadas a su siembra y al volumen de su consumo, ocupa el segundo lugar en importancia nacional (Crispín Medina, 1977). Sin embargo, la respuesta del cultivo del frijol a la inoculación con cepas de Rhizobium phaseoli es muy variable, llega en algunas ocasiones a ser nula. Esto puede ser debido, al fenómeno de competencia por los sitios nodulares y al desplazamiento entre las cepas introducidas y las nativas, éstas últimas tan abundantes en los suelos por el continuo cultivo que se ha hecho del frijol durante muchos años (Rojas, 1975). Además la asociación efectiva entre la bacteria y la planta hospedante, puede verse afectada por el pH del suelo (Hwan-E y Allen, 1980; Gareth y Morley, 1981), por suelos alcalinos y sódicos (Bhardwaj, 1975), presencia de fertilizantes nitrogenados en exceso (Munns, 1977), al mal uso que se le da al inoculante (Rojas, 1975), al tipo de suelo (Johnson y Means, 1964, citado por Rojas, 1975), además de otros factores como temperatura, humedad, luminosidad e intercambio de gases en el suelo.

Por otro lado, la actividad del hombre sobre el medio ambiente edáfico, a través de la labranza, es decisiva sobre las características del suelo y directamente sobre el desarrollo de los microorganismos que habitan en él y en particular sobre las bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico.

La labranza de los suelos agrícolas es una de las prácticas cultura-

les más antiguas, interpretada inicialmente como un medio de control de plagas y malezas y posteriormente relacionada con variaciones en el medio físico y químico del suelo y más aún con el comportamiento de los cultivos.

La variación del medio ambiente edáfico en relación con la labranza en la práctica agrícola, ha sido motivo de controversia entre los diferentes científicos que se han ocupado del estudio de ésta. Algunos autores consideran que la labranza tiene un efecto detrimental sobre las características del suelo, entre éstos se puede mencionar a Donahue (1971) citado por Bustamante (1976), quién indica que si bien la labranza tiene una influencia sobre el control de plagas y malezas, también destruye la estructura y reduce progresivamente la aereación del suelo. En éste mismo sentido, Bonner y Galston (1967), opinan que debido a que el proceso de agregación del suelo es principalmente biológico, depende en su mayor parte del desarrollo de microorganismos y raíces, la labranza somete al suelo a una serie de alteraciones que afectan negativamente la estructura del mismo y por consiguiente a los sistemas biológicos.

Contrario a lo anterior, Hall y Robinson (1953), citado por Bustamante (1976), indican que la finalidad de la labranza es el mejoramiento de la estructura del suelo; que aumenta inicialmente el espacio poroso del mismo y posteriormente lo desterrona y llega finalmente a lograr una buena cama para la siembra. También Tisdale y Nelson (1982), mencionan que la labranza del suelo produce una mayor aereación, que estimula más la

actividad microbiana y aumenta la velocidad de degradación de la materia orgánica.

En respuesta a la controversia del efecto de la labranza sobre las características del suelo, Donahue (1971), citado por Bustamante (1976), indica que la acción de la labranza es diferencial, dependiendo de la textura del suelo; por lo que su efecto como mejorador en suelos con textura gruesa puede ser muy reducido, puede ser lo contrario en suelos con textura fina. De igual forma Amemiya (1968), establece que los tratamientos de labranza varían en sus efectos, según la época y localidad.

Los ensayos en campo en que se compara la labranza convencional con la no-labranza sobre el rendimiento de los cultivos, también presentan resultados contradictorios; obtienen en algunos casos mejores resultados con la labranza convencional (Estes, 1972), en otros con la no-labranza (Harrold y Edwards, 1974) o bien sin diferencia entre ambos tratamientos (Moody, et al., 1961, citado por Bustamante, 1976).

El desarrollo de microorganismos en el medio ambiente edáfico, se encuentra sujeto a variaciones de pH, humedad, temperatura y aereación. Bustamante (1976), infiere que si se practica la labranza excesiva por un tiempo más o menos prolongado, dependiendo del tipo de suelo, podrá llegarse a generar capas compactadas que impedirán parcial o totalmente la percolación y por consiguiente disminuirá la humedad disponible en el suelo, incrementándose simultáneamente la evaporación. El efecto de la compactación del suelo sobre el crecimiento radicular, es negativo

para el desarrollo de ésta, posiblemente por el impedimento físico al avance de la raíz o bien a un efecto indirecto al disminuir la humedad del suelo (Flocker, et al., 1959, citado por Bustamante, 1976).

El efecto de la humedad del suelo sobre los rhizobia, ha sido evaluado por diferentes investigadores. Masterson y Mariet (1974), encontraron en un ensayo de inoculación con trébol, que la nodulación es afectada por la baja humedad del suelo. Esto fué comprobado por Abdel y Zaharan (1979) que trabajaron con Pisum sativum, Vicia faba, Glicine max y Vigna sinensis a las que sujetaron a "estress" de agua de diferente severidad durante tres semanas, concluyen que todos los niveles de stress de humedad afectaron la actividad reductora de acetileno. Así también, - Hunt, et al., (1981), al trabajar con soya encontraron que en condiciones de no irrigación, la inoculación parece inducir una respuesta negativa al crecimiento. Contrario a esto, Ahmed y Quilt (1980), indican que después de 10 semanas con stress de humedad, la deficiencia de humedad tuvo poco o ningún efecto sobre la nodulación y la actividad de la nitrogenasa de tales microorganismos en las plantas estudiadas.

Además de la compactación y humedad, la temperatura es otro de los principales componentes del ambiente de la raíz. Rosemberg (1964), citado por Bustamante (1976), menciona que la conductividad térmica del suelo se incrementa por la compactación que éste sufre. Se ha reportado que la formación de nódulos es altamente dependiente de la temperatura, el límite inferior de temperatura para la simbiosis es a su vez dependien

te de la planta hospedera y puede variar de acuerdo con la cepa de Rhizo-  
bium utilizada . Los límites para leguminosas de clima templado se en-  
cuentra de 7 a 10 °C hasta 30 °C y para especies de clima tropical o subtro-  
pical de 15 a 18 °C hasta 40 °C. Se observó que a altas temperaturas, ocu-  
rre una degeneración del tejido nodular y además puede ocasionar una des-  
naturalización de la enzima nitrogenasa, esencial para la fijación del nitró-  
geno.

Al contemplar lo expuesto, es posible inferir que la labranza tiene un  
efecto sobre la estructura del suelo, a largo o mediano plazo y benéfico o  
detrimental, dependiendo del tipo de suelo y de las condiciones climatoló-  
gicas presentes. Al modificar la estructura del suelo, se afecta la micro-  
flora que habita en él, inhibiendo el desarrollo de algunos microorganismos  
y facilitando el desarrollo de otros.

En los Estados Unidos de Norteamérica, el sistema de no-labranza, ha  
tenido amplia aceptación a partir de 1970. Las razones de ésta rápida  
aceptación son: incrementos en la producción, reducción de labor, así co-  
mo los requerimientos de energéticos y mejor manejo del agua sobre tie-  
rras lavadas (Harrold y Edwards, 1974). Además retiene los residuos del  
cultivo anterior sobre la superficie del suelo, de tal forma que reduce el  
riesgo de la erosión por el agua y el viento, comparado con los suelos some-  
tidos a laboreo (Riley, Coutts y Gowman, 1975). Sin embargo, mucha gen-  
te tiene fuerte interés en la calidad del medio ambiente y cuestionan la prác-  
tica de la no-labranza; en donde la maleza es controlada con herbicidas en

lugar del método mecánico correspondiente al de la labranza (Williams, 1972), y el efecto que éstos pesticidas puedan tener sobre la microflora del suelo.

Los herbicidas son compuestos orgánicos e inorgánicos, utilizados para controlar tipos de vegetación no deseables en un cultivo dado.

El primer herbicida utilizado fué arseniato de sodio, introducido como un esterilizando del suelo en 1900. Fué seguido por el clorato de sodio, aceite diesel y por el solvente de Stoddard, volátil pero áltamente fitotóxico. Actualmente la amplia variedad de herbicidas incluyen compuestos que pueden destruir prácticamente toda la vegetación presente y otros mas selectivos que afecta a un componente de la vegetación y tienen poca influencia sobre otros (Triplett, et al., 1975).

De manera general, la acción de los herbicidas sobre la vegetación, puede ser caracterizada en tres fases (Elliot, 1960, citado por Triplett, et al., 1975); primero una acción directa de los herbicidas que inhiben el crecimiento de las plantas susceptibles. Si los herbicidas son selectivos, las especies tolerantes continúan su crecimiento libre de la competencia de las especies susceptibles. En la segunda fase, los herbicidas persisten como residuos tóxicos en el suelo y las especies resistentes crecen utilizando el espacio disponible. Por último, en la tercera fase, las plantas debilitadas por el efecto del herbicida pueden ser eliminadas y las sobrevivientes crecen con fuerza hasta ocupar todo el espacio disponible.

Se ha evaluado el efecto de algunos herbicidas sobre el cultivo del fri-

jol, Crowley y Prendeville (1980), encontraron que el Linurón, la Prometrina, el Bromacil, la Azida de Sodio y el Dalapón, aumentan la permeabilidad celular de la hoja, 24 horas después del tratamiento; lo que ocurrió sin que se presentase necrosis foliar. El Glifosato, aumentó la permeabilidad celular de la hoja, a las 96 horas y esto se relacionó siempre con el daño visible, incluyendo el marchitamiento. El Paraquat a una concentración de  $10^{-5}$  M, aumentó la permeabilidad celular a las 48 horas, sin que hubiera daño aparente, pero a concentraciones mayores, la permeabilidad superior siempre se relacionó con efectos visibles. El Clorprofán, el Picloran y el 2,4-D, no alteraron la permeabilidad celular.

Deuber (1976), determinó el efecto del EPTC en la absorción de macronutrientes y el crecimiento de la planta de frijol, encontró que a dosis de 1, 2 ó 4 kg/ha de EPTC, éste no afectó el crecimiento del cultivo ni la absorción de macronutrientes. Pero a dosis de 8 y 16 kg de EPTC/ha, redujo el crecimiento de las plantas y la absorción de macronutrientes.

Respecto al efecto de los herbicidas sobre el crecimiento de Rhizobium, Ibrahim, et al., (1977) encontraron que los herbicidas Nitralin, Terbutol y Dimetil Clorotal, no inhibieron el crecimiento de Rh. leguminosarum, excepto a concentraciones de 10,000 ppm de ingrediente activo. Mientras que el Linurón y el DNBP, causaron inhibición a concentraciones bajas y no a concentraciones altas. En éste mismo ensayo, se evaluaron dos inoculantes frente a los mismos herbicidas en condiciones de invernadero, encontraron que solamente las altas dosis de Linurón y Nitralin muestra-

ron un efecto adverso sobre el crecimiento, nodulación y contenido de nitrógeno en las plantas. Las dosis bajas de éstos herbicidas y todas las dosis de los otros herbicidas, no tuvieron ningún efecto dañino, por el contrario, causaron una estimulación, especialmente en el peso seco de la raíz, nódulos y contenido de nitrógeno en las plantas. Así también, Hamed y Salem (1977), encontraron que el herbicida CIPC, a diferentes concentraciones, tuvo generalmente un efecto perjudicial sobre el crecimiento de las cepas de Rhizobium leguminosarum.

Kecskés (1972) estudió el efecto de 104 herbicidas sobre 26 cepas representativas de las seis especies del género Rhizobium, bajo condiciones de laboratorio. Sus resultados muestran que el Venzar y el Dactal no inhibieron el crecimiento del 50% de las cepas examinadas, el Aquatol G y el Embutor E el 64.6% y el Planavin el 68.4%. La mayoría de las cepas, más de la mitad, fueron fuertemente inhibidas por Basamid, Balan, Avadex, Bexone, Aretit, Atracil C y como resultado final establece que cerca de la mitad de los herbicidas examinados, no fueron tóxicos en ninguna de las 26 cepas estudiadas.

Tsuzuki, et al., en 1983 a y b, al trabajar con Phaseolus vulgaris L., evaluaron el efecto de nueve herbicidas sobre la relación Rhizobium-frijol en las variedades Canario 107 y Negro 150, bajo condiciones de invierno, observando que todos los herbicidas utilizados afectaron el número y peso seco de nódulos; dentro de éstos herbicidas, Alaclor, Dinoseb y Aclifluorfen fueron los que mostraron menor daño, mientras que EPTC y Tri-

fluralina tuvieron los efectos más adversos para la variedad Canario 107. Para la variedad Negro 150, solo la Pendimetalina no difirió significativamente del testigo sin herbicida, mientras que EPTC, Trifluralina, Alaclor, Prometrina, Metabenzthiazurón, Dinoseb, Bentazona y Acifluorfen si lo hicieron, afectaron negativamente el número de nódulos.

En una revisión Brown (1978), indica que EPTC y PCP, reducen el número de nódulos e inhiben la fijación de nitrógeno; mientras que Trifluralina, DMPA y DNOC no tienen efecto sobre la fijación de nitrógeno atmosférico por Rhizobium. Menciona también que el 2,4-D no afecta a las bacterias que habitan en los nódulos de las raíces de algunas leguminosas, pero si afecta la nodulación en Phaseolus vulgaris L.

## MATERIALES Y METODOS

#### IV. - MATERIALES Y METODOS.

El ensayo se realizó durante el ciclo agrícola primavera-verano en 1982, se estableció en el lote experimental San Martín 13, ubicado en la Universidad Autónoma de Chapingo, su clima se indica en el apéndice 1.

La semilla sembrada fué la de frijol común (Phaseolus vulgaris L.), variedad "Canario 107", con una densidad de siembra de 60 kg /ha.

Se utilizó el diseño experimental de parcelas sub-divididas con cuatro repeticiones, en el cual la parcela mayor correspondió a los sistemas de labranza (cero y mínima), las parcelas medianas a los tratamientos de herbicidas (Linurón + Alaclor, Bentazona + surfactante WF, EPTC + Paraquat y testigo sin herbicida) y las parcelas menores a las fuentes de nitrógeno (cepas de Rh. phaseoli FM-138 y FM-141; 40 kgs de N/ha como urea y testigo sin nitrógeno). En todos los casos se aplicaron al voléo 40 kgs de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> como superfosfato triple. El croquis del diseño experimental, en donde se indican las dimensiones de las parcelas y la disposición de los tratamientos, se señala en el apéndice 2.

El tratamiento con labranza cero, consistió en la aplicación de Glifosato + sulfato de amonio, 1.08 + 1.5 kg /ha respectivamente, luego de haber sembrado en líneas abiertas con una pala.

El tratamiento con labranza mínima, se realizó mediante el pasaje de un cultivador rotativo a 10 centímetros de profundidad, una semana antes de la siembra.

La dosis y época de aplicación de los herbicidas utilizados, se mencionan en el cuadro siguiente:

Dosis y época de aplicación de los herbicidas utilizados en el presente ensayo.

Herbicida	Dosis, producto comercial	Epoca de aplicación
Linurón	0.5 kg/ha	Preemergencia
+		
Alaclor	0.96 kg/ha	Preemergencia
Bentazona(*)	0.96 kg/ha	Postemergencia
EPTC	3.2 kg/ha	Diréctamente a la siembra sobre la línea
+		
Paraquat	0.2 kg/ha	Postemergente dirigida

(\*) El herbicida Bentazona, fué mezclado con surfactante WF al 0.3%.

El EPTC se aplicó utilizando un atomizador rotativo "Herbi", adaptado para aplicar el producto a chorro sobre la semilla. Todos los otros herbicidas fueron aplicados con una aspersora manual experimental de aire comprimido, con boquilla 8002 Tee Jef.

Los inoculantes de las cepas de Rhizobium phaseoli, FM-138 y FM-141, fueron preparados y aplicados a la semilla de acuerdo a Vincent (1970).

Se sembraron las cepas de Rhizobium phaseoli en caja de Petri, con medio agar-levadura-manitol (medio 79 de Fred y Waksman, apéndice 3), con rojo congo como indicador (Hahn, 1966), dejándose en incubación a 28 °C durante 48 horas. Posteriormente se verificó que las cepas estuvieran puras, por medio de observaciones al microscópio, y a partir de una colonia aislada se inocularon 300 ml del mismo medio líquido, contenidos en matraces Erlenmeyer de 500 ml de capacidad, dejándose en agitación a temperatura ambiente, durante 48 a 60 horas. Después de ese tiempo, se realizaron observaciones al microscópio para asegurar la pureza del cultivo y se determinó el número de rhizobia/ml, por el método de vaciado en placa.

Paralelo a la obtención del cultivo de Rhizobium phaseoli, se esterilizó la turba, molida a 200 mallas y neutralizada con 0.1% de  $\text{CaCO}_3$ , en un autoclave a 121 °C y 15 libras de presión, durante una hora. Enseguida, se mezcló el cultivo de Rhizobium con la turba estéril, en una proporción 1:1, peso-volumen; dejándose en maduración en una incubadora a 28 °C, durante una semana.

Posterior a la maduración del inoculante, se realizó la cuantificación del número de rhizobia/gramo de inoculante, por el método de vaciado en placa y se almacenó en refrigeración a 2 °C, hasta el momento de su uso. Resultó una población final de  $10 \times 10^7$  y  $38 \times 10^7$  rhizobia/gramo de inoculante para las cepas FM-138 y FM-141, respectivamente.

La dosis de inoculación fué de 350 gramos de inoculante en 60 kg

de semilla y la técnica de inoculación consistió en humedecer la semilla con agua corriente, se agregó posteriormente la cantidad de inoculante correspondiente, de tal forma que la semilla quedara cubierta por éste.

Al suelo en el que se estableció el experimento, se le determinó sus principales características físico-químicas, como: materia orgánica, pH, textura, contenido de N aprovechable y contenido de fósforo (apéndice 4).

Una vez establecido el ensayo, a los 45 días se tomaron muestras de cinco plantas de los surcos laterales de cada parcela, se trató al máximo de obtener la planta completa y no dañar la raíz.

Las plantas obtenidas fueron analizadas en cuanto a número total de nódulos presentes en la raíz, peso seco de los nódulos, peso seco de la raíz y peso seco de la parte aérea. Se obtuvo el peso seco mediante la desecación del material en un horno a 60 °C, durante 48 a 72 horas, hasta obtener peso constante.

Por último, al momento de la cosecha se obtuvo el rendimiento de grano en kg./ha, para cada una de las parcelas. Se utilizó para la evaluación de éste parámetro, las plantas de los tres surcos centrales (parcela útil).

Los resultados fueron procesados estadísticamente, con base en el análisis de varianza correspondiente al diseño experimental de parcelas sub-divididas; en donde el efecto de los tratamientos o interacciones entre tratamientos sobre el parámetro evaluado, mostraron diferencias significativas, se utilizó la prueba de rango múltiple de Duncan, para separar las medias con diferencias significativas entre sí.

## RESULTADOS

## V.- RESULTADOS.

Respecto al número de nódulos, los sistemas de labranza y los herbicidas no tuvieron ningún efecto significativo; aún cuando con el sistema de labranza cero se obtuvieron los valores más altos. El tratamiento con nitrógeno químico, afectó negativamente la nodulación en los dos sistemas de labranza, comparado con las otras fuentes de nitrógeno (Tabla I).

El peso seco de los nódulos fué significativamente mayor en la labranza cero, respecto a la labranza mínima. Todos los demás tratamientos, no tuvieron efecto significativo sobre éste parámetro evaluado; sin embargo, el tratamiento con nitrógeno químico respecto a las demás fuentes de nitrógeno y el tratamiento con Bentazona respecto a los demás tratamientos con herbicida, mostraron los valores mas bajos en peso seco de nódulos en ámbos sistemas de labranza (Tabla I).

El peso seco de la raíz fué afectado por la labranza mínima, en donde se obtuvieron los valores mas bajos comparado con la labranza cero. Así también, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos con herbicida y el testigo sin herbicida, corresponden los valores mas altos a los tratados con herbicida. No se detectaron diferencias significativas entre las fuentes de nitrógeno, respecto a éste parámetro evaluado (Tabla II).

El peso seco de la parte aérea fué significativamente mayor en la labranza cero, respecto a la labranza mínima. Así también, fué significativa

TABLA I. Número y peso seco de nódulos, por cinco plantas de frijol, para diferentes tratamientos de labranza, herbicidas y fuentes de nitrógeno.

Tratamiento	Nódulos	
	Número	Peso seco ( g )
<b>*LABRANZA</b>		
Cero	208.7 a (*)	0.214 a
Minima	174.2 a	0.091 b
<b>*HERBICIDA</b>		
Linurón + Alaclor	178.2 a	0.130 a
Bentazona	171.8 a	0.129 a
EPTC + Paraquat	219.8 a	0.176 a
Testigo	196.1 a	0.175 a
<b>*FUENTE DE NITROGENO</b>		
FM-138	215.4 a	0.168 a
FM 141	207.7 a	0.163 a
40 kgs de N (uréa)	145.7 b	0.109 a
Testigo	197.0 a	0.170 a

(\*) Los valores seguidos por la misma letra para cada parámetro evaluado y dentro de cada grupo de tratamientos, no difieren significativamente entre si, de acuerdo a la prueba de rango múltiple de Duncan (p 0.05).

TABLA II. Peso seco de raíz y parte aérea, por cinco plantas de frijol, para diferentes tratamientos de labranza, herbicidas y fuentes de nitrógeno.

Tratamiento	Peso seco de raíz ( g )	Peso seco de parte aérea ( g )
<b>*LABRANZA</b>		
Cero	2.065 a <sup>(*)</sup>	10.13 a
Mínima	1.436 b	6.95 b
<b>*HERBICIDA</b>		
Linurón + Alaclor	1.835 a	9.48 a
Bentazona	1.843 a	9.20 a
EPTC + Paraquat	1.774 a	8.36 ab
Testigo	1.551 b	7.14 b
<b>*FUENTE DE NITROGENO</b>		
FM-138	1.703 a	8.02 b
FM-141	1.716 a	7.58 b
40 kgs de N (uréa)	1.797 a	9.66 a
Testigo	1.787 a	8.91 ab

(\*) Los valores seguidos por la misma letra para cada parámetro evaluado y dentro de cada grupo de tratamientos, no difieren significativamente entre sí, de acuerdo a la prueba de rango múltiple de Duncan (p- 0.05).

tivamente mayor en los tratamientos con Linurón + Alaclor y Bentazona, respecto al testigo sin herbicida; mientras que el EPTC + Paraquat, no difirió significativamente ni del testigo sin herbicida ni de los otros tratamientos con herbicida (Tabla II).

Se detectó una interacción significativa para el peso seco de la parte aérea, entre el sistema de labranza y las fuentes de nitrógeno. Observándose que en el sistema de labranza cero, no existieron diferencias significativas entre las distintas fuentes de nitrógeno, mientras que en el sistema de labranza mínima el tratamiento con nitrógeno químico tuvo los valores más altos respecto a los tratamientos inoculados con Rhizobium phaseoli, cepas FM-138 y FM-141, aunque sin diferencia significativa con el testigo sin nitrógeno (Tabla III).

En cuanto al rendimiento de grano, se observaron diferencias altamente significativas entre los dos sistemas de labranza, corresponden los valores más altos al sistema de labranza cero. Respecto a los tratamientos con herbicidas y a las fuentes de nitrógeno, no se detectaron diferencias significativas; sin embargo, el tratamiento con Linurón + Alaclor y la cepa FM-141, tuvieron los valores más altos (Tabla IV).

El análisis estadístico reveló interacciones altamente significativas entre sistemas de labranza y herbicidas y entre herbicidas y fuentes de nitrógeno.

En el sistema de labranza cero, el tratamiento con Linurón + Alaclor, presentó los valores mayores, con significancia respecto a los otros tra-

TABLA III. Peso seco de la parte aérea, por cinco plantas de frijol, para la interacción entre los tratamientos de labranza y fuentes de nitrógeno.

SISTEMAS DE LABRANZA	FUENTES DE NITROGENO			
	FM-138	FM-141	40 kgs de N (uréa)	Testigo
Cero	10.0 a <sup>(*)</sup>	9.1 a	11.1 a	10.3 a
Mínima	6.0 b	6.1 b	8.3 a	7.5 ab

(\*) Los valores seguidos por la misma letra, dentro de cada sistema de labranza, no difieren significativamente entre sí de acuerdo a la prueba de rango múltiple de Duncan ( $p= 0.05$ ).

TABLA IV. Rendimiento de frijol ( kg /Ha ), para diferentes tratamientos de labranza, herbicidas y fuentes de nitrógeno.

Tratamiento	Rendimiento de grano ( kg /ha )
<b>*LABRANZA</b>	
Cero	441.5 a <sup>(*)</sup>
Mínima	243.8 b
<b>*HERBICIDA</b>	
Linurón + Alaclor	377.1 a
Bentazona	318.3 a
EPTC + Paraquat	337.5 a
Testigo	337.7 a
<b>*FUENTE DE NITROGENO</b>	
FM-138	312.9 a
FM-141	369.0 a
40 kgs. de N (uréa)	348.8 a
Testigo	339.9 a

(\*) Los valores seguidos por la misma letra, dentro de cada grupo de tratamientos, no difieren significativamente entre si de acuerdo a la prueba de rango múltiple de Duncan (p 0.05).

tamientos con herbicida. Mientras que en la labranza mínima, todos los tratamientos con herbicida no mostraron diferencias significativas comparadas con el testigo sin herbicida (Tabla V).

Además, siempre que no se utilizó herbicida, se obtuvo con la cepa FM-141, los valores más altos en cuanto a rendimiento de grano, respecto a las demás fuentes de nitrógeno; aunque sin significancia para el tratamiento con nitrógeno químico (Tabla VI.A). Sin embargo, cuando la cepa FM-141 se sometió al efecto de los herbicidas (Tabla VI.B), los valores más altos se obtuvieron al tratarse con Linurón + Alaclor, aunque sin diferencia del testigo sin herbicida. Mientras que los valores más bajos se obtuvieron al tratarse con los herbicidas Bentazona y EPTC + Paraquat, éstos últimos sin diferencia del testigo sin herbicida.

TABLA V. Rendimiento de frijol ( kg /ha ), para la interacción entre los tratamientos de labranza y herbicidas.

SISTEMAS DE LABRANZA	H E R B I C I D A S			
	Linurón + Alaclor	Bentazona	E P T C + Paraquat	Testigo
Cero	534.4 a <sup>(*)</sup>	402.1 b	438.3 b	387.1 b
Mínima	215.8 a	234.6 a	236.7 a	288.2 a

(\*) Los valores seguidos por la misma letra dentro de cada sistema de labranza, no difieren significativamente entre si, de acuerdo a la prueba de rango múltiple de Duncan (p= 0.05).

TABLA VI.A . Rendimiento de frijol ( kg /ha ), para la interacción entre los tratamientos de herbicidas y fuentes de nitrógeno.

HERBICIDAS	FUENTES DE NITROGENO			Testigo
	FM-138	FM-141	40 kgs de N (uréa)	
Linurón + Alaclor	317 a <sup>(*)</sup>	435 a	417 a	340 a
Bentazona	319 a	311 a	329 a	314 a
EPTC + Paraquat	328 a	315 a	297 a	410 a
Testigo	288 b	416 a	352 ab	296 b

(\*) Los valores seguidos por la misma letra dentro de cada herbicida, no difieren significativamente entre si de acuerdo a la prueba de rango múltiple de Duncan (p= 0.05).

TABLA VI.B . Rendimiento de frijol ( kg /ha ), para la interacción en  
tre los tratamientos de fuentes de nitrógeno y herbicidas.

FUENTES DE NITROGENO	H E R B I C I D A S			Testigo
	Linurón + Alaclor	Bentazona	E P T C + Paraquat	
FM-138	317 a <sup>(*)</sup>	319 a	328 a	288 a
FM-141	435 a	311 b	315 b	416 ab
40 kgs de N (uréa)	417 a	329 a	297 a	352 a
Testigo	340 a	314 a	410 a	296 a

(\*) Los valores seguidos por la misma letra, dentro de cada fuente de nitrógeno, no difieren significativamente entre si de acuerdo a la prueba de rango múltiple de Duncan ( p= 0.05).

## DISCUSSION

## VI. - DISCUSION.

Se puede observar que para la mayoría de los parámetros evaluados, existen marcadas diferencias entre los dos sistemas de labranza, ocupa los valores más altos el sistema de labranza cero. De acuerdo con Bustamante (1976), es posible que con la labranza mínima al ser removido el suelo, permita una mayor exposición de éste al sol, lo que puede provocar que el agua se evapore con más facilidad y que la humedad sea baja, comparado con la labranza cero, lo que afecta el desarrollo normal del cultivo.

Numerosos estudios (Masterson y Mariet, 1974; Abdel y Zahran, 1979; Hunt, et al., 1981), muestran la estrecha relación que existe entre la humedad del suelo y la nodulación en las leguminosas. Los efectos reportados parecen tener influencia sobre la sobrevivencia, multiplicación y migración de los rhizobia en el suelo o bien un efecto sobre la infección y el proceso de nodulación (Sprent, 1976). Para las condiciones establecidas en éste ensayo, es interesante notar que el número de nódulos es semejante en los dos sistemas de labranza, pero no así el peso seco de los mismos, lo que puede indicar que la infección ocurre con la misma magnitud en ambos sistemas de labranza, pero la calidad del nódulo puede ser afectada.

Los diferentes herbicidas utilizados, no mostraron un efecto significativo sobre el número y peso seco de los nódulos. Estos resultados son

contradictorios a los encontrados por Tsuzuki, et al., 1983 a y b, particularmente con el EPTC, Bentazona y Alaclor. Sin embargo, el efecto que éstos herbicidas puedan tener sobre los rhizobia, puede ser diferente en condiciones de invernadero a las condiciones de campo. La ausencia de efecto de los herbicidas sobre el número y peso seco de los nódulos, puede ser debido a la degradación de los pesticidas por la microflora del suelo o bien por los rhizobia del suelo, Hamdi y Tewfik (1970), citado por Ibrahim, et al., (1977), encontraron que el herbicida DNOC fué degradado por ciertas cepas de Rhizobium y Azotobacter.

Un problema asociado a la práctica de la inoculación, es la competencia con cepas nativas, las cuales por estar mejor adaptadas a las condiciones del suelo, compiten con mayor eficacia que las cepas introducidas en la infección de la planta hospedante. En éste ensayo, la población nativa de cepas de Rhizobium en el suelo, resultó ser alta, no se encontraron diferencias significativas entre el número y peso seco de los nódulos al comparar los tratamientos inoculados con el testigo sin inocular y sin; fertilizante nitrogenado; lo que puede indicar que las cepas nativas fueron tan efectivas como las cepas introducidas, especialmente en el proceso de infección y formación de nódulos. Sin embargo, como era de esperarse, el tratamiento con fertilizante nitrogenado, afectó severamente el número y peso seco de los nódulos.

Respecto al peso seco de la parte aérea, al no encontrar diferencias entre las fuentes de nitrógeno en el sistema de labranza cero, pero

si en la labranza mínima, se manifestó el efecto de la labranza sobre las cepas de Rhizobium, debido a que los valores más altos correspondieron al tratamiento con fertilizante nitrogenado; además en el sistema de labranza mínima, se obtuvo el menor peso seco de los nódulos.

Así también, en el rendimiento de grano se observó el efecto que la labranza puede tener en relación al control de malezas, debido a que en el sistema de labranza cero si existió respuesta significativa respecto a los herbicidas, pero en la labranza mínima no se observó diferencia significativa entre los tratamientos con herbicida y el testigo .

En la evaluación del rendimiento de grano, también se observó el efecto que los herbicidas pueden tener sobre la eficacia de las cepas de Rhizobium para incorporar nitrógeno a la planta, debido a que en los tratamientos con herbicida no se observaron diferencias significativas entre las fuentes de nitrógeno. Sin embargo, se observó que sin herbicida, la cepa FM-141 fué la que produjo mejores rendimientos, respecto a las otras fuentes de nitrógeno.

El efecto que los herbicidas tuvieron sobre las cepas de Rhizobium phaseoli (FM-138 y FM-141), fué diferente con cada una de ellas, especialmente en la capacidad para incorporar nitrógeno a la planta, evaluada por el rendimiento de grano. De tal forma que con la cepa FM-138, los herbicidas utilizados no tuvieron ningún efecto significativo. Sin embargo, con la cepa FM-141, los tratamientos

Bentazona y EPTC + Paraquat, tuvieron un efecto detrimente, debido a que el rendimiento de grano fué menor en éstos tratamientos comparado con la cepa FM-141 sin herbicida. Mientras que el tratamiento Linurón + Alaclor sobre la cepa FM-141, tuvo valores más altos que la cepa FM-141 sin herbicida.

## CONCLUSIONES

## VII.- CONCLUSIONES.

Para las condiciones establecidas en el presente ensayo, se concluye lo siguiente:

- El sistema de labranza cero, respecto a la labranza mínima, resultó ser el que tuvo los valores mas altos para los diferentes parámetros eva luados.
- Debido a que en ámbos sistemas de labranza el número de nódulos fué similar, mientras que el peso seco de los mismos fué menor en la labran za mínima; se concluye que la infección de las cepas de Rhizobium pha seoli (FM-138 y FM-141) hacia la planta de frijol común (Phaseolus vul garis L.) variedad "Canario 107", ocurre de igual forma en ambos sistemas de labranza, sin embargo la calidad del nódulo es afectada por el sistema de labranza mínima.
- Los herbicidas utilizados (Linurón + Alaclor, Bentazona y EPTC + Para quat), no afectaron el número y peso seco de los nódulos, de las cepas de Rhizobium phaseoli examinadas, en ambos sistemas de labranza.
- El tratamiento inoculado con la cepa FM-141 tuvo los valores mas altos en rendimiento de grano, comparado con las otras fuentes de nitróge no, cuando no se trató con herbicida.

—La cepa FM-141 fué afectada por los tratamientos Bentazona y EPTC + Paraquat, ocurriendo lo contrario con la mezcla Linurón + Alaclor, en rendimiento de grano.

—El estudio de evaluación y selección de cepas de Rhizobium y su comportamiento frente a pesticidas y sistemas de labranza, es fundamental para aprovechar al máximo la relación simbiótica Rhizobium — leguminosas.

## BIBLIOGRAFIA

## VII. BIBLIOGRAFIA.

- Abdel Wahab, A.M. and Zahran, H.N., 1979. The effects of water stress on  $N_2$  ( $C_2H_2$ )-fixation and growth of four legumes. *Agricultur (Heverlee)*, 28: 383-400.
- Ahmed, B. and Quilt, P., 1980. Effect of soil moisture stress on yield, nodulation and nitrogenase activity of *Macroptilium atropurpureum* cv. Siratro and *Desmodium intortum* cv. Greenleaf. *Plant Soil*, 57: 187-194.
- Amemiya, M., 1968. Tillage-soil water relations of corn as influenced by weather. *Agr. Jour.*, 60(5): 534-537.
- Bawer, W.D. and Bhuvaneshvari, 1980. The Possible Role of Lectins in legume-Rhizobium symbiosis and other Plant Microorganisms Interaction. En: Subba Rao (ed.). *Recent Advances in Biological Nitrogen Fixation*. Edward Arnold (Publishers), Great Britain.
- Bhardwaj, K.K.R., 1975. Survival and Symbiotic characteristics of *Rhizobium* in saline-alkali soils. *Plant and Soil*, 43: 377-385.
- Bonner, J. y Galston, 1967. *Principios de Fisiología Vegetal: Traducción al español por F. Portillo*. Sa. Ed. Aguilar, S. A., Madrid, España.
- Broughton, W.J., 1978. A review Control of Specificity in legume-Rhizobium Associations. *J. of Applied. Bacteriology*, 45: 165-194.
- Brown, A.W.A., 1978. *Ecology of Pesticides*. John Wiley and Sons, Inc. U.S.A.
- Bustamante Barrera, I.D., 1976. Influencia de diversos métodos de la branza sobre el rendimiento de dos variedades de alfalfa y la alteración del medio físico del suelo en la rotación maiz (*Zea mays* L.) alfalfa (*Medicago sativa* L.). Tesis de Maestro en Ciencias. Col. de Posgraduados. Chapingo, México.
- Campbell, R., 1977. *Microbial Ecology. Basic Microbiology. Volume 5*. Blakwell Scientific Publications. Oxford, London, Edinburgh, Melbourne, Great Britain.
- Crispín Medina, A., 1977. *El cultivo del frijol en México*. SARH, INIA.

Folleto de divulgación No. 53. México.

- Crowley, J., Prendeville, G.N., 1980. Effects of herbicides of different modes of action on leaf-cell membrane permeability in Phaseolus vulgaris. Can. J. of Plant Sci., 60 (2): 613-620.
- Dazzo, F.B., 1978. Determinants of Host Specificity in the Rhizobium-clover Symbiosis. En: William, E.N. and William, H. (ed.). Nitrogen Fixation. Volume II: Symbiotic Associations and Cyanobacteria. University Park Press. Baltimore, U.S.A.
- Deuber, R., 1976. Influencia do EPTC na absorcao e no teor de macronutrientes na cultura do feijao (Phaseolus vulgaris L.) var. Carioca. Tese Maestrado, Piracicaba-SP, Brasil, Escola Superior do Agricul-tura Luiz de Quiroz, da Universidade do Sao Paulo.
- Dilworth, J.M., 1978. Host and Rhizobium Contribution to the Physiology of legume nodules. En: William E.N. and William, H. (ed.). Nitrogen Fixation. Volume II: Symbiotic Associations and Cyanobacteria. University Park Press. Baltimore, U.S.A.
- Dobereiner, J. and Campelo, A.B., 1977. Importance of legumes and their Contribution to Tropical Agriculture. En: Hardy, R.W.F. and Gibson, A.H. (ed.). A treatise on Dinitrogen Fixation, section IV. John Wiley and Sons, Inc., N.Y.; Págs. 191-220.
- Estes, G.O., 1972. Elemental Composition of Maize Grown Under No-till and Conventional Tillage. Agr. Jour., 64 (6): 733-735.
- Gareth, J. D. and Morley, S.J., 1981. The effect of pH on host plant 'preference' for strain of Rhizobium trifolii using fluorescent ELISA for strain identification. Ann. Appl. Biol., 97: 183-190.
- Gibson, A.H., 1981. Host factors in legume Nodulation and Nitrogen Fixation. En: Alan, H. Gibson and William, E.N. (ed.). Current Perspectives in Nitrogen Fixation. Elsevier-North-Holland Biomedical Press. Amsterdam, N.Y., Oxford.
- Hahn, N.J., 1966. The congo red reaction in bacteria and its usefulness in the identification of rhizobia. Can. J. Microbiol., 12: 725-733.
- Hamdi, Y.A., 1980. Biological Nitrogen Fixation: its possibilities and limitations. Latin American Workshop on Organic Recycling. San José Costa Rica.

- Hamed, A.S. and Salem, S.A., 1977. Effect of some pesticides on the growth of Rhizobium leguminosarum in liquid culture media. En: Szegui, J. (ed.). Soil Biology and Conservation of the Biosphere. Akademiai Kiadó. Budapest, Hungary.
- Harrold, L.L. and Edwards, W.W., 1974. No-Tillage Systems Reduces Erosion from continuous Corn Watersheds. Transactions of the American Society of Agricultural Engineers, 17 (3): 414-416.
- Hunt, P.G., Wollum, A.G. and Matheny, T.A., 1981. Effects of soil water on Rhizobium japonicum infection, nitrogen accumulation and Yield in Bragg Soybeans. Agr. Jour., 73: 501- 505.
- Hwan-E, W.J. and Allen, J.R., 1980. Effect of pH on plant growth and nodulation of Cowpea. Soil Science and Plant analysis, 11 (11): 1077-1085.
- Ibrahim, A.N., Tewfik, M. S. and Salem, K.G., 1977. Symbiotic Nitrogen Fixation by broad bean and growth of Rhizobium leguminosarum strains as influenced by certain herbicides. En: Szegui, J. (ed.). Soil Biology and Conservation of the Biosphere. Akademiai Kiadó. Budapest, Hungary.
- Kecskés, M., 1972. A survey of herbicide sensitivity and resistance of rhizobia. Symp. Biol. Hung. 11: 405-415.
- Masterson, C.L. and Mariet, T.S., 1974. Selection of Rhizobium trifolii and Subterraneum clovers. R.J. Agric. Res. 13 (1): 91-99.
- Minchin, F.R., 1981. Physiological factors affecting Field Nodulation and Nitrogen Fixation. En: Alan, H.G., and William, E.N. (ed). Current Perspectives in Nitrogen Fixation. Elsevier-North-Holland Biomedical Press. Amsterdam, N. Y., Oxford.
- Munns, D.N., 1977. Mineral nutrition and the legume symbiosis. En: Hardy, R.W.F. and Gibson, A.H. (ed.). A treatise on Dinitrogen Fixation. section IV: Agronomy and Ecology. John Wiley and Sons. Inc. N. Y.
- Nápoli, C., Sanders, R., Carlson, R. and Albersheim, P., 1978. Host-symbiont Interactions: Recognizing Rhizobium. En: William, E.N. and William, H. (ed.). Nitrogen Fixation. Volume II: Symbiotic Associations and Cyanobacterias. University Park Press. Baltimore, U.S.A.; Págs. 189-203.
- Newcomb, W., 1978. Control of the morphogenesis and Differentiation

of Pea Root nodules. En: William, E.N. and William, H. (ed.). Nitrogen Fixation. Volume II: Symbiotic Associations and Cyanobacteria. University Park Press. Baltimore, U.S.A.; Págs. 87-101.

Postgate, J.R., 1974. Evolution within Nitrogen Fixing Systems. En: Society for General Microbiology (ed.). Twenty-fourth symposium of the Society for General Microbiology, held at Imperial College London. Cambridge University Press. Great Britain.

Riley, D., Coutts, J. and Gowman, A.M., 1975. Placement, mobility and plant uptake of nutrients in No-Tillage systems. Proceedings No-Tillage forage Symposium. Ohio State University and Ohio - Agricultural Research and Development Center.

Rojas, Castañeda, M.L., 1975. Relación simbiótica entre cinco cepas de inoculantes y tres variedades de frijol y su competencia con cepas nativas del suelo. Tesis profesional, Q.B.P. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N., México.

Sprent, J.I., 1976. Water deficits and nitrogen-fixing root nodules. En: Kozlowski, T.T. (ed.). Water Deficits and Plant Growth. Volume IV. Soil Water Measurement, Plant Responses and Breeding for Drought Resistance. Academic Press, New York, San Francisco, London.

Tisdale, S.L. y Nelson, W.L., 1982. Fertilidad de los suelos y fertilizantes. UTEHA, México.

Triplett, G.B., Van Keuren, R.W. and Watson, V.H., 1975. The Role of Herbicides on pasture renovation. Proceedings No-Tillage forage Symposium. Ohio State University and Ohio Agricultural Research and Development Center.

Tsuzuki, A.G., Tasistro, A., Fischer, A., Vesga, B., 1983. Efecto de nueve herbicidas en la simbiosis frijol (*Phaseolus vulgaris* L. "Negro 150") *Rhizobium phaseoli* bajo condiciones de invernadero. Segunda Reunión sobre Fijación Biológica del Nitrógeno. Chapingo, México.

Tsuzuki, A.G., Tasistro, A., Fischer, A., Vesga, B., 1983. Efecto de nueve herbicidas en la simbiosis frijol (*Phaseolus vulgaris* L. "Canario 107") *Rhizobium phaseoli* bajo condiciones de invernadero. Segunda Reunión sobre Fijación Biológica del Nitrógeno. Chapingo, México.

Vance, C.P. and Johnson, E.B., 1981. Nodulation: A plant Disease Pers-

pective. *Plant Disease*, 65(2): 118-124.

Vincent, J.M., 1970. A manual for the practical study of Root-Nodule bacteria. First Published I.B.P. Programme. E. Oxford.

Vincent, J.M., 1978. Factors Controlling the legume-Rhizobium symbiosis. En: William, E.N. and William, H. (ed.). Nitrogen Fixation. Volume II: Simbiotic Associations and Cianobacteria. University Park Press. Baltimore, U.S.A.; Págs. 103-129.

Waksman, S.A., 1952. *Soil Microbiology*. John Wiley and Sons, Inc., New York.

Williams, M.E., 1972. Agricultural chemicals pollution as affected by reduced tillage systems. *Proceedings No-Tillage Systems Symposium*. Ohio State University and Ohio Agricultural Research and Development Center.

APENDICES Y CUADROS DE ANALISIS  
DE VARIANZA

## Apéndice 1. Clima del lote experimental.

La zona en donde se realizó el ensayo está caracterizada por un clima semiseco, con una precipitación total anual de 574.6 mm, con lluvias en verano y una temperatura media de 16.6°C, que de acuerdo a la clasificación de Koppen modificada por Garcia (1973), corresponde a:

$B S_1 k w (i) g$ , siendo el significado de tal clave el siguiente:

- $B S_1$  - Semiseco, con una precipitación total anual de 574.6 mm, temperatura media anual de 16.6°C y un coeficiente P/T mayor de 22.9.
- $k$  - Templado, con verano cálido y temperatura media anual entre 12 y 18 °C, la del mes mas frío entre -3 y 18 °C y la del mes mas caliente mayor de 18°C.
- $w$  - Régimen de lluvias de verano; con un porcentaje de precipitación invernal respecto a la total anual entre 5 y 10.2.
- $(i)$  - Oscilación de temperaturas medias mensuales entre el mes más frío y el más caliente del año, entre 5 y 7 °C.
- $g$  - Mes más caliente del año, ántes de junio.

Continuación apéndice 1.

Temperaturas y precipitación promedio mensual, durante un tiempo de 10 años, 1974-1983, registradas en la Estación metereológica Chapingo, México. (Latitud 19° 30' Norte, Longitud 98° 51' Oeste, Altitud 2241 msnm.

---

Mes	Temperatura (°C)	Precipitación (mm)
Enero	13.4	12.1
Febrero	14.7	7.8
<b>Marzo</b>	17.6	15.3
Abril	18.9	26.9
Mayo	19.8	48.6
Junio	18.3	113.3
Julio	17.2	117.8
Agosto	17.2	90.4
Septiembre	16.7	87.7
Octubre	16.3	38.5
Noviembre	14.9	10.2
Diciembre	14.1	6.0

---

Apéndice 2. Diseño experimental de parcelas subdivididas, para evaluar el efecto de tres herbicidas y dos sistemas de labranza sobre la relación Rhizobium-frijol.

A) Clave de los tratamientos.

Herbicidas.

H-1 , Linurón + Alaclor

H-2 , Bentazona + surfactante WF

H-3 , EPTC + Paraquat

H-4 , Testigo sin herbicida.

Fuentes de nitrógeno.

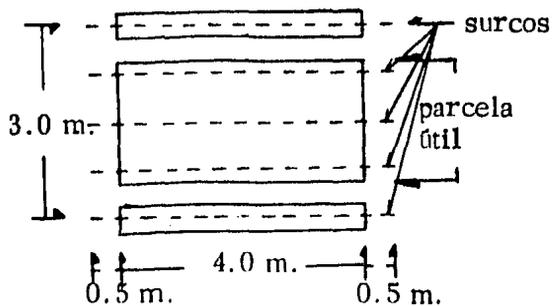
N-1 , Rhizobium phaseoli, cepa FM-138

N-2 , " " , cepa FM-142

N-3 , 40 kgs. de N/ha. (uréa).

N-4 , Testigo sin nitrógeno.

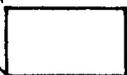
B) Dimensiones de la unidad experimental.



Continuación apéndice 2.

C) Distribución de los tratamientos.

LABRANZA MINIMA				LABRANZA CERO			
H-4/N-1	H-4/N-2	H-4/N-3	H-4/N-4	H-3/N-3	H-3/N-4	H-3/N-2	H-3/N-1
H-3/N-4	H-3/N-1	H-3/N-2	H-3/N-3	H-4/N-4	H-4/N-3	H-4/N-2	H-4/N-1
H-2/N-2	H-2/N-1	H-2/N-3	H-2/N-4	H-1/N-4	H-1/N-2	H-1/N-1	H-1/N-3
H-1/N-4	H-1/N-2	H-1/N-3	H-1/N-1	H-2/N-4	H-2/N-1	H-2/N-3	H-2/N-2
H-1/N-3	H-1/N-1	H-1/N-2	H-1/N-4	H-4/N-2	H-4/N-1	H-4/N-4	H-4/N-3
H-4/N-1	H-4/N-3	H-4/N-2	H-4/N-4	H-3/N-1	H-3/N-2	H-3/N-3	H-3/N-4
H-2/N-1	H-2/N-3	H-2/N-2	H-2/N-4	H-2/N-2	H-2/N-1	H-2/N-4	H-2/N-3
H-3/N-3	H-3/N-2	H-3/N-4	H-3/N-1	H-1/N-4	H-1/N-2	H-1/N-1	H-1/N-3
H-3/N-3	H-3/N-2	H-3/N-1	H-3/N-4	H-3/N-2	H-3/N-4	H-3/N-1	H-3/N-3
H-2/N-1	H-2/N-3	H-2/N-2	H-2/N-4	H-1/N-1	H-1/N-4	H-1/N-3	H-1/N-2
H-1/N-1	H-1/N-4	H-1/N-3	H-1/N-2	H-4/N-4	H-4/N-3	H-4/N-1	H-4/N-2
H-4/N-4	H-4/N-1	H-4/N-2	H-4/N-3	H-2/N-2	H-2/N-1	H-2/N-3	H-2/N-4
H-3/N-4	H-3/N-3	H-3/N-2	H-3/N-1	H-2/N-3	H-2/N-4	H-2/N-2	H-2/N-1
H-2/N-3	H-2/N-4	H-2/N-2	H-2/N-1	H-1/N-3	H-1/N-2	H-1/N-1	H-1/N-4
H-1/N-3	H-1/N-4	H-1/N-1	H-1/N-2	H-3/N-4	H-3/N-2	H-3/N-3	H-3/N-1
H-4/N-2	H-4/N-4	H-4/N-1	H-4/N-3	H-4/N-2	H-4/N-3	H-4/N-4	H-4/N-1



Unidad experimental.

Apéndice 3. Medio agar-levadura-manitol ( medio-79 de Fred y Waksman),  
Vincent (1970).

$K_2HPO_4$ .....	0.5 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ .....	0.2 g
NaCl.....	0.1 g
Extracto de levadura.....	4.0 g
Manitol.....	10.0 g
Agar .....	14.0 g
H <sub>2</sub> O destilada.....	1000.0 ml.
Rojo congo (0.25 % ).....	10.0 ml.

Apéndice 4. Determinación de las principales características físico-químicas del suelo bajo estudio.

A) Textura, por el método de Bouyoucos.

Se colocaron 70 g de suelo en un vaso de precipitados de 500 ml de capacidad, se le adicionó 60 ml de  $H_2O_2$  al 8% y se dejó secar en un horno. Una vez seco, se pesaron 50 g y se le adicionó 100 ml de hexametáfosfato sódico al 5%. Se dejó empapar durante la noche y posteriormente se pasó el suelo y la solución a la taza de un agitador mecánico, completando el volumen hasta 500 ml con agua destilada; se agitó durante 2 a 5 minutos y la suspensión del suelo dispersado, se pasó a un jarro hidrométrico, ajustando el volumen en el jarro hasta un litro con agua destilada. En seguida se tomaron las lecturas a los 40 segundos, 4 minutos, 1 hora y 2 horas.

Los resultados fueron: arena 48%, limo 24% y arcilla 28%.

Clasificación textural: migajón arcillo-arenoso.

B) Materia orgánica, por el método de Walkley y Black.

En un matraz Erlenmeyer se colocó 1 g de suelo tamizado, agregando posteriormente 20 ml de  $H_2SO_4$  concentrado y 10 ml de  $K_2Cr_2O_7$  1 N, se agitó y se puso a digerir durante 30 minutos sobre una placa de asbesto. Después se le agregó 20 ml de agua destilada, 10 ml. de  $H_3PO_4$  y 1 ml de difenilamina. Se tituló con  $FeSO_4 \cdot H_2O$  1 N, hasta que viró el

Continuación Apéndice 4.

color azul púrpura a verde. Los cálculos fueron los siguientes:

1 ml de  $K_2Cr_2O_7$  1 N = 3 mg de carbono (C).

$$\% \text{ de C} = \frac{\text{ml de } K_2Cr_2O_7 - \text{ml de } FeSO_4}{\text{g de suelo}} \cdot 0.003 \cdot 100$$

El resultado fué: 2.62 % de materia orgánica.

C) pH, mediante el uso de un potenciómetro.

Se pesaron 10 g de suelo y se colocaron en un vaso de precipitados de 100 ml de capacidad que contenía 20 ml de agua destilada, se agitó y se dejó reposar durante 30 minutos. Posteriormente se determinó el pH con el potenciómetro.

El resultado fué: pH = 6.8

D) Nitrógeno, calculado a partir del contenido de Materia orgánica.

El contenido de nitrógeno aprovechable se calculó a partir del contenido de materia orgánica, por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{kg de N aprovechable} = 25 \times \% \text{ de materia orgánica.}$$

El resultado fué: 66 kg de N aprovechable.

E) Fósforo ( $P_2O_5$ ), por el método de Olsen.

Se pesó 1 g de suelo, previamente secado al aire y tamizado, al

Continuación apéndice 4.

cual se agregó 20 ml de una solución de bicarbonato de sodio pH 8.2 0.5 N. Se agitó durante 30 minutos, después de ese tiempo se agregó 1 g de carbón activado y se dejó reposar durante media hora, posteriormente se filtró. A partir de la solución filtrada, se tomaron 5 ml y se pusieron a secar en un horno, en seguida se agregaron 5 gotas de una mezcla de  $\text{HNO}_3$  y  $\text{HCl}$ , 3:7 V:V, respectivamente e inmediatamente después se volvió a secar en un horno. Una vez que la muestra estuvo completamente seca, se le agregaron 2 gotas de  $\text{HCl}$  concentrado, llevando a sequedad. Se resuspende la muestra con agua destilada y la solución así obtenida, se filtró y la solución filtrada se le agregaron 5 ml de una solución con 5 ppm de fósforo ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ), se afora a 50 ml y se deja reposar por espacio de 30 minutos, al término de los cuales se efectuó la lectura en el espectrofotocolorímetro a 400 nm de longitud de onda. La lectura así obtenida se comparó con una escala previamente elaborada a partir de diferentes soluciones con una cantidad de P conocida.

Nota.- Las determinaciones físico-químicas del suelo bajo estudio antes mencionadas, fueron realizadas por el laboratorio de Edafología de Fertilizantes Mexicanos S.A., de acuerdo a Dewis J. y Freitas, F., 1970. Métodos físicos y químicos de análisis de suelos y aguas. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma.

Análisis de varianza de los datos del número de nódulos para diferentes tratamientos de labranza, herbicidas y fuentes de nitrógeno.

Fuente de variación	g.l.	S. C.	C. M.	F obs.	F req.
LxHxN parcelas (sub-subp.)	127	1456875.9			
LxH parcelas (subp.)	31	506893.6			
L parcelas (parc. princ.)	7	318033.9			
Bloques	3	233839.2	77946.4	5.08	9.28
Trat. de labranza (L)	1	38122.5	38122.5	2.48	10.13
Error (a)	3	46072.1	15357.4		
Trat. de herbicidas (H)	3	44334.7	14778.2	2.26	3.16
LxH	3	26896.1	8965.4	1.37	3.16
Error (b)	18	117628.8	6534.9		
Trat. fuentes de nitrógeno (N)	3	94845.8	31615.3	3.44	2.74 *
LxN	3	12642.9	4214.3	0.46	2.74
HxN	9	106905.4	11878.4	1.29	2.01
LxHxN	9	74055.5	8228.4	0.90	2.01
Error (c)	72	661532.6	9187.9		

\* Diferencias significativas, ( $p=0.05$ ).

Análisis de varianza de los datos de peso seco de nódulos para diferentes tratamientos de labranza, herbicidas y fuentes de nitrógeno.

Fuente de variación	g. l.	S. C.	C. M.	F obs.	F req.
LxHxN parcelas (sub-subp.)	127	2.9339			
LxH parcelas (subp.)	31	1.2974			
L parcelas (parc. princ.)	7	0.9909			
Bloques	3	0.4464	0.1488	7.12	9.28
Trat. de labranza (L)	1	0.4818	0.4818	23.05	10.13 *
Error (a)	3	0.0627	0.0209		
Trat. de herbicidas (H)	3	0.0675	0.0225	1.99	3.16
LxH	3	0.035	0.0117	1.04	3.16
Error (b)	18	0.204	0.0113		
Trat. Fuentes de nitrógeno (N)	3	0.0844	0.0281	1.87	2.74
LxN	3	0.0159	0.0053	0.35	2.74
HxN	9	0.2298	0.0255	1.7	2.01
LxHxN	9	0.2269	0.0252	1.68	2.01
Error (c)	72	1.0795	0.0150		

\* Diferencias significativas, ( $p = 0.05$ ).

Análisis de varianza de los datos de peso seco de la raíz para diferentes tratamientos de labranza, herbicidas y fuentes de nitrógeno.

Fuente de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	F req.
LxHxN parcelas (sub-subp.)	127	36.841			
LxH parcelas (subp.)	31	22.384			
L parcelas (parc. princ.)	7	16.234			
Bloques	3	1.264	0.421		
Trat. de labranza (L)	1	12.656	12.656	16.4	10.13 *
Error (a)	3	2.314	0.772		
Trat. de herbicidas (H)	3	1.799	0.599	3.72	3.16 *
LxH	3	1.447	0.483	2.99	3.16
Error (b)	18	2.902	0.161		
Trat. fuentes de nitrógeno (N)	3	0.2	0.067	0.43	2.74
LxN	3	0.217	0.072	0.46	2.74
HxN	9	1.706	0.189	1.2	2.01
LxHxN	9	1.11	0.123	0.79	2.01
Error (c)	72	11.224	0.156		

\* Diferencias significativas, (p 0.05).

Análisis de varianza de los datos de peso seco de la parte aérea para diferentes tratamientos de labranza, herbicidas y fuentes de nitrógeno.

Fuente de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	F req.
LxHxN parcelas (sub-subp.)	127	1688.01			
LxH parcelas (subp.)	31	922.08			
L parcelas (parc. princ.)	7	643.4			
Bloques	3	196.55	65.52	1.6	9.28
Trat. de Labranza (L)	1	323.66	323.66	7.88	10.13
Error (a)	3	123.19	41.06		
Trat. de Herbicidas (H)	3	106.34	35.45	5.36	5.09**
LxH	3	53.28	17.76	2.69	3.16
Error (b)	18	119.06	6.61		
Trat. Fuentes de nitrógeno (N)	3	80.27	26.76	3.74	2.74*
LxN	3	59.88	19.96	2.79	2.74*
HxN	9	43.93	4.88	0.68	2.01
LxHxN	9	67.29	7.48	1.05	2.01
Error (c)	72	514.56	7.15		

\* Diferencias significativas, (p= 0.05).

\*\* Diferencias altamente significativas, (p= 0.01).

Análisis de varianza de los datos de rendimiento de frijol (kg./ha.) para diferentes tratamientos de labranza, herbicidas y fuentes de nitrógeno.

Fuente de variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs.	F req.
LXHXN parcelas (sub-subp.)	127	3110799.8			
LxH parcelas (subp.)	31	1881666.0			
L parcelas (parc. princ.)	7	1312679.3			
Bloques	3	46601.8	15533.9	2.9	9.3
Trat. de Labranza (L)	1	1250373.5	1250373.5	238.9	34.1**
Error (a)	3	15704.0	5234.7		
Trat. de Herbicidas (H)	3	58457.5	19485.8	1.2	3.2
LxH	3	210267.8	70089.3	4.2	3.2*
Error (b)	18	300261.5	16681.2		
Trat. Fuentes de nitrógeno (N)	3	51853.4	17284.5	1.7	2.7
LxN	3	18721.7	6240.6	0.6	2.7
HxN	9	174348.8	19372.1	18.9	2.7**
LxHxN	9	255842.5	28426.9	2.8	2.7**
Error (c)	72	728367.4	10116.2		

\* Diferencias significativas, ( $p= 0.05$ ).

\*\* Diferencias altamente significativas, ( $p= 0.01$ ).