

61
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

"Efecto de diferentes dosis de fertilización fosfatada sobre la nodulación, fijación de nitrógeno y rendimiento en dos variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), en San Mateo Tequixquiac, Edo. de México."

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

INGENIERO AGRICOLA

P R E S E N T A :

MARIA DE LOURDES VAZQUEZ GUTIERREZ

Director de Tesis: M.C. Orlando de la Teja Angeles

Cuautitlán Izcalli, Méx,

1986



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.

C O N T E N I D O.

	Pág.
I.	INTRODUCCION..... 1
II.	OBJETIVOS..... 3
III.	REVISION DE LITERATURA..... 4
3.1.	IMPORTANCIA DE LA FIJACION DEL NITROGENO... 4
3.2.	NODULACION..... 7
3.2.1.	Proceso de la infección..... 7
3.2.2.	Mecanismos de formación de los nódulos..... 11
3.2.3.	Especificidad entre simbioses..... 13
3.3.	FACTORES QUE AFECTAN LA NODULACION..... 15
3.3.1.	pH del suelo..... 15
3.3.2.	Temperatura del suelo..... 16
3.3.3.	Temperatura y duración del día..... 17
3.3.4.	Aireación..... 19
3.3.5.	Humedad..... 19
3.3.6.	Factores biológicos..... 19
3.3.7.	Prácticas agronómicas..... 19
3.3.8.	Factores nutricionales..... 20
3.3.9.	Cepa nativa..... 22
3.3.10.	Fertilizantes..... 23
3.3.10.1.	Nitrogenados..... 23
3.3.10.2.	Fosforados..... 26
3.3.10.2.1.	Importancia del fósforo..... 26
3.4.	INOCULACION..... 30
3.4.1.	Importancia de la inoculación..... 30
3.4.2.	Problemas en la inoculación..... 32
3.4.3.	Tipos de inoculantes..... 37
3.5.	PARAMETROS A MEDIR..... 39

	Pág.
IV.	DATOS GENERALES DE LA ZONA DE ESTUDIO..... 40
4.1.	LOCALIZACION..... 40
4.2.	SUELO..... 42
4.3.	CLIMA..... 42
4.4.	VEGETACION..... 43
V.	MATERIALES Y METODOS..... 44
5.1.	CARACTERIZACION DEL SUELO..... 44
5.1.1.	Características físicas y químicas..... 44
5.2.	DESCRIPCION DEL EXPERIMENTO..... 45
5.2.1.	Preparación del terreno..... 50
5.2.2.	Preparación de la semilla e inoculación... 50
5.2.3.	Fertilización..... 51
5.2.4.	Siembra..... 51
5.2.5.	Manejo del cultivo..... 52
5.2.6.	Cosecha..... 52
5.2.7.	Descripción del cultivo..... 52
5.2.8.	Descripción de los parámetros a medir..... 54
5.3.	DESCRIPCION DEL DISEÑO EXPERIMENTAL..... 55
5.3.1.	Análisis estadístico..... 57
VI.	RESULTADOS..... 59
6.1.	ANALISIS DE SUELO..... 59
6.2.	RESULTADO DE LOS PARAMETROS MEDIDOS..... 61
6.3.	ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS..... 63
6.3.1.	Análisis de suelos..... 63
6.3.2.	Parámetros medidos..... 73
VII.	CONCLUSIONES..... 81
	BIBLIOGRAFIA 84
	APENDICE 94

INDICE DEL APENDICE.

Cuadro		Pág.
1	Análisis de varianza de "número de nódulos.....	95
2	Análisis de varianza "número de vainas"....	95
3	Análisis de varianza "rendimiento económico.	96
4	Análisis de varianza "tamaño de grano".....	96
5	Análisis de varianza "proteína en grano"...	97
6	Prueba de medias (DMS) "número de nódulos".	98
7	Prueba de medias (DMS) "número de vainas"..	99
8	Prueba de medias (DMS) "rendimiento económico".....	100
9	Prueba de medias (DMS) "peso de grano".....	101
10	Prueba de medias (DMS) "proteína en grano".	102

INTRODUCCION.

En México el frijol ocupa el segundo lugar de consumo después del maíz, constituyendo la principal fuente de proteínas para la gente de escasos recursos.

El aumento constante de población y la imposibilidad de abrir nuevas tierras al cultivo obliga a buscar formas de obtener una mayor producción por unidad de superficie.

El frijol como miembro de la familia de las leguminosas presenta la característica de fijar el nitrógeno atmosférico, lo cual se lleva a cabo mediante una simbiosis con bacterias del género Rhizobium, las que tienen la capacidad de infectar las raíces de las plantas, formar nódulos y trabajar simbióticamente con su huésped en la fijación biológica del nitrógeno atmosférico que de otra manera no podría ser utilizado por las plantas. Actualmente ésta práctica se lleva a cabo en varios países desarrollados; y se realiza en algunas leguminosas de importancia económica, principalmente en soya, alfalfa, cacahuete y frijol con objeto de promover la formación de nódulos y conseguir un buen rendimiento a un menor costo. A la práctica de adicionar las bacterias a la semilla ó al suelo se le llama inoculación.

En México, la inoculación es casi desconocida por la mayoría de los agricultores y solamente se practica en algunas áreas del país; principalmente donde se presenta una

tecnología avanzada y, en especial en el cultivo de la soya.

Para que la inoculación sea un éxito, no depende de inocular solamente, sino que es necesario que se presenten algunas condiciones como: Usar la cepa o inoculante compatible con la variedad de frijol; así como el control de algunos factores internos y externos entre los que se pueden mencionar: pH y temperatura del suelo; temperatura y duración del día; aireación, humedad, presencia de otros microorganismos; algunas prácticas agronómicas, así como algunos factores nutricionales, como nitrógeno, molibdeno, calcio y fósforo entre otros.

Es por esto que, después de consultar algunos trabajos sobre la respuesta de algunas leguminosas a la inoculación, y en los cuales se menciona, sin llegar a ponerse de acuerdo (los autores de éstos), la importancia del papel del fósforo en el proceso de formación de los nódulos fijadores y de la fijación biológica en general. Es aquí donde surgió la inquietud de diseñar un trabajo de tesis que contribuirá a comprobar si hay o no influencia del fósforo, en el proceso de nodulación y en que medida, y mediante la observación de algunos parámetros estimar si éste afecta el rendimiento económico, que en último caso, es lo que viene a interesar al agricultor.

Se pensó en utilizar al frijol porque, como ya se indicó, es uno de los cultivos básicos en la alimentación del mexicano y es producido en gran parte en zonas temporales del país; la inoculación se presenta como una alternativa a

la fertilización nitrogenada a costo más bajo que los fertilizantes completos (N-P-K), además que como éstos son derivados del petróleo su costo es cada vez mayor y en muchas ocasiones no están al alcance de los agricultores mexicanos; la inoculación representa, por lo tanto, un gran potencial para la obtención de alimentos a bajo costo.

Se pretendía además observar el comportamiento de dos variedades de frijol (Phaseolus vulgaris L.) con diferentes niveles de fósforo al ser inoculadas con un producto comercial; con el objeto de que pudiera ser usado por los agricultores de la zona en caso de que los resultados fueran buenos; así como observar si había o no cepa nativa.

OBJETIVOS.

- 1.- Determinar el efecto de la fertilización fosfatada en el proceso de la nodulación de Rhizobium phaseoli; la fijación del nitrógeno y el rendimiento en las variedades de frijol Bayo y Negro.
- 2.- Ayudar a incrementar el rendimiento del cultivo de frijol, en la zona de San Mateo Tequixquiac, Edo. de México.

III. REVISION DE LITERATURA

3.1. IMPORTANCIA DE LA FIJACION DEL NITROGENO

El nitrógeno es un elemento indispensable para toda forma de vida, debido a que es el constituyente principal de las proteínas. La presencia del nitrógeno en el suelo en formas químicas asimilables para las plantas (nitríca y amoniacal) generalmente se ve restringido, mientras que el aire contiene cerca de 80 % de éste elemento.

Debido a que el nitrógeno (N_2) en su estado natural gaseoso es una molécula inerte y de las más estables que se conocen, muy difícilmente se puede usar en forma directa, por lo cual es muy importante para la vida las transformaciones de éste a formas que las plantas puedan utilizar, ya que como se sabe, las plantas son parte de los primeros eslabones de la cadena alimenticia.

Al proceso de transformación de la estructura molecular del nitrógeno, que incluye el rompimiento de su molécula y su posterior reacción con hidrógeno para la formación en primer lugar del amoníaco y en forma subsecuente de otras moléculas nitrogenadas se le denomina fijación de nitrógeno.

Cuando dicho proceso es realizado por diferentes microorganismos que poseen en su estructura un complejo sistema enzimático capaz de transformar el nitrógeno molecular a formas asimilables por las plantas superiores, bajo ciertas

condiciones, se le conoce como fijación biológica del nitrógeno.

La capacidad de utilizar y fijar el gas nitrógeno (N_2) como fuente única es muy restringida, ninguna planta superior ha desarrollado la capacidad de fijarlo por sí misma.

Entre los microorganismos de vida libre que efectúan este proceso se menciona a las bacterias Clostridium, Azotobacter y Beijerinckia, y también a las algas verde-azules entre los primeros fijadores de nitrógeno.

Por otra parte existen microorganismos simbiotes que se asocian con los vegetales superiores y que pueden realizar la fijación de una manera muy activa; la fijación de nitrógeno simbiótico se observa principalmente entre las leguminosas y las bacterias del género Rhizobium (spp.) como por ejemplo R. azospirillum, R. phaseoli, R. trifolii, etc. (95).

Las bacterias simbióticas se establecen en el sistema de raíces y conforman nódulos en los cuales transforman el nitrógeno atmosférico a las formas químicas utilizables por las leguminosas (como el frijol), para su crecimiento y producción (Orozco citado por 40).

La planta forma los nódulos y suministra glúcidos y energía a las bacterias mediante la fotosíntesis, la bacteria aporta hidrógeno sobre el nitrógeno del aire para formar el gas amoníaco (NH_3) el cual pasa a través del xilema de las

hojas donde se utiliza para sintetizar los aminoácidos y las proteínas (43).

En el proceso de fijación biológica de nitrógeno, el Nitrógeno es reducido a amoníaco y éste es convertido a la forma orgánica (14).

El nitrógeno fijado puede ser:

- 1.- Aprovechado por la planta hospedero
- 2.- Usado por plantas no leguminosas que crecen en estrecha relación con las leguminosas
- 3.- Aprovechado por el cultivo siguiente cuando el nitrógeno queda en el suelo después de la muerte y descomposición de los nódulos (11)

Se tiene conocimiento que la cantidad de nitrógeno fijado varía según la especie de leguminosa de que se trate, Erdman citado por (26), menciona la cantidad de nitrógeno fijado en algunas leguminosas (Cuadro 1).

Como se puede observar y de acuerdo con (51 y 72); en términos generales, la contribución de la fijación simbiótica en frijol es muy Baja. (71) Dice que el frijol fija 44 kg/ha de nitrógeno, y esto aún está determinado por los diferentes genotipos de frijol, los cuales presentan una gran variación; por ejemplo los de tipo indeterminado no fijan más de 40 kg de N/ha, por ciclo.

Cuadro 1. Cantidad de nitrógeno fijado kg/ha, en algunas leguminosas.

Leguminosa	Nitrógeno fijado kg/ha
Trébol ladino	224
Lupino azul	208
Trébol rojo	143
Trébol blanco	132
Trébol bur	120
Lenteja	114
Kudzá	99
Lespedeza	95
Veza-ebo	92
Chicharo	77
Soya	57
Frijol	45

Fuente: Cuautle (26); tomado de Erdman, 1967.

3.2. NODULACION

3.2.1. Proceso de la infección

En el caso del frijol, las bacterias (Rhizobium phaseoli L.) que viven en los nódulos radicales inicialmente se comportan como fitopatógenos, invadiendo los pelos de las raíces primarias o secundarias de las plántulas jóvenes (18).

Los nódulos se desarrollan sobre las raíces que con-

tienen muchas células bacterianas y que son el sitio de una intensa fijación de nitrógeno, estos nódulos están formados por azúcares sintetizados en las hojas y el nitrógeno protéico producido en el nódulo, el cual a su vez se transloca a través de la planta entera (95).

(91) Dice que los microorganismos de las leguminosas viven en nódulos radicales los cuales toman el nitrógeno del suelo y lo sintetizan en formas complejas, considera además que los nódulos son el resultado de la irritación de la superficie de la raíz. La entrada de los microorganismos se efectúa normalmente por los pelos radicales y en las células de la corteza de las raicillas.

(12) Dicen que una vez que proliferan los Rhizobium dentro de las células de la raíz, las bacterias sufren cambios bioquímicos en sus membranas celulares, mientras que la célula huésped engloba a las bacterias con una membrana proveniente de su membrana plasmática.

Fragmentos de la membrana externa del Rhizobium son desechados durante la transformación de bacterias a bacteroides, los cuales persisten dentro de la membrana envolvente.

(18) Considera a los bacteroides alojados dentro de la membrana como vacuolas infectantes, las cuales contienen de dos a ocho bacteroides.

Después de la infección se inicia la síntesis gradual de leghemoglobina en el tejido de la célula huésped, es-

ta es una proteína que contiene hierro parecida a la hemoglobina, por lo que dos semanas después el nódulo fijador de nitrógeno adquiere una coloración de rosa a rojiza (14).

Se ha demostrado que existe una estrecha relación entre la tasa de leg-hemoglobina en los nódulos y la eficiencia de la simbiosis leguminosa-Rhizobium (92), la cual se mantiene hasta el decaimiento de la actividad del nódulo.

La vascularización se hace evidente de tres a cinco días después de la invasión del pelo radicular, cuando la infección ha penetrado dos o tres capas, a la vez continúa la división de las células del parénquima cortical. Dos o tres semanas después de la infección, una envoltura de esclerénquima se diferencia sobre la corteza externa a las cuatro semanas posteriores a la infección, y previene cualquier nuevo incremento en el tamaño del nódulo (6). En la Tabla 1 se presentan las diferentes etapas del proceso de infección.

Lo cual es en general para las leguminosas, pero puede variar de acuerdo a las condiciones de cultivo, tiempo de infección, variedad y otros factores que se mencionan más adelante.

(91) Dice que, hasta entonces, no era bien conocido el procedimiento por el cual la planta absorbe el nitrógeno después que haya sido fijado por la bacteria, ni tampoco de que forma el nitrógeno es fijado al principio, a pesar de que aparecen muy pronto formas amido y amida, para esto los bac-

Tabla 1. Etapas del proceso de infección.

Edad del nódulo en días.	Etapas de nodulación
0	Invasión inicial de pelos radiculares de células epidérmicas ordinarias por <u>Rhizobium</u> .
1-2	El hilo de infección alcanza la base de la célula epidérmica y entra a la corteza.
3-4	Pequeña masa de células infectadas en el <u>pri</u> mordio del nódulo; el filamento del procambio se extiende del nódulo a las células corticales de la raíz.
5	División bacteriana y de la célula huésped muy rápida que continúa por dos semanas.
7-9	Nódulo visible; el procambio del sistema vascular del nódulo aparece en la base del nódulo y se desarrolla hacia el ápice del nódulo.
12-18	Crecimiento continuo de todos los tejidos del nódulo; algunas células maduran en la capa del esclerénquima; el sistema vascular forma una red dentro de la corteza del nódulo; el tejido bacteriano es rosa al final de éste período y la fijación de nitrógeno se inicia.
23	La mayor parte de la división bacteriana y de las células huésped ha cesado; el nódulo continúa su crecimiento por casi dos semanas más, período activo de la fijación de nitrógeno.
28-37	El nódulo alcanza su máximo tamaño; el tejido vascular y de esclerénquima maduran; la fijación de nitrógeno continúa hasta que la degeneración del nódulo principia.
50-60	Degeneración del nódulo.

Fuente: Barlandas, 1985 (6).

teroides requieren energía (ATP), siendo el primer producto de éste proceso el NH_3 , el cual es convertido en aminoácidos, los que son transferidos del bacteroide a las células radicales y finalmente a toda la planta (14), afirma también que parece que algunos de los compuestos de nitrógeno producidos dentro de las células bacterianas se difunden a través de la pared celular y son absorbidos por la planta huésped.

El proceso de fijación implica la aparición de alteraciones morfológicas y fisiológicas en ambos simbioses, como la formación de nódulos, formación de bacteroides a partir de los bacilos vegetativos y síntesis al menos de dos nuevas proteínas Leghemoglobina y nitrogenasa (39).

3.2.2. Mecanismos de formación de los nódulos

La proliferación de rizobios se atribuye a la presencia de factores de crecimiento (biotina y tiamina) y fuentes energéticas (carbohidratos y aminoácidos) (27). Uno de los aminoácidos exudados por las raíces, que se le ha dado especial atención es el Triptofano, el cual se ha observado que puede ser fácilmente convertido por Rhizobium a fitohormonas como el ácido Indolacético (AIA) (53). El AIA se origina por la oxidación del triptofano y en presencia de un cofactor desconocido induce al curvamiento y ramificación de los pelos radicales (68). En la actualidad se cree que un ácido nucleico y un polisacárido o proteína son los causantes de tal deformación (3).

El AIA, parece que estimula la formación y elongación de los pelos radicales, puesto que por sí solo no causa la deformación de éstos pelos radicales (36).

Además del AIA, se han identificado otros reguladores de crecimiento, otras auxinas, ácido gibbérelico, citoquininas, ácido abscísico y etileno en las raíces de las plantas, se han realizado análisis en extracto de las raíces y en el medio en que se encuentra la raíz durante la infección, pero aún no se ha encontrado la función específica de éstos factores (27). Parece ser que existe una posible participación de una poligalacturonasa pero aún no se aclara si ésta actúa o no (68).

Se observa que antes de la infección, los rizobios y los pelos radicales se unen estrechamente (53), lo cual es perpendicular a los pelos radicales y se atribuye a una fuerte polaridad de las células de Rhizobium (86). Se supone que la responsable en dicha unión es la lecitina; se cree que por acción de un puente molecular entre los antígenos comunes o la reacción cruzada de las raíces y las células de Rhizobium esté en contacto con las raíces de las leguminosas; la infección se lleva a cabo casi sin excepción en los pelos radicales marcadamente curvados (53 y 86).

Las bacterias penetran y se disponen en cadenas formando un hilo de infección a excepción de Arachis hypogea (cacahuete), donde la infección se realiza intercelularmente (60 tomado de Chandler, 1978).

Cercano al pelo radical en proceso de infección ocurre una división de solamente algunas células corticales que forman un grupo compacto de células con abundante citoplasma, el cual da origen al nódulo meristemático (86). Se conoce que las células que originan al nódulo son tetraploides, por lo que los nódulos poseen dos veces el número de cromosomas característico de las células, muy importantes son volumen y duración del tejido central que contiene a los bacteroides y leghemoglobina (80).

3.2.3. Especificidad entre simbioses

Como se ha indicado, las leguminosas presentan una alternativa como aportadoras de nitrógeno asimilable por las plantas, para un futuro, por lo que se han llevado a cabo diversos trabajos para poder conocer las mejores condiciones para que la especie a manejar pueda aportar la mayor cantidad de nitrógeno (N_2), con dichos trabajos ha sido posible conocer algunos procesos y factores que en determinado momento pueden hacer de la relación Rhizobium-leguminosa un éxito o un fracaso. Entre éstos se encuentra la importancia de la especificidad entre simbioses; no sólo para la especie sino aún para la variedad que se vaya a trabajar.

(15) Indican que para hacer una selección de cepa de Rhizobium, es necesario fijarse en:

- 1.- Eficiencia simbiótica
- 2.- Aptitud para formación temprana de nódulos
- 3.- Capacidad para competir con Rhizobium nativo
- 4.- Capacidad de persistir en el suelo

(4) Dice que algunas líneas de Rhizobium son compatibles y útiles en unas especies vegetales y en otras no, aún cuando forman nódulos estos serán inefectivos.

Ahora bien, al inocular con Rhizobium inefectivo la planta no presenta ninguna respuesta, mientras que al hacerlo con la cepa compatible la planta se desarrolla bien sin que se observen deficiencias (34).

(25 y 41) Mencionan que cuando las semillas de leguminosas son inoculadas por una cepa adecuada de Rhizobium, y la siembra se hace en la forma y condiciones adecuadas la nodulación se presenta generalmente, dando resultados buenos económicamente hablando (30), considera que una leguminosa tiene utilidad práctica cuando la asociación Rhizobium-leguminosa es efectiva.

Por otro lado se cree que el establecimiento de dicha asociación depende de la planta hospedera para determinar cuales cepas podrán formar nódulos en ella o no, así como de algunos nutrimentos (27 y 79).

Aún cuando las leguminosas nodulan muy bien con Rhizobium del suelo, es muy importante conocer la especificidad de la planta hospedera con la cepa bacteriana, ya que es muy necesario tener un control cuidadoso no sólo de la inoculación en el cultivo, implantado, sino en todo lo que se relacione con un mejor rendimiento (95).

3.3. FACTORES QUE AFECTAN LA NODULACION

Como ya se ha mencionado, debido a la importancia que representa para el hombre el aporte de nitrógeno atmosférico por medio de la relación Rhizobium-leguminosa, se han llevado a cabo trabajos de investigación para poder conocer mejor las condiciones que se requieren para obtener mejores resultados; gracias a lo cual ha sido posible conocer algunos de los factores que influyen en los resultados de ésta relación, y que se pueden agrupar en:

1.- Factores internos

y

2.- Factores externos

1.- Uno de los principales factores internos que pueden influir aún bajo condiciones de crecimiento satisfactorias son los factores genéticos que afectan tanto a la cepa bacteriana como a la planta hospedera; los cuales pueden alterar el número de nódulos producidos por la cepa (7).

2.- Entre los factores externos se mencionan a todos aquellos relacionados con el suelo (pH, temperatura, aireación, humedad, contenido de nitrógeno inorgánico o mineral, cal activa, sales fertilizadoras), temperatura y duración del día; algunas prácticas culturales, el empleo de pesticidas agrícolas; así como factores biológicos.

3.3.1. pH del suelo

La reacción del suelo (pH) es de gran importancia, ya que no solo afecta la formación de nódulos sino que tam-

bién influye en la cantidad de nitrógeno absorbido por la planta hospedera en su crecimiento normal. Cuando el suelo es ácido se nos presentan problemas de nutrición mineral, por ejemplo en suelos deficientes de calcio las plantas pueden presentar toxicidad al aluminio, fierro y manganeso, y deficiencias de magnesio y potasio. (95).

Se ha observado que existe una correlación positiva entre los efectos de fósforo y potasio; si en el suelo no se presenta un balance adecuado de éstos dos nutrimentos, la fijación de nitrógeno se reduce considerablemente (42, 3 y 29).

Se manejan diversos valores de pH para una buena nodulación, pero la mayoría de los autores está de acuerdo que entre 5.5 y 7.5 es lo más recomendable (2), aunque hay excepciones porque la soya (Glycine max), nodula en suelos ácidos (3). Pero en su mayoría a pH inferiores a 6.0 los nódulos reducen su actividad o desaparecen rápidamente (4 y 42). A pH altos no se encontró que puede ocurrir con la nodulación, sin embargo, el pH mayor de 8.0 puede actuar indirectamente sobre ella provocando que algunos elementos esenciales se hagan menos asimilables, por ejemplo el Fierro, manganeso y zinc; mientras que la asimilación de molibdeno es mayor a pH altos.

3.3.2. Temperatura del suelo

La nodulación se presenta en todas las temperaturas del suelo que tolera la planta, pero se reduce en los extremos más fríos y más calientes (42 y 3). Se considera que una

temperatura óptima del suelo para el proceso de nodulación y fijación de nitrógeno atmosférico es de 30°C (42).

(40) Observó que en una temperatura alrededor de 33°C hubo restricción en la fijación de nitrógeno en frijol.

(48) Indica que al aumentar la temperatura en el suelo se incrementa y favorece la nodulación, pero a temperaturas menores se presenta mayor cantidad de nitrógeno fijado en plantas de frijol (Phaseolus vulgaris L.).

3.3.3. Temperatura y duración del día.

(48) Observó que la fijación de nitrógeno durante el día fué el doble que la registrada en la noche.

Avila, 1971 citado por 40, dice que la efectividad de las cepas varió cuando fueron sujeto a diferentes condiciones ambientales, las temperaturas altas afectaron negativamente todas las cepas.

Por su parte (30), menciona que la temperatura óptima para la nodulación, varía de acuerdo al tipo de leguminosa y la cepa usada, pero que cuando la temperatura es alta se recomienda utilizar altos niveles de inoculante.

Entre los procesos que pueden resultar afectados por las altas temperaturas son:

1.- El crecimiento y la supervivencia de Rhizobium en la rizósfera.

- 2.- La formación de pelos absorbentes
- 3.- El enlace de las células de Rhizobium a las células de los pelos absorbentes
- 4.- El proceso de la infección
- 5.- La estructura, crecimiento y desarrollo de los nódulos de la raíz
- 6.- El contenido de leg-hemoglobina en los nódulos
- 7.- La actividad de la enzima nitrogenasa y consecuentemente, el contenido de nitrógeno en la planta

La temperatura más favorable es de 27-32°C, ya que a la temperatura de 51°C cesa prácticamente y a temperatura de congelación no se produce, pero sobre 1.5°C empieza y va en aumento progresivamente hasta alcanzar el óptimo.

La duración del día e intensidad de luz también afectan el número y peso de los nódulos; la falta de luz tiende a disminuir el peso de los nódulos, mientras que la intensidad de luz elevada pero no excesiva aumenta el número de nódulos (3).

(40) Menciona que la luz solar es útil para la fijación, siempre y cuando la humedad aprovechable sea adecuada, pero que bajo condiciones lluviosas la radiación solar puede limitar el crecimiento debido a la nubosidad.

3.3.4. Aireación

Debido a que la nitrificación es un proceso de oxidación, cualquier procedimiento que aumenta la aireación del suelo podrá favorecerlo hasta cierto punto (11).

3.3.5. Humedad

Se llega a la conclusión que el óptimo para las plantas es también el óptimo para éste proceso, por lo que puede retardarse tanto por condiciones de muy escasa como de abundante humedad, sin embargo, puede llevarse a cabo aún con contenido de humedad por debajo del punto de marchitez, y al proporcionarle agua aumenta (40).

3.3.6. Factores biológicos

Existen ciertos organismos que pueden ejercer efectos dañinos en la nodulación como son: hongos, bacterias, virus y nemátodos, los cuales pueden causar pérdidas considerables y reducir la cantidad de nitrógeno fijado. También al Rhizobium lo puede afectar la presencia de toxinas en las semillas, puede ser digerido por enzimas o inhibido por antibióticos y bacteriocinas (70).

3.3.7. Prácticas agronómicas

El contacto directo de la semilla con fertilizantes o agentes químicos ya sea para desinfectar la semilla o para

controlar plagas afectaron la nodulación (55).

Por otro lado algunas prácticas culturales ayudan a un mejor desarrollo de las raíces, y por ende de los nódulos bacterianos como son el arado y las operaciones de cultivo (11).

3.3.8. Factores nutricionales

Estos factores son muy importantes en la simbiosis Rhizobium-leguminosa ya que cualquier deficiencia o exceso de elementos nutritivos que afecte a la planta, afectará también la relación, y por lo tanto también la fijación simbiótica del nitrógeno (82, 42 y Ruschel, citado por 39).

(37) Mencionan que las diferencias fisiológicas entre variedades están relacionadas con la nutrición de calcio y nitrógeno, que pueden ser responsables para determinar las diferencias de nodulación en las plantas.

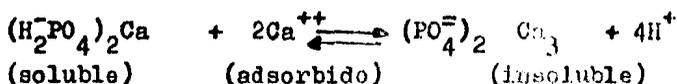
Se señalan diversos micronutrientes importantes para que la nodulación sea o no efectiva, por ejemplo: los elementos necesarios en la planta hospedera para la fijación simbiótica son: Fósforo, potasio, calcio y azufre; y fósforo, calcio y molibdeno para la nodulación y fijación de nitrógeno por Rhizobium (40).

La escasez de éstos elementos nutritivos esenciales contribuye a la ausencia o presencia de un reducido número de

Rhizobium en el suelo (4).

Uno de los micronutrientes que desempeña un papel muy importante es el calcio, ya que tiene efecto sobre la absorción de otros elementos necesarios tanto en el desarrollo de bacterias como de plantas, entre los cuales está el boro, molibdeno y fósforo (29 y 39 tomado de Ruschel). El molibdeno parece ser esencial para el proceso de fijación del nitrógeno, a pesar de ser requerido en cantidades pequeñas es necesario en las reacciones enzimáticas por las cuales el nitrógeno queda fijado. Algunos investigadores creen que casi toda la respuesta favorable de ciertas leguminosas a la cal es debida indirectamente al aumento del aprovechamiento del molibdeno asociado con la cal (11).

(11) Dice, también, que las altas concentraciones de calcio influyen negativamente en la aprovechabilidad del fósforo ocurriendo la siguiente reacción:



Se menciona también que las deficiencias de calcio pueden producir toxicidad de aluminio y manganeso, deficiencias de magnesio, potasio y fierro (29).

La deficiencia presentada por los micronutrientes mencionados, así como por el pH del suelo, pueden afectar fuertemente la fijación simbiótica de nitrógeno en cualquier o todas las fases siguientes:

- 1.- Supervivencia y crecimiento de bacterias en el inóculo
- 2.- Formación del nódulo

3.- Función del nódulo

4.- Crecimiento de la leguminosa hospedera

3.3.9. Cepa nativa

Otro factor muy importante es la presencia de cepas nativas; ya que donde los Rhizobium nativos son numerosos y eficientes la respuesta de la inoculación puede ser escasa o nula (3).

(87) Dice que cuando el suelo está provisto de la bacteria específica, la inoculación no tiene razón de ser.

Por otra parte, la nodulación no necesariamente indica fijación de nitrógeno ya que algunas cepas que producen nódulos fijan poco nitrógeno o no lo fijan y en ocasiones se comportan como parásitos. El suelo puede no contener Rhizobium de tipo específico para una leguminosa dada y entonces se hace necesaria la inoculación (29).

Se han hecho diversos estudios sobre la capacidad de una cepa inoculada para competir con las cepas nativas del suelo, pero no existe hasta el momento ningún dato práctico para resolver tal problema.(41).

Se ha observado también la alta promiscuidad del frijol Phaseolus vulgaris L., ya que es capaz de nodular con cepas que nodulan a otros géneros de leguminosas como son Amorpha, Antyllus, Crotalaria y Desmodium, motivo por el cual se forma una gran cantidad de nódulos inefectivos en la raíz del frijol (90).

(26) Observó que las cepas nativas de Rhizobium

presentaron gran capacidad infectiva, tanto en campo como en invernadero, en suelo fumigado y sin fumigar, interfiriendo la evaluación del efecto de las cepas inoculadas.

3.3.10. Fertilizantes

3.3.10.1. Nitrogenados

Bajo condiciones normales el frijol obtiene de la atmósfera el nitrógeno necesario a través de la fijación simbiótica. Por lo que se le debe aplicar el nitrógeno en dosis moderadas, en un tiempo temprano cuando aún no se han desarrollado sus nódulos. Se sabe que la fertilización nitrogenada afecta la nodulación disminuyendo no solo el tamaño del nódulo sino también la cantidad de nitrógeno fijado por la bacteria pues inhibe la síntesis de la enzima nitrogenasa. Dicha inhibición se lleva a cabo mediante una represión en la expresión de los genes de la molécula responsable de la regulación de la enzima nitrogenasa y de la glutaminasintetasa. Dentro de la planta los altos niveles de nitrógeno pueden causar la retención de los carbohidratos en la raíz, limitando su excreción y la formación de nódulos. Si Rhizobium fijará nitrógeno en presencia de amonio, los cultivos de leguminosas suministrarían más nitrógeno al suelo, en lugar de consumir el que ya está presente; no obstante pequeñas dosis de nitrógeno asimilable en el suelo normalmente ayudan a la nodulación (13 y 74).

El amonio fertilizante o el proveniente de la fija-

ción de nitrógeno reacciona con el glutamato que proviene de la fotosíntesis dando lugar a la glutamina, tal reacción la cataliza la glutaminasintetasa la cual es regulada por una inhibición por retroalimentación a partir de síntesis de aminoácidos. Así la fijación podría estimularse por la presencia de glutaminasintetasa activa, ésto implicaría una deficiencia relativa de aminoácidos, en cambio la inactivación de la glutaminasintetasa suprimiría la fijación (13).

La presencia de nitratos en el suelo inhibe la capacidad de penetración y de reproducción de las bacterias nodulares; sin embargo es necesaria la presencia de una pequeña cantidad de nitrógeno junto con una cantidad pequeñísima de molibdeno (10-25 p.p.m.), de fósforo y de calcio (35 y 71).

(44 y 88) Mencionan que una cantidad pequeña de nitrógeno estimula tanto el crecimiento inicial de la planta como la formación de los nódulos.

(44) Trabajando con soya observaron un aumento en el número de nódulos al aplicar pequeñas dosis de nitrógeno.

(64) Observaron que al aplicar 0.1 y 1.0 p.p.m. de nitrógeno asimilable se incrementó el crecimiento de la planta, el peso seco, el nitrógeno total y calcio total y además se apreció una mayor tendencia a la nodulación.

(87) En un trabajo experimental para conocer las influencias del N-P-K y la inoculación usando un producto co-

mercial, encontró que la dosis más adecuada de nitrógeno está comprendida entre 40-60 kg/ha, pero no encontró una respuesta satisfactoria en la inoculación con "Nitragin" en suelos donde anteriormente se había cultivado frijol; y en suelos donde hacía tiempo no se cultivaba frijol si es recomendable inocular, complementándose con la dosis de nitrógeno más recomendable.

(20) Observó la influencia de la fertilización nitrogenada y fosfatada sobre el efecto de los inoculantes en la nodulación y otras características vegetativas y reproductivas del frijol, encontrando que la fertilización nitrogenada redujo la nodulación, pero elevó el rendimiento en grano.

(76) En trabajos de fertilización e inoculación en frijol en el municipio de Manlio Fabio, Altamirano, Ver., encontró que hay respuesta con diferencias estadísticamente significativas a la aplicación de fertilizantes nitrogenados y fosforados; aconsejando la fórmula 40-60-00.

(1) Trabajó aplicando inoculante en frijol a diferentes niveles de nitrógeno resultando que hay interacción altamente significativa entre la inoculación y la fertilización nitrogenada, siendo el mejor tratamiento el de 36 Kg/ha de nitrógeno con inoculante.

(43) Menciona que las leguminosas fijan más nitrógeno del aire cuando el suelo es más pobre en nitrógeno mineral disponible; mientras que en un suelo rico en nitrógeno la fijación es más débil.

(52) Dice que en un suelo que tenía cantidades de nitrógeno altas se inhibió el desarrollo de Rhizobium.

Mientras que (31), mencionan que con altas concentraciones de nitrógeno en el suelo inhiben la fijación biológica del nitrógeno.

3.3.10.2. Fosforados

3.3.10.2.1. Importancia del fósforo

El fósforo es uno de los elementos decisivos para el crecimiento de las plantas, su carencia evita que aprovechen otros nutrientes, por ejemplo la mayor parte del nitrógeno del suelo depende indirectamente de la reserva de fósforo, ésto se debe a su influencia sobre el crecimiento de las leguminosas.

La influencia del fósforo en las plantas es:

- 1.- En la división celular y crecimiento, así como formación de albúminas
- 2.- En la floración y fructificación, así como la formación de semilla.
- 3.- Maduración de las cosechas
- 4.- Desarrollo de las raíces; particularmente las raicillas laterales y fibrosas
- 5.- Resistencia a ciertas enfermedades
- 6.- Sobre la calidad de la cosecha

También se sabe que el ácido fosfórico es muy favo-

rable para la multiplicación de las bacterias (43).

Andrews citado por 38, dice que la principal función del fósforo en la simbiosis Rhizobium-leguminosa es estimular la nodulación y el rendimiento, cuando no existe compatibilidad entre la simbiosis su efecto es contrario.

El mismo autor menciona que se observa una respuesta marcada a la aplicación de fósforo, siendo consistente el nivel de 30 kg/ de P_2O_5 /ha, lo que concuerda con lo que menciona (70), respecto al efecto estimulador del fósforo en la simbiosis.

(19) Mencionan que en las leguminosas la cantidad de fósforo agregado afecta el crecimiento de los nódulos relativamente en un grado mayor que al crecimiento de la parte aérea o de las raíces, debido a que durante la etapa del crecimiento vegetativo, los nódulos activos utilizan cantidades significativas de fotosintatos para el crecimiento del nódulo y la fijación de nitrógeno.

El papel del fósforo es muy importante para la transferencia de energía por medio de los enlaces de fosfatos de alta energía como lo es el ATP, por lo que el fósforo es de vital importancia en la formación y translocación de carbohidratos, ácidos grasos, glicéridos, síntesis de proteínas y productos intermediarios; en la fotosíntesis, el fósforo tiene el papel de vehículo y motor (31).

Además como ya se indicó, el fósforo y el nitrógeno están fuertemente interrelacionados principalmente en la primera fase de crecimiento llegando a la conclusión de que el desarrollo radicular se ve favorecido por una dosis adecuada de fósforo.

Para las leguminosas, según (43), debido a que son muy ávidas de fósforo se requiere de 140-200 kg de P_2O_5 /ha.

En las leguminosas el fósforo estimula el crecimiento de raíces e iniciación de nódulos, afecta la extensión de la nodulación en términos de número y masa, y afectan la duración y la eficiencia general de la simbiosis Rhizobium-leguminosa (Andrews citado por 38 y 37).

(19) Observarón que el frijol es menos sensitivo al stress de fósforo cuando dependen del nitrógeno simbiótico que la soya y señala que depende de la especie de leguminosa y de la variedad para sus necesidades de fósforo.

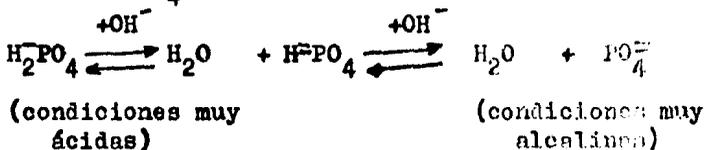
(69) Reporten respuestas positivas del fósforo al aumento de materia seca, nodulación y persistencia en diferentes pastos tropicales.

(50) Encontró respuestas positivas a la adición de fósforo, en la iniciación de los nódulos, el peso del nódulo, contenido de materia seca, contenido de nitrógeno y rendimiento de semilla, encontrándose variación entre variedades.

En suelos con alto contenido de fósforo según (11) existen una serie de factores que controlan la asimilación de los compuestos inorgánicos de fósforo:

- 1.- El pH del suelo
- 2.- El fierro, aluminio y manganeso
- 3.- El calcio asimilable
- 4.- La cantidad de materia orgánica descompuesta
- 5.- Por las actividades de los microorganismos

Dice que el aprovechamiento del fósforo en las plantas está determinado en alto grado por su forma iónica. La cual se determina por el pH de la solución en que dicho elemento se halla. En soluciones ácidas se encuentra el H_2PO_4^- , al aumentar el pH se presenta primero el ión HPO_4^{2-} y por último el PO_4^{3-} .



Se considera que el ión H_2PO_4^- es más aprovechable para las plantas que el HPO_4^{2-} . Sin embargo esto está sujeto a la presencia o ausencia de otros compuestos o iones.

En el caso de pH altos la presencia de calcio afecta grandemente la asimilación de fósforo. Aquí la precipitación de fosfatos se produce por los compuestos cálcicos. Estos suelos presentan grandes cantidades de calcio intercambiable y en muchos casos con CaCO_3 . Los fosfatos reaccionan tanto con el ión calcio como con el carbonato (si éste está presente en altas cantidades).

(81) Reportaron que el fósforo beneficia a la relación simbiótica, reflejada ésta en una buena nodulación y buen desarrollo, sin embargo éste se limitó de acuerdo a la dosis de nitrógeno.

(76 y 87) Dicen que la dosis óptima al inocular semilla de frijol con productos comerciales es de 60 kg de P_2O_5 /ha.

(31) Mencionan que la dosis óptima para obtener nodulaciones buenas es de 400-500 p.p.m. de fósforo.

(57) Dice que en un trabajo inoculando semilla Bayomex, y aplicando fósforo, no hubo respuesta significativa.

3.4. INOCULACION

3.4.1. Importancia de la inoculación

Como ya se ha indicado uno de los aspectos fundamentales para que se presente una nodulación efectiva (siempre y cuando se presenten las condiciones para ello), es la presencia de Rhizobium específico para la variedad a sembrarse, lo ideal es que la bacteria exista en el suelo, pero cuando no la hay disponible se puede añadir por medio de la inoculación en la semilla (77).

En la actualidad en muchos países desarrollados se lleva a cabo la inoculación de varias leguminosas de importan

cia económica, principalmente en soya, alfalfa, cacahuete y frijol, con el objeto de promover la formación de dichos nódulos y conseguir un buen rendimiento a un menor costo.

Siendo el frijol, uno de los cultivos básicos en la alimentación del mexicano y producido en gran parte en zonas temporaleras del país, la inoculación se presenta como una alternativa de fertilización nitrogenada a costos más bajos que los fertilizantes, ya que al ser derivados del petróleo su costo es cada vez mayor y en muchas ocasiones quedan fuera del alcance de los agricultores.

La inoculación representa por lo tanto un gran potencial para la obtención de alimentos a bajo costo sin necesidad de usar fertilizantes. Sin embargo la inoculación por sí sola no nos produce los resultados que esperamos, sino que esto depende de la clase de inoculante, forma de inocular, contacto con fertilizantes, supervivencia de semilla, además de los diferentes genotipos de frijol (27).

A pesar de la importancia que representa la inoculación los resultados hasta la fecha no han sido muy satisfactorios, pero se han hecho y a la fecha se siguen llevando a cabo en diversas áreas del país varios experimentos con el objeto de conocer mejor las respuestas de las variedades a la inoculación, para posteriormente si los resultados son buenos, poder ser recomendado a las zonas en que más se podría necesitar y en ese caso poder proporcionar un alimento con un alto contenido protéico a bajos costos para las clases más necesi

tadas del país.

3.4.2. Problemas en la inoculación

Se menciona que donde la inoculación no tiene respuesta positiva puede ser debido a:

- 1.- Que la nodulación natural sea adecuada
 - 2.- Que el inóculo aplicado no se estableció por fallas de sobrevivencia o en su capacidad colonizadora o por competencia de Rhizobium del lugar
 - 3.- Que hay condiciones desfavorables para la formación y funcionamiento de los nódulos (humedad, temperatura, deficiencia nutricional, N combinado)
- (89)

López citado por 52, dice que en los experimentos de prueba de inoculantes en frijol realizados por el antiguo Departamento de Leguminosas Comestibles de México, en diferentes campos experimentales, no se encontró respuesta en rendimiento del frijol a dicha inoculación, razón por la cual no se recomienda efectuar ésta práctica en este cultivo.

(87) Dice en relación a la inoculación bacteriana de la semilla de frijol con un inoculante comercial, que en la mayoría de los casos no se ha logrado una respuesta satisfactoria en suelos donde anteriormente se ha estado cultivando frijol, en cambio en suelos donde por mucho tiempo no se ha cultivado frijol sí es conveniente la inoculación de la semilla, complementándose con la dosis óptima de nitrógeno (5, 83 y 93).

En un experimento en La Chontalpa, Tabasco, se encontró respuesta positiva a los inoculantes formados a partir de cepas de Rhizobium phaseoli, aisladas y seleccionadas en La Chontalpa (39).

(29) Manifiesta que el suelo puede no contener Rhizobium de tipo específico para la leguminosa que se va a sembrar, ya sea porque es introducida la variedad o porque hace años que no se siembra, es necesaria la inoculación de la semilla.

Otra razón es que se asegura la efectiva fijación simbiótica de nitrógeno por la bacteria y que ésta esté disponible en la zona de la raíz cuando la planta empiece a desarrollarse.

Existen datos que mencionan que solamente 25 % de los rizobios encontrados naturalmente en el suelo, son altamente benéficos, mientras que el 50 % son moderadamente benéficos y el otro 25 % no lo son (29).

Gríspín citado por 40, indica que en distintos campos experimentales se han hecho estudios, sobre el uso de inoculantes, no encontrándose una respuesta consistente y positiva que amerite recomendar éstos productos.

(95) Indica que los inoculantes comerciales se usan ampliamente para asegurar que la leguminosa en germinación se ponga en contacto con la cepa adecuada de Rhizobium, ya que sí esto ocurre la relación en vez de ser un parasitismo,

se convierte en simbiote.

La competitividad caracterizada por la capacidad de competir con otras cepas y con las nativas del suelo es otro factor de importancia, donde los Rhizobium nativos son numerosos y eficientes la respuesta de la inoculación puede ser escasa o nula (3 y 87).

Se observa también que el número de nódulos formados no es proporcional a la cantidad de inoculante agregado (17).

Además que cuando el suelo está provisto de la bacteria específica la inoculación tiene poco efecto (87).

(20) Trabajando en dos experimentos de frijol en dos suelos del Valle de México; a nivel invernadero, probando la eficiencia de los inoculantes y del molycofix sobre la nodulación de frijol, observó que las plantas no inoculadas mostraron algo de nodulación, lo que demuestra que hay inóculo nativo en los suelos.

Los inoculantes Pagador y Nitragin y Molycofix no ayudaron a mejorar en forma práctica al cultivo del frijol, ya que no aumentaron la nodulación ni el rendimiento en grano.

En trabajos llevados a cabo en el CIAT (21), el contenido de nitrógeno de algunas introducciones de frijol aumentó hasta ocho veces después de la inoculación (CEPA CIAT-57) mientras que el rendimiento global aumentó hasta un 10 %.

En Pirocicabo, Brasil, han obtenido incrementos en

los rendimientos utilizando la CEPA CIAT-640, superando la fertilización nitrogenada (100 Kg/ha de Urea) (23).

En Quilichoo, Colombia, asociaciones de tres cepas de Rhizobium, proporcionaron rendimientos de frijol superiores a la producción lograda en el testigo con 100 kg N/ha (23).

Una plantación de frijol de una hectárea perfectamente inoculada fija 44 kg de nitrógeno (71).

En la práctica de la inoculación se presentan una serie de problemas que hacen llegar a la conclusión de que podría no ser recomendable llevarla a cabo, sin embargo se cree que en los casos en que no ha habido respuesta se observa que puede deberse a:

- 1.- Empleo de cepas no competitivas
- 2.- Cepas inefectivas
- 3.- Empleo de inoculantes con fecha de caducidad vencida
- 4.- Empleo de inoculantes cuyo transporte y almacenaje haya sido efectuado bajo condiciones adversas (85 y 15)
- 5.- Número de Rhizobium

Otro de los problemas que pueden afectar enormemente los resultados es el momento de la siembra, por lo que según (58), se recomienda sembrar inmediatamente después de la inoculación, lo cual debe hacerse a la sombra, por lo que se sugiere hacerlo antes de que salga el sol.

Las recomendaciones acerca de que tipo de adherente lleva, caducidad del inoculante, aplicación de fungicidas, temperatura de almacenamiento y hora de siembra dependen del tipo de inoculante que se utilice, si es un producto comercial o bien cepas proporcionadas por alguna institución.

En general todos los factores mencionados que afectan la nodulación afectan también la inoculación.

En cuanto al número de Rhizobium se tienen datos que nos indican cual puede ser el número apto para asegurar al menos por eso la inoculación. En general para la mayoría de las leguminosas, si las condiciones son favorables, 100 rizobios por semilla pueden dar una buena nodulación (28).

En Australia, el estándar es de 300 rizobios por semilla para dar pronta nodulación bajo condiciones normales de campo, mientras que cuando las condiciones de sobrevivencia y multiplicación son adversas, o si hay competencia de cepas nativas, son necesarias más de 100 000 bacterias por semilla.

Se menciona que un inoculante de buena calidad debe proporcionar 10^5 a 10^6 células viables por semilla y que son necesarios al menos 2×10^5 rizobios/semilla para una nodulación eficiente bajo condiciones relativamente buenas y que es necesaria mayor cantidad de inóculo cuando las condiciones son desfavorables (38, 65 y 58).

3.4.3. Tipos de inoculantes

Un inoculante es un cultivo de bacterias que se presentan en medios líquidos o sólidos y que se emplean para promover la formación de nódulos en las raíces de las leguminosas.

En la actualidad son pocas las empresas que producen inoculantes comerciales en México por lo cual los tipos son también pocos:

- 1.- Por el tipo de cepa, los hay que usan microorganismos de cepas extranjeras, o bien los que usan cepas nativas (haciendo selección en invernadero y campo)
- 2.- Por el tipo de soporte, los que utilizan turba (ya sea importada o nacional) o los de arcilla
- 3.- Por su tipo de presentación, se presentan en forma granular y en polvo (en ambos casos es necesario aplicar un adherente, que generalmente recomienda el fabricante) (85).

Según (85 y 9), al utilizar inoculantes hechos a base de cepas nativas podríamos esperar mejores resultados, lo que confiere mayor efectividad sobre los fabricados a base de cepas extranjeras.

En cuanto al tipo de soporte se tienen datos de estudios que muestran que la turba es el mejor material para ser usado como soporte, ya que mantiene más Rhizobium viables

que aquellos a base de arcilla (85 y 45), como lo señala el Cuadro 2.

Cuadro 2. Humedad y número de células por gramo de inoculante empleando como soporte turba nacional, con Rhizobium phaseoli FM¹⁸ en el transcurso de 6 meses.

Tiempo (días)	% Humedad	Células/gr inoculantes
15	48.8	3.5×10^9
30	48.8	2.4×10^8
120	47.4	1.7×10^8
180	45.3	5.5×10^7

Fuente: Trujillo G.G. (85)

Se menciona también que los inoculantes granulares observan ventaja, porque aún cuando son más caros y exigen técnicas especiales de aplicación, son más eficaces sobre todo donde la inoculación resulta difícil o poco segura (46).

Estos inoculantes pueden ser aplicados en el surco con sembradoras y los porcentajes de Rhizobium se pueden incrementar mucho más que con los inoculantes convencionales (9).

(65) Probando un inoculante granular aplicado al suelo y otro a la semilla, observó un incremento del 20 % del primero sobre el segundo y un 48 % sobre el testigo. Pero menciona que el costo del inoculante granular fué 15.7 veces

más caro que el a base de turba.

Se elaboran también inoculantes en diferentes centros de enseñanza e investigación aislando cepas nativas, pero su uso está restringido a los trabajos de investigación que realizan éstos tanto en campo como en invernadero.

3.5. PARAMETROS A MEDIR.

Existen diversos trabajos que nos indican que parámetros medir para poder evaluar el rendimiento de la planta de frijol y conocer principalmente que influencia tuvo el fósforo, si la tuvo en los componentes de rendimiento, y en especial en la nodulación.

(61, 62 y 33) Observaron que existe una correlación positiva entre el rendimiento y los siguientes aspectos: área foliar, peso seco total, porcentaje de nitrógeno en el follaje, número de vainas por planta, semillas por vaina, tamaño de las semillas y número de hojas por planta.

(75) Describe en la Figura 1, los componentes y mecanismos de regulación del rendimiento; haciendo mención que los componentes del rendimiento que definen finalmente a éste son: número de vainas por planta, semillas por vaina, tamaño y peso de semillas.

(49) Menciona que el rendimiento biológico se expresa morfológicamente en las estructuras de la planta y el rendimiento agronómico en la semilla; por lo que el peso seco total de la planta (rendimiento biológico o biomasa) y el

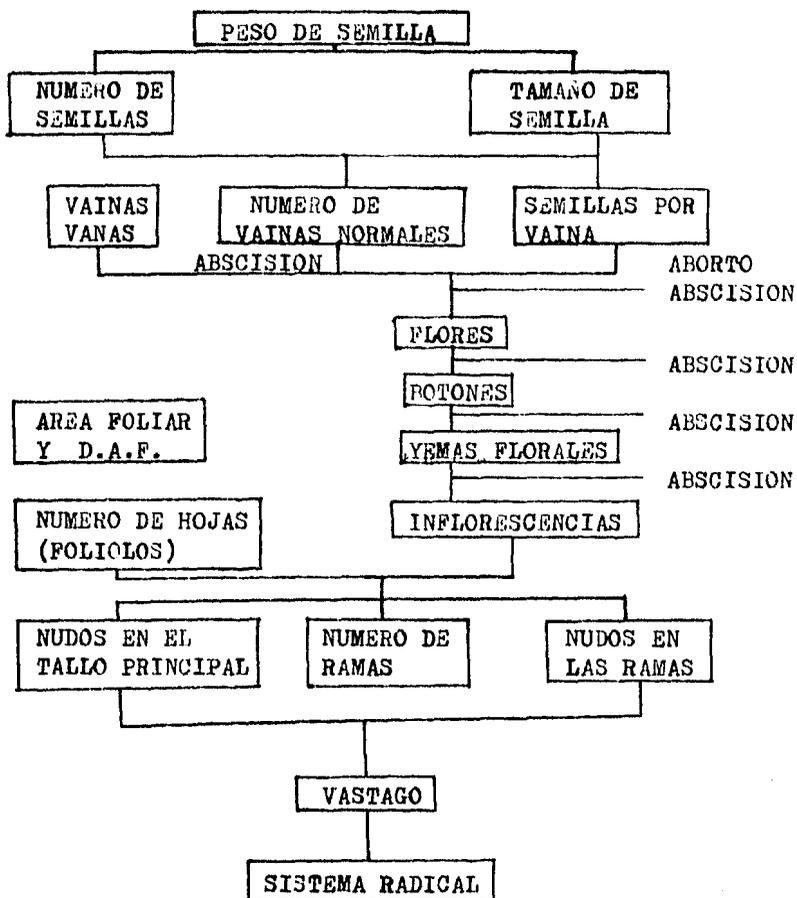


Figura 1. Componentes y mecanismos de regulación del rendimiento a nivel planta y a nivel de superficie Reyes (75).

peso de la semilla (rendimiento agronómico) están considerados como los componentes fisiológicos del rendimiento.

(39) Encontró que los componentes del rendimiento más sobresalientes fueron: peso seco de la lámina foliar, peso seco de tallos, y que no hubo correlación entre el número de nódulos y los componentes estudiados.

(89) Menciona que la efectividad generalmente es medida por la cantidad total de nitrógeno fijado y por la producción de materia seca de la parte aérea o el rendimiento de semilla, también puede evaluarse por el nitrógeno total de la planta, aunque las leguminosas pueden responder a la inoculación de varias formas: incremento en la masa nodular, número de nódulos, distribución o color de los nódulos, cambios de color en el follaje, incremento en el vigor de la planta o un incremento en el grado de reducción de acetileno.

Se consideran nódulos efectivos aquellos de color rosa o rojo, grandes, localizados cerca de la corona, rugosos y los inefectivos aquellos distribuidos por todo el sistema radical, blancos o verdes, pequeños y lisos (28).

IV. DATOS GENERALES DE LA ZONA DE ESTUDIO

4.1. LOCALIZACION

La parcela donde se llevó a cabo el presente trabajo se localiza dentro del poblado de San Mateo Tequixquiac, Estado de México, el cual se encuentra sobre la carretera Zumpango del Río-Apaxco (32).

Su superficie es de 105.858 km², a una latitud norte de 19°20', longitud oeste 98°54', con una altura sobre el nivel del mar de 2,485 metros.

4.2. SUELO

De acuerdo con los trabajos realizados por (78), el suelo de la zona es del tipo Cambisol cálcico con horizontes A₁ y B₂ que presentan las siguientes características:

Horizonte A₁. Profundidad 0-8 cm, color gris obscuro en húmedo, textura migajón arcillosa, estructura de bloques subangulares de tamaño fino y desarrollo moderado, drenaje interno drenado.

Horizonte B₂. Profundidad 8-50 cm, color gris muy obscuro en húmedo, textura migajón arcilloso, estructura de bloques subangulares de tamaño fino y desarrollo moderado, drenaje interno drenado.

Presentan otras características que se resumen en el Cuadro 3.

4.3. CLIMA

Es un templado subhúmedo Cw, con lluvias en verano, el régimen pluvial medio anual oscila entre 600 y 800 mm, temperatura media de 12 y 16°C (32).

La mayor precipitación pluvial se registra en Junio, con un valor que oscila entre 120 y 130 mm, y la mínima en

Cuadro 3. Características de los Horizontes A₁ y B₂ del suelo de la zona de estudio.

Características	Horizonte	
	A ₁	B ₂
% arcilla	32	32
% limo	30	28
% arena	38	40
Color en húmedo	5YR 3.5/1	5YR 3.5/1
Conductividad eléctrica mmhos/cm	2	2
pH en agua relación 1:1	7.3	7.6
% materia orgánica	4	3.3
C.I.C. meq/100 g	24.3	25.0
Potasio meq/100 g	0.3	0.2
Calcio meq/100 g	27.5	26.8
Magnesio meq/100 g	2.1	1.5

Fuente: Síntesis Geográfica del Estado de México (78).

Febrero con un valor menor de 5 mm.

4.4. VEGETACION

El tipo de vegetación predominante es el de pastizal natural; la forma de sus pastos es amacollado y entre las principales especies se encuentran: Boutelova spp, Muhlenbergia spp, Buchloe dactyloides, Cynodon spp; se presentan también algunos pastos introducidos como Aristides spp,

Sporobolus spp, Eragrostis spp y matorral causicaule, compuesto principalmente por Opuntia spp (32).

V. MATERIALES Y METODOS

5.1. CARACTERIZACION DEL SUELO

5.1.1. Características físicas y químicas

Se muestreó el terreno al azar; haciendo siete pozos a una profundidad de 0-20 y 20-40 cm. Después se pusieron a secar las muestras y se tamizó por un tamiz con malla de 2.0 mm, y se procedieron a realizar los siguientes análisis de laboratorio (los cuales se hicieron en el laboratorio de Suelos de la F.E.S.-C,).

-Se determinó la textura por el método simplificado del hidrómetro de Bouyoucous (10).

-pH por el método electrométrico utilizando una suspensión de suelo agua destilada, en una proporción 1:2.5.

-Color mediante las tablas de Munsell en suelo húmedo y seco (66).

-Capacidad de intercambio catiónico total, por el método de centrifugación, saturando con Ca Cl_2 1N a un pH 7 eluyendo con NaCl 1 N pH 7 y titulando con EDTA 0.02 N (47).

-Densidad aparente por el método de la probeta.

-Materia orgánica por combustión húmeda según el método de Walkley y Black, modificado por Walkley (94).

-Nitrógeno total por el método de Kjeldahl, modificado para incluir nitratos.

-Fósforo fácilmente aprovechable, colorimétricamente por el método de Olsen el cual utiliza una solución de bicarbonato de sodio NaHCO_3 0.5 M con un pH casi constante de 8.5 para extraer el fósforo de suelos alcalinos, cálcicos y neutros que contienen fosfatos de calcio, precipitando el Calcio en forma de carbonatos.

-Calcio y magnesio intercambiables utilizando como solución extractora el Acetato de sodio 1N pH 7 y titulando posteriormente con EDTA 0.02 N (47).

-Potasio intercambiable extrayendo el potasio del suelo con una solución de Acetato de amonio 1N pH 7 y cuantificando por el método flamométrico.

5.2. DESCRIPCION DEL EXPERIMENTO.

Para poder determinar los efectos del fósforo sobre la nodulación y fijación de nitrógeno en dos variedades de

frijol, se desarrolló un trabajo experimental bajo condiciones de temporal en el campo, empleando un diseño experimental de bloques completamente al azar de ocho tratamientos con tres repeticiones (Figura 2).

Los tratamientos comprenden dos variedades de frijol con cinco niveles de P_2O_5 y tres testigos; siendo los primeros inoculados y los tres testigos sin inocular, lo que nos dió un total de 48 unidades experimentales. No se hicieron aplicaciones de potasio y solo se aplicó en un testigo 40 unidades de nitrógeno (Cuadro 4).

Se emplearon las variedades de Frijol (Phaseolus vulgaris L.) Bayo y Negro, que se siembran normalmente en la región, y cuyas características aparecen en el Cuadro 5.

Se decidió utilizar como fuente de fósforo el Superfosfato de calcio simple, el cual contiene un 20 % de P_2O_5 .

Para el nitrógeno se utilizó Sulfato de amonio que contiene 20.5 % de N aprovechable.

Se utilizaron éstos fertilizantes, porque fueron los más accesibles económicamente hablando.

La cepa inoculante fué proporcionada por Quimica Lucava, S.A. DE C.V.; la cual es un inoculante sólido que contiene 500 millones de células viables de Rhizobium phaseoli, por cada gramo; recomendando el fabricante una dosis de 1 kg/ha.

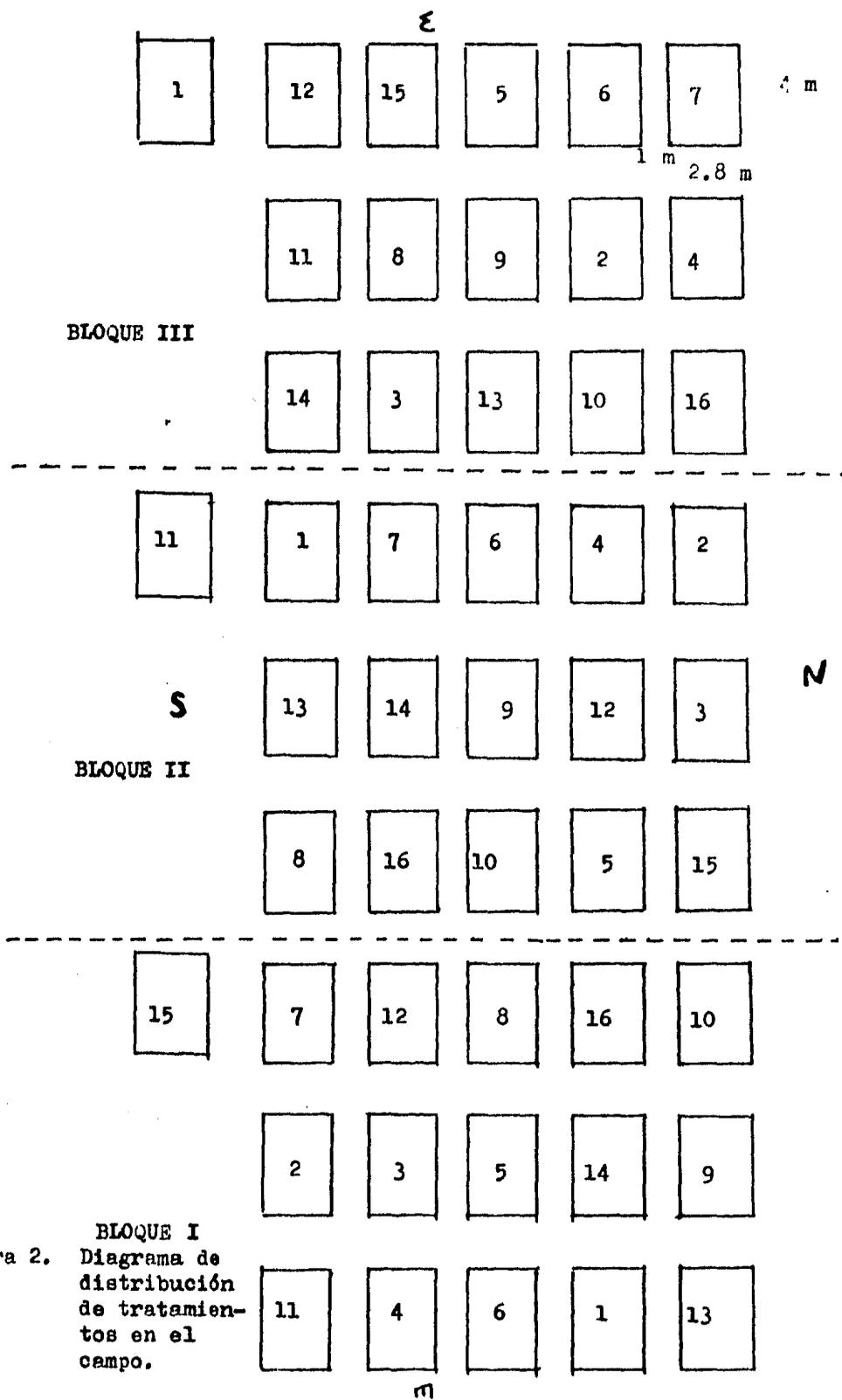


Figura 2.

Diagrama de distribución de tratamientos en el campo.

Cuadro 4. Descripción de los tratamientos utilizados en el presente trabajo.

No. Tratamiento	Variedad	Dosis	Inoculado	sin inocular
1	Bayo	00-00-00	X	
2	"	00-20-00	X	
3	"	00-40-00	X	
4	"	00-60-00	X	
5	"	00-80-00	X	
6	"	00-00-00		X
7	"	00-40-00		X
8	"	40-40-00		X
9	Negro	00-00-00	X	
10	"	00-20-00	X	
11	"	00-40-00	X	
12	"	00-60-00	X	
13	"	00-80-00	X	
14	"	00-00-00		X
15	"	00-40-00		X
16	"	40-40-00		X

Cuadro 5. Características de las variedades utilizadas en el trabajo.

CARACTERISTICAS	VARIEDAD BAYO	VARIEDAD NEGRO
Hábito de crecimiento	semiguía	semiguía
Altura de copa	49 cm	30 cm
Color del follaje	verde claro	verde
Días a floración	40	70-75
Días a madurez fisiológica	79	
Color de las flores	blancas	moradas
Período de floración	20 días	20-25 días
Presenta resistencia :	roya, antracnosis acame	acame
Susceptible a:	sequía, heladas, ataque de plagas y el exceso de humedad	
Tolerante a:		sequía, heladas exceso de humedad, antracnosis, chahuixtle
color de la vaina a madures fisiológica	verde limón	café
Color de la testa	amarillo crema brillante	negro brillante
Forma de la semilla	ovoide	arriñonada
Tamaño del grano	mediano	mediano
Tendencia al desgrane	resistente	

Fuente: PRONASE (73)

El tamaño de las unidades experimentales fué de 4 m de largo por cuatro surcos (distancia entre surcos de 0.70 m), lo cual nos da un total de 11.20 m^2 por unidad y el área total del experimento fué de 537.6 m^2 ; se dejaron además calles de 1 m entre cada unidad.

5.2.1. Preparación del terreno

El terreno se preparó como normalmente se hace en el lugar; arándose con yunta, se barbechó y se surcó, debido a que el lugar era plano no era necesario nivelar; el surcado se hizo a 0.70 m de distancia, después se procedió a trazar las unidades experimentales.

5.2.2. Preparación de la semilla e inoculación

Se escogieron las semillas consideradas en mejores condiciones (enteras, más grandes y sanas), para sembrarlas poniendo por parcela 208 semillas lo que nos dió una cantidad de semilla de 49 kg/ha para la variedad 1 (Bayo) y de 53 kg/ha para la variedad 2 (Negro).

Después de seleccionar las semillas se procedió a la inoculación sin aplicar productos para prevenir enfermedades, y controlar plagas; ya que éstos pueden alterar los resultados de la inoculación.

Se inocularon las semillas directamente en sus bolsas aplicándoles apróximadamente 1.12 g de inoculante; por instrucciones del fabricante se aplicó leche como adherente.

procurando que se impregnarán bien las semillas tanto de la leche como del inoculante, ésto se hizo el mismo día de la siembra, a la sombra a las 5 A.M.

5.2.3. Fertilización

Se aplicó la cantidad total de fertilizante de acuerdo a los tratamientos, el mismo día de la siembra, colocándolo en banda a un lado de la semilla y tapándolo con azadón. Las cantidades aplicadas por tratamiento son las siguientes:

Dosis	g de fertilizante
00-20-00	110
00-40-00	220
00-60-00	340
00-80-00	450
40-40-00	220 +
	220 Sulfato de amonio

5.2.4. Siembra

Se llevó a cabo inmediatamente después de la inoculación a las 6.30 A.M. aproximadamente, el día 30 de Junio de 1985, se aplicarán cuatro semillas por golpe a una distancia de 30 cm entre plantas, con una profundidad de 8 cm a lomo de surco.

5.2.5. Manejo del cultivo

Se trató de mantener el cultivo libre de malezas durante los primeros 50 días en forma manual y con azadón, sin aplicar ningún producto químico para su control. La escarda se llevó a cabo también con azadón cuando las plantas tenían aproximadamente 20 cm de altura.

No se aplicó ningún producto químico para controlar plagas y enfermedades.

5.2.6. Cosecha

La cosecha se realizó en forma manual el 18 de Octubre de 1985 (110 días después de la siembra), cortando toda la planta, esto se hizo por la mañana, se puso a secar para orearse y terminar de secarse, cuando las vainas se secaron completamente se trilló con varas, se separó la semilla de la paja con aire y se limpió pasándola por una criba; todo lo anterior se hizo manteniendo el producto de cada unidad experimental por separado.

5.2.7. Descripción del cultivo

Se sembró el 30 de Junio de 1985, a las 6.30 A.M. después de inocularse la semilla, el día estuvo nublado aunque no llegó a llover mientras se sembró.

Al empezar a emerger las plántulas un roedor dañó la parcela marcada con el No. 1, tratamiento 11, Bloque II;

de tal forma que no se pudo cuantificar al cosechar.

A los treinta y nueve días empezó la floración, iniciándose en la Variedad Negro y dos días después se inició en la Variedad Bayo. Terminó de florear aproximadamente el veintidós de Septiembre.

El cultivo se observaba libre de plagas y enfermedades su aspecto era bueno en general; solo se notaba que las parcelas de la parte norte crecían un poco más lento y fueron las últimas en terminar de florear.

El follaje era abundante y de una coloración verde, su aspecto se observaba bueno en general.

Se mantuvo libre de malezas los primeros cincuenta días, aunque éste trabajo fué un poco lento debido a que se tuvo que hacer con azadón; y no había mano de obra suficiente para hacerlo. Aún así se procuró hacerlo para evitar competencia cuando las plantitas de frijol eran pequeñas.

No hubo problemas por el agua ya que el temporal fué abundante y continuo; sólo al final y debido a que el cultivo se implantó en los últimos días que nos indican las recomendaciones técnicas, la cosecha fué tardía; pero no hubo problemas debido a que ya estaban formadas las vainas.

El problema que se presentó fué una granizada en los primeros días del mes de Septiembre, lo que afectó gran parte del follaje dañando en un 70 % del total de las plantas,

por lo que éstas presentaban quemaduras; cuando esto ocurrió en algunas parcelas ya estaban en formación las vainas y otras aún se encontraban floreando.

Al finalizar se observó la presencia de una mosquita blanca pero sólo en las parcelas 18,19,23 y 24.

Se cosechó el 18 de Octubre de 1985; cuando las plantas en su mayoría empezaban a secarse, pero como aún había una gran cantidad de plantas verdes; y con el objeto de no perder grano cuando se secaran las que habían madurado primero, se cortaron parejas poniéndose a secar con el sol, durante ocho días para posteriormente limpiarlas y obtener su rendimiento económico.

5.2.8. Descripción de los parámetros a medir

Las evaluaciones se hicieron de la siguiente manera:

1.- Días a la floración

Días transcurridos desde la siembra hasta que el 50 % de las plantas iniciaron la floración. En éste tiempo también se determinó la cantidad, forma y color de los nódulos efectivos en el cuello de la raíz (parte superior de la raíz principal). Y además se tomaron las muestras para el análisis foliar de nitrógeno, fósforo y potasio, con el fin de tener indicadores que nos permitan valorar el efecto del fósforo sobre la absorción de éstos elementos y su relación con los otros componentes de rendimiento. Se tomaron 3 hojas de la punta de la planta que ya estuvieran formadas, de diez plan-

tas por unidad experimental (59).

El nitrógeno se determinó por el método de Kjeldhal, Fósforo total por el método de oxidación húmeda y colorimetría con molibdato-vanadato. Potasio por el método de ace-nización.

2.- Madurez fisiológica.- número de vainas, tomando un promedio de 10 plantas por unidad experimental.

3.- Madurez comercial.- rendimiento económico (tomando el producto de la parcela útil, convirtiéndolo a peso de la semilla en kg/ha), para efectos de comparar con los rendimientos a nivel Nacional se hizo uso de la Tabla 2, tamaño del grano (peso de 100 semillas) y porcentaje de proteína en grano, por el método Macrokjeldhal y multiplicado por el factor proteína (6.25) (56).

5.3. DESCRIPCION DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

Se formaron tres bloques completos al azar (Figura 2), utilizando una combinación de tratamientos factorial.

Se nombró al bloque que estaba a la entrada del lote con el No. I, al siguiente II y al último III.

Los tratamientos para cada bloque fueron asignados al azar haciéndose para ello diez y seis papeles numerados del 1 al 16 y conforme salían se numeraba en ese orden a las

Tabla 2. Proyecciones de superficie y rendimiento 1973-1980, para frijol en México.

Año	Superficie miles/ha	Rendimiento kg/ha
1973	1,610	559
1974	2,020	572
1975	1,794	610
1976	1,868	624
1977	1,943	636
1978	2,018	648
1979	2,093	659
1980	2,167	669

Fuente: 39 Tomado de Crispin, 1974.

Esta tabla es en términos generales y no se especifica el rendimiento de acuerdo a la variedad.

unidades experimentales.

5.3.1. Análisis estadístico

Se llevó a cabo el análisis de varianza mencionado por (54); utilizando la tabla de Tukey para 5 % y 1 % de significancia.

Debido a que los datos de la unidad 1, Tratamiento 11, Bloque I, no se pudieron cuantificar se hizo uso de la fórmula de ajuste para datos perdidos de Yates, mencionada por (24) (Cuadro 6).

$$y = \frac{rB + tT - G}{(r-1)(t-1)} \quad 1)$$

(Al utilizar ésta fórmula se tiene que restar un grado de libertad de las sumas de cuadrados del error y del total).

Se llevó a cabo también la Separación de Medias de Duncan (DMS) con el objeto de observar si había diferencias entre las medias de los tratamientos en ambas variedades; ya que de acuerdo con (24), es recomendable utilizar dos métodos para analizar resultados.

- 1) Donde: r= número de repeticiones
 B= media del bloque (donde faltó el dato)
 t= número de tratamientos
 T= media de tratamientos (donde falta el dato)
 G= media general

Cuadro 6. Cálculo de ajuste para datos perdidos (Yates), Cochram y Cox, 1985 (24). Parcela No. 1, Bloque I, Tratamiento 11.

Número de nódulos

$$y = \frac{(3) (310) + (16) (83) - 968}{(2) (15)} = 43 \text{ nódulos}$$

Proteína en grano

$$y = \frac{(3) (584.22) + (16) (137.72) - 1807.69}{(2) (15)} = 71.61 \%$$

Rendimiento económico

$$y = \frac{(3) (1255.9) + (16) (553.4) - 5857.1}{(2) (15)} = 225.50 \text{ Kg/ha}$$

Número de vainas

$$y = \frac{(3) (1216) + (16) (410) - 4521}{(2) (15)} = 189.56 \text{ vainas}$$

Tamaño del grano

$$y = \frac{(3) (452.6) + (16) (124.50) - 1481.98}{(2) (15)} = 62.26 \text{ g}$$

VI. RESULTADOS

6.1. ANALISIS DE SUELO

Los resultados del análisis del suelo se presentan concentrados en el Cuadro 7. Se trata de un suelo gris obscuro cuando está seco y se oscurecía cuando se humedece, con una textura predominante Franco-arcillo-arenosa con proporciones de arcilla, limo y arena, consideradas adecuadas para el cultivo del frijol.

De acuerdo con la clasificación tentativa propuesta por (63), para interpretar los análisis de suelo tenemos lo siguiente:

El pH que varía de 7.8 a 8.7 corresponde al rango de mediano a fuertemente alcalino, notándose también que el pH aumenta ligeramente con la profundidad.

Para los contenidos de materia orgánica se encontraron diferencias marcadas puesto que se tienen valores desde 1.08 %, en el pozo número 7 a una profundidad de 20-40 cm que corresponde a un suelo pobre, hasta el valor de 2.35 % en el pozo número 1 a una profundidad de 0-20 cm que según las tablas de interpretación es un valor mediano.

Para el nitrógeno los resultados nos indican que en general es un suelo con bajo contenido, y los valores oscilan desde 0.054 % (pobre) a 0.1175 % (mediano), se aprecia una distribución del nitrógeno similar a la de la materia

No.	Pozo Prof. (cm)	pH Agua 1:2	Color		Densidad Real (g/cm ³)	Textura			Nombre	C.I.C. (meq/100 g)	Materia orgánica (%)	Nitrógeno total (%)	Ca Meq/100 g	Mg meq/100 g	Fósforo p.p.m. (l)	Potasio p.p.m. (l)
			Seco	Húmedo		arcilla %	Limo %	Arene %								
1	0-20	7.9	5YR 5/1	7.5YR 2/0	1.14	33.20	10	46.80	Franco-arcillo-arenoso	57.3	1.27	0.0635	13.9	3.0	40	850
	20-40	8.1	5YR 4/1	7.5YR 2/0	1.13	35.20	18	46.80	Franco-arcillo-arenoso	51.0	1.35	0.1175	7.4	2.9	33	475
2	0-20	8.0	5YR 3/1	5YR 3/1	1.18	47.00	14	58.80	Franco-arcillo-arenoso	64.0	1.51	0.0755	7.7	2.2	40	775
	20-40	8.6	5YR 4/1	5YR 2.5/1	1.16	45.20	14	40.80	arcillo-arenoso	36.0	1.41	0.0705	9.0	3.0	33	500
3	0-20	8.3	5YR 4/1	5YR 2.5/1	1.17	33.20	22	44.80	Franco-arcilloso	54.0	1.50	0.075	18.1	1.9		
	20-40	8.5	5YR 4/1	5YR 2.5/1	1.13	33.20	22	44.80	Franco-arcilloso	43.0	1.22	0.0615	15.5	2.1		
4	0-20	7.9	5YR 4/1	5YR 3/1	1.13	35.20	22	42.80	Arcillo-limoso	60.0	1.22	0.061	6.9	2.1		
	20-40	8.1	5YR 4/1	5YR 3/1	1.17	43.20	24	32.80	Franco-limoso	57.0	1.93	0.0965	7.8	1.5		
5	0-20	8.2	5YR 4/1	5YR 3/1	1.16	29.20	22	48.80	Arcillo-limoso	57.0	1.16	0.058	9.8	1.3		
	20-40	8.7	5YR 4/1	5YR 2.5/1	1.19	45.20	18	36.80	Franco	39.0	1.59	0.0795	13.7	5.4		
6	0-20	8.2	5YR 5/1	5YR 2.5/1	1.20	27.20	20	52.80	Arcillo-limoso	42.0	1.38	0.069	10.7	1.9		
	20-40	8.5	5YR 5/1	5YR 2.5/1	1.12	51.20	24	24.80	Arcillo-limoso	43.0	1.23	0.0615	18.9	3.0		
7	0-20	7.8	5YR 4/1	5YR 3/1	1.16	25.20	28	46.80	Franco	55.0	1.66	0.083	9.7	2.8		
	20-40	8.3	5YR 4/1	5YR 2.5/1	1.17	43.20	20	36.80	Arcillo-limoso	52.0	1.08	0.054	8.3	5.0		

Cuadro 7. Resultados del análisis del suelo.

1) Se trata de 4 muestras compuestas, representativas del terreno estudiado.

orgánica.

Los valores de calcio que se encontraron van de 6.9 a 18.9 meq/100 g y se consideran mediano y alto, respectivamente, observándose que guardan cierta relación con el pH, el cual como se observa es un suelo de mediano a fuertemente alcalino.

Las cantidades de fósforo aprovechable extraídos mediante el método de Olsen corresponden a suelos ricos pues los valores oscilan entre 33 y 40 p.p.m. siendo los valores más altos los de la capa superficial 0-20 cm.

Las cantidades de potasio fácilmente aprovechable en este suelo van desde 775 a 850 p.p.m. en la capa superior del terreno y de 500 a 575 p.p.m. en la profundidad de 20-40 cm, por lo que se considera un suelo extremadamente rico.

Por su contenido de magnesio, cuyos valores van de 1.30 meq/100 g hasta 5.9 meq/100 g se considera un suelo de medio a alto.

6.2. RESULTADO DE LOS PARAMETROS MEDIDOS

En el cuadro 8 se resumen los valores estimados para el Número de nódulos efectivos, número de vainas por planta, tamaño del grano (g), rendimiento económico (kg/ha), contenido de proteína en el grano (%) y contenido de nitrógeno, fósforo y potasio foliares en % con relación a materia seca.

Cuadro 8. Respuesta de las variedades a los tratamientos de fósforo semilla inoculada y sin inocular.

Tratamiento y variedad			Nódulos promedio por planta	Vainas promedio por planta	Tamaño del grano (g) promedio por semilla	Rendimiento económico Kg/ha	Proteína en grano (% m.s.)	Análisis foliar (% m.s.)		
							N	P	K	
Bayo	0-0-0	I	2.3	9.8	0.282	347.68	37.62	5.14	0.177	3.4
"	0-20-0	I	2.2	9.7	0.286	311.78	35.23	6.16	0.358	2.7
"	0-40-0	I	2.1	8.2	0.299	314.64	31.96	5.47	0.102	3.0
"	0-60-0	I	3.2	9.1	0.311	323.57	38.84	5.74	0.327	3.0
"	0-80-0	I	2.1	9.8	0.308	361.07	37.04	4.83	0.233	3.2
"	0-0-0	SI	2.2	8.5	0.320	555.00	43.34	5.32	0.133	3.0
"	0-40-0	SI	2.3	11.8	0.296	653.57	42.69	5.30	0.363	3.1
"	40-40-0	SI	1.2	13.2	0.312	526.78	34.84	5.06	0.0008	3.0
Negro	0-0-0	I	2.0	8.1	0.335	445.35	35.93	5.07	0.172	2.8
"	0-20-0	I	1.4	8.9	0.307	344.28	41.06	12.15	0.077	3.1
"	0-40-0	I	2.7	9.7	0.323	582.50	39.28	13.15	0.422	1.7
"	0-60-0	I	2.4	8.4	0.330	587.14	34.64	12.75	0.194	3.2
"	0-80-0	I	2.4	10.4	0.377	314.28	45.32	11.13	0.275	3.1
"	0-0-0	SI	2.0	6.9	0.353	322.14	38.15	13.86	0.363	2.9
"	0-40-0	SI	2.0	8.4	0.310	435.71	40.88	15.27	0.241	3.4
"	40-40-0	SI	1.1	13.0	0.333	741.07	38.78	17.69	0.116	3.4

Todos los valores representan el promedio de las tres repeticiones para cada tratamiento.

En las figuras 3 a la 10 se presentan en forma gráfica las variaciones obtenidas como respuesta a las aplicaciones de los diferentes niveles de fósforo, con la finalidad de facilitar la interpretación de los mismos.

Los resultados de los análisis estadísticos de las variables estudiadas se presentan en los Apéndices 1 al 10 para número de nódulos, número de vainas, rendimiento económico, tamaño del grano y proteína en grano, respectivamente.

6.3. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

6.3.1. Análisis de suelos

De acuerdo con las características necesarias en los suelos para una buena nodulación; el terreno donde se llevó a cabo el trabajo las reúne casi todas, materia orgánica con valores de pobres 1.03 % a medianos 2.35 %; textura franco-arcillo-arenosa, apta tanto para el cultivo, como para provocar una buena nodulación, por sus condiciones de drenaje y aireación.

En cuanto a la reacción del suelo, en la Revisión bibliográfica se indica que el pH óptimo está entre 5.5 y 7.5; pero no se indica que puede ocurrir a pH alto, como es el caso del suelo estudiado (7.8 a 8.7), sin embargo, el pH mayor de 8.0 puede actuar indirectamente sobre la nodulación

— 1 Bayo
 ---- 2 Negro

Número de
 nódulos

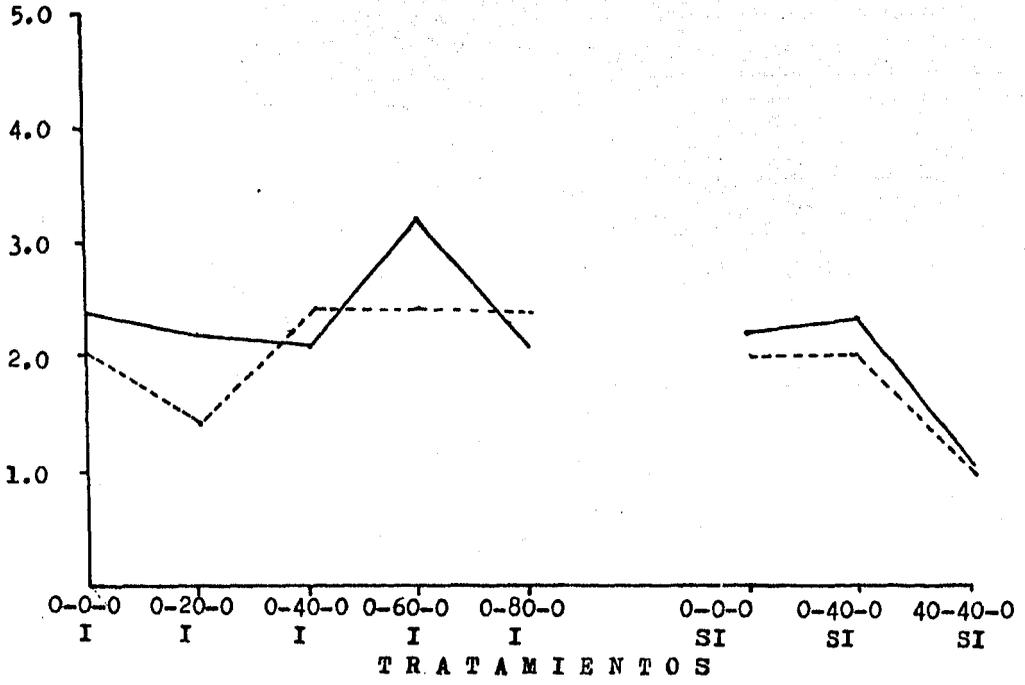


Figura 3. Respuesta número de nódulos, tratamientos por variedad.

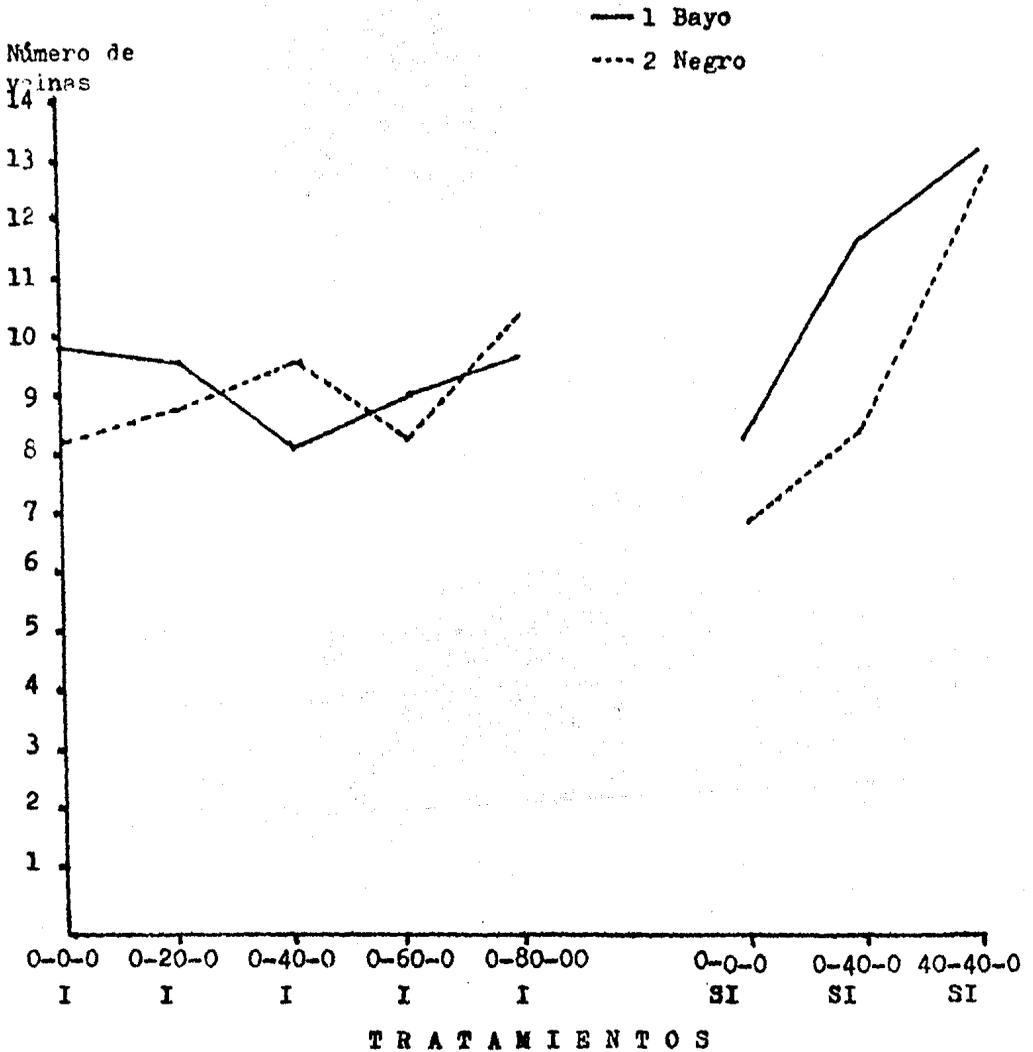


Figura 4. Respuesta número de vainas, tratamiento por variedad.

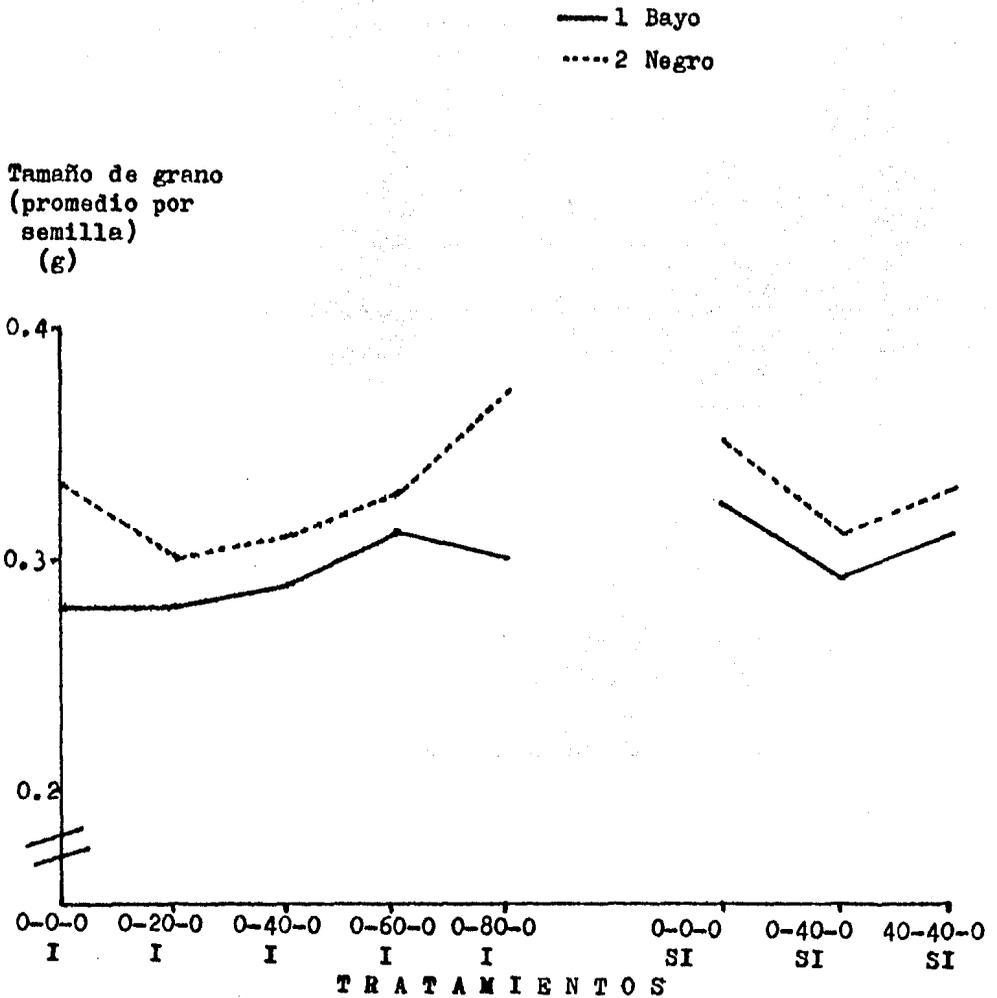


Figura 5. Respuesta tamaño de grano, tratamiento por variedad.

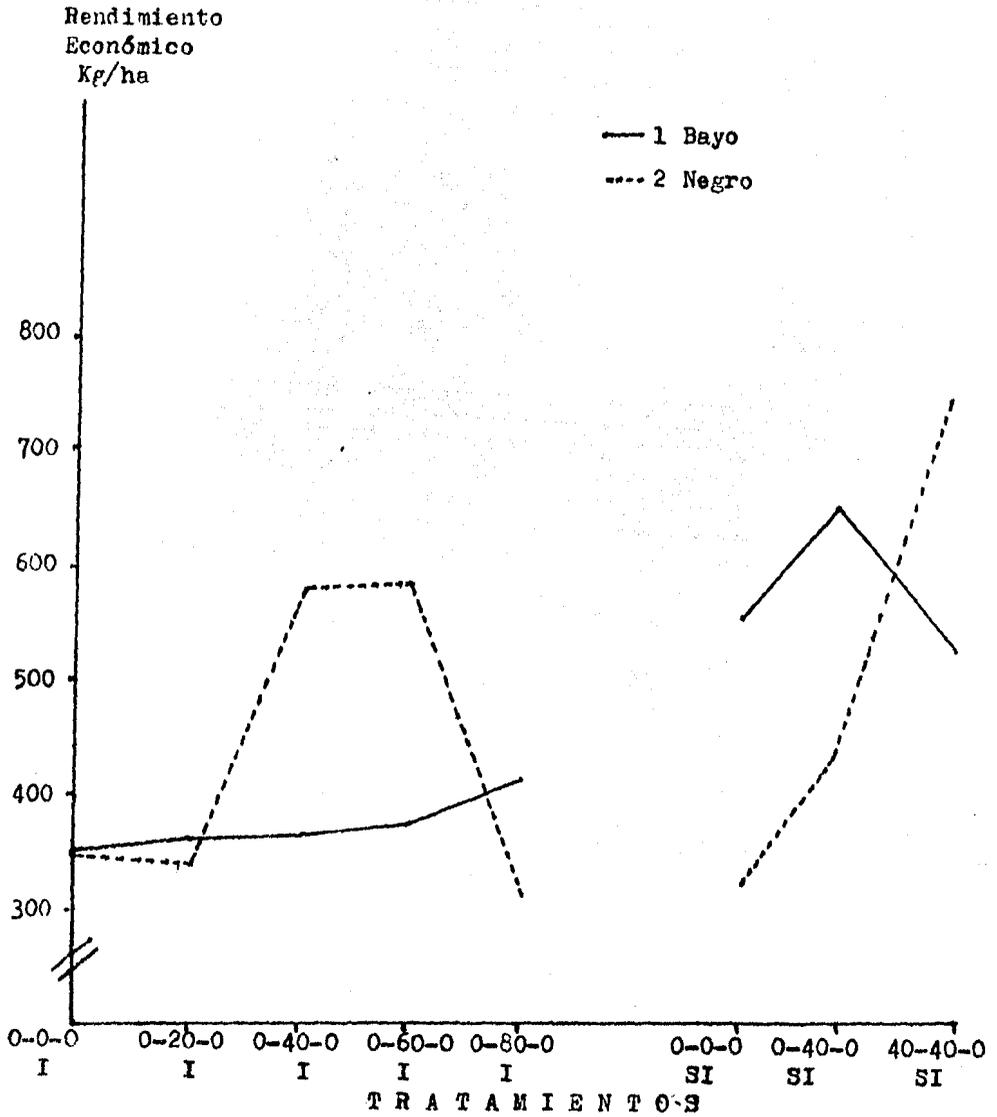


Figura 6. Respuesta Rendimiento económico, Tratamiento por variedad.

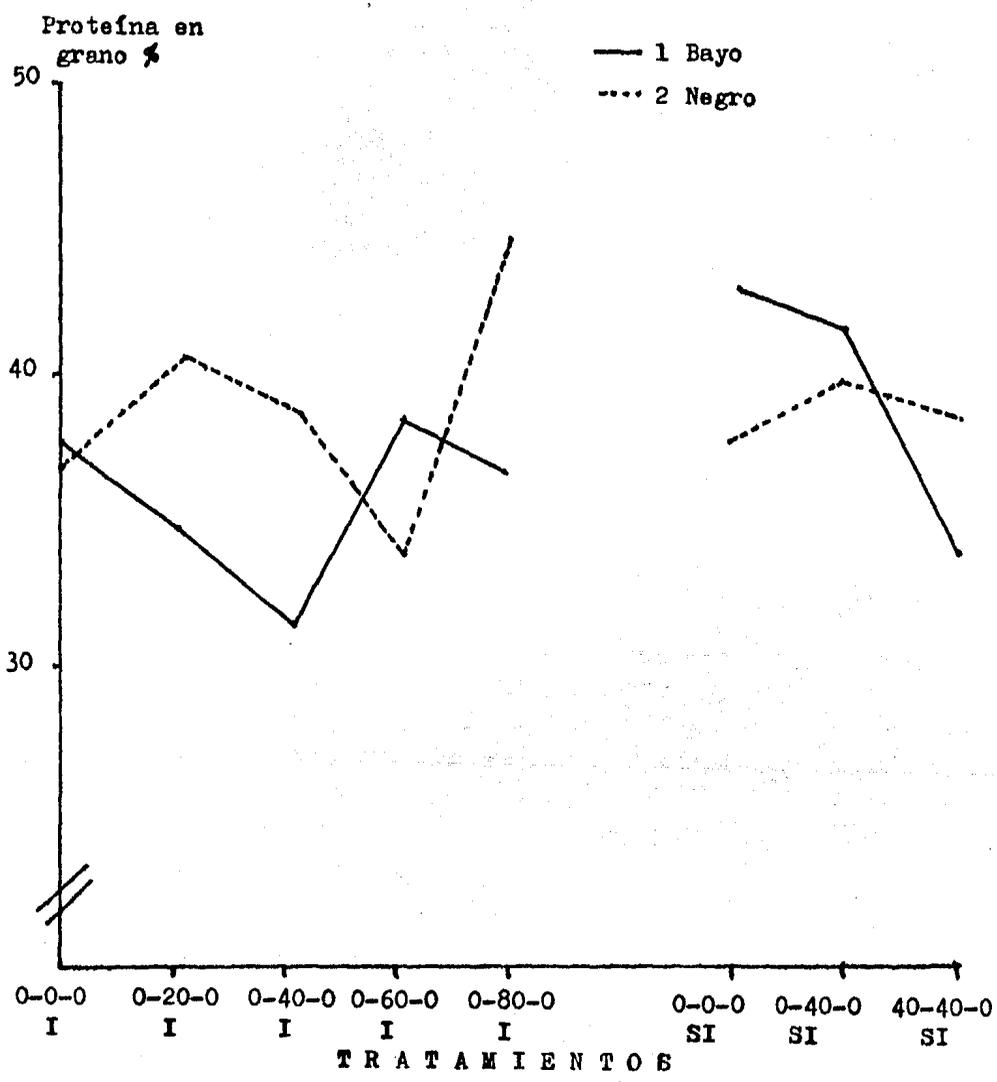


Figura 7. Respuesta Porcentaje de Proteína en grano, tratamiento por variedad.

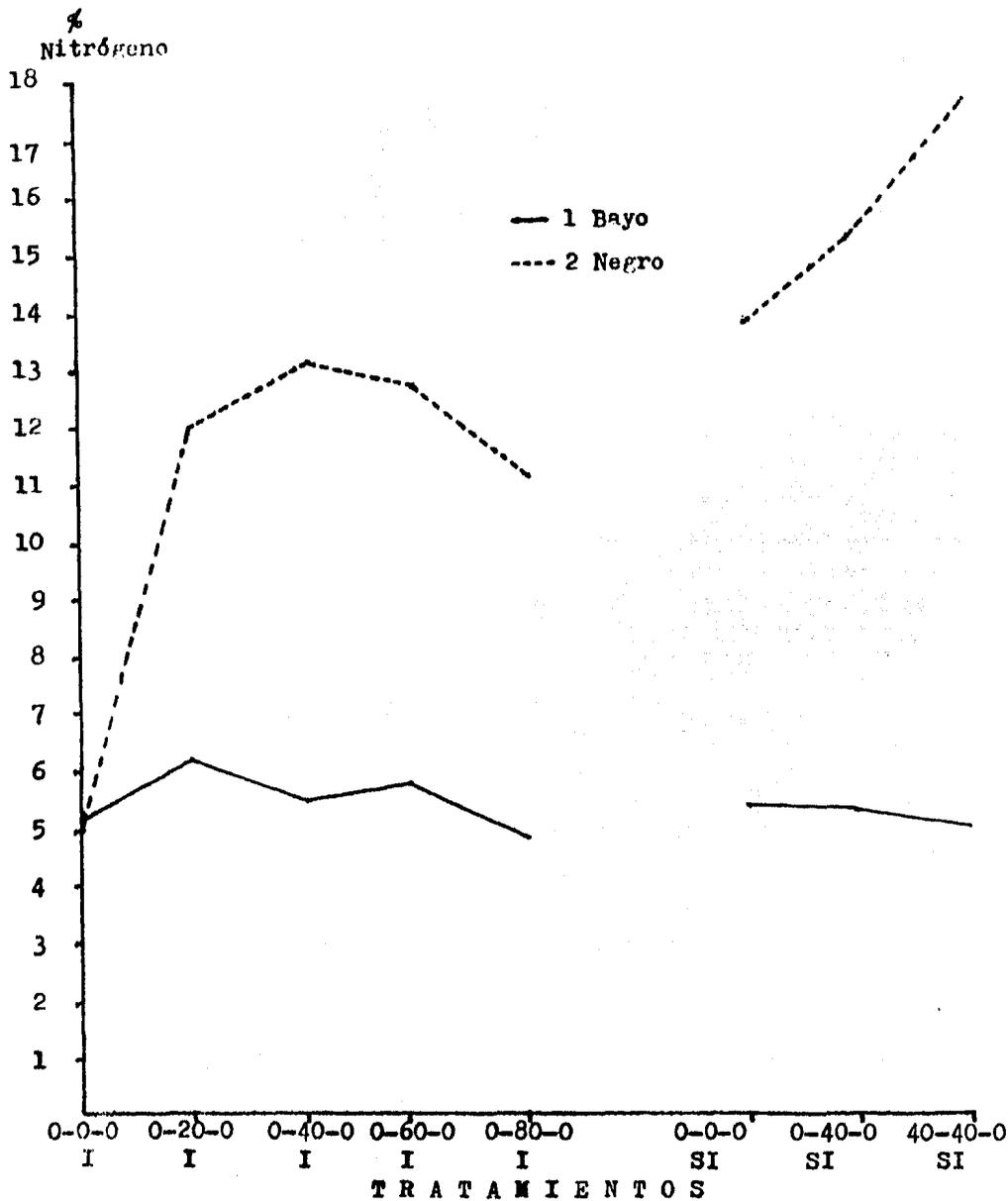


Figura 8. % Nitrógeno en las hojas al inicio de la floración.

— 1 Bayo
 2 Negro

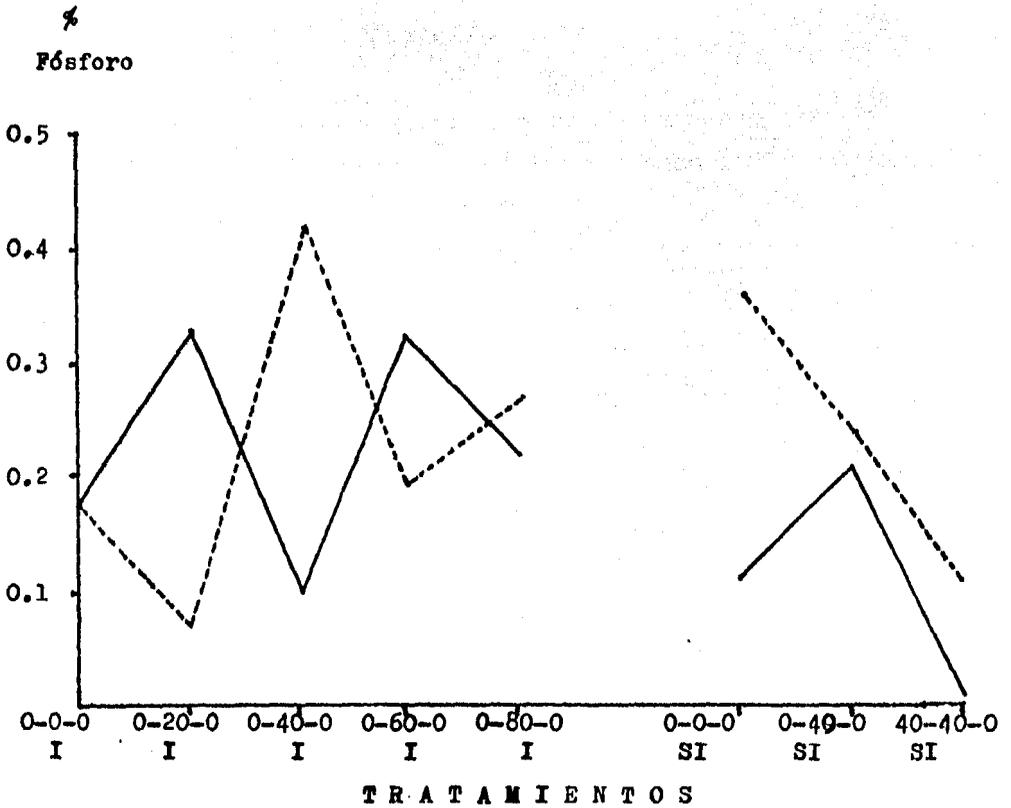


Figura 9. ‰ Fósforo en las hojas al inició de la floración.

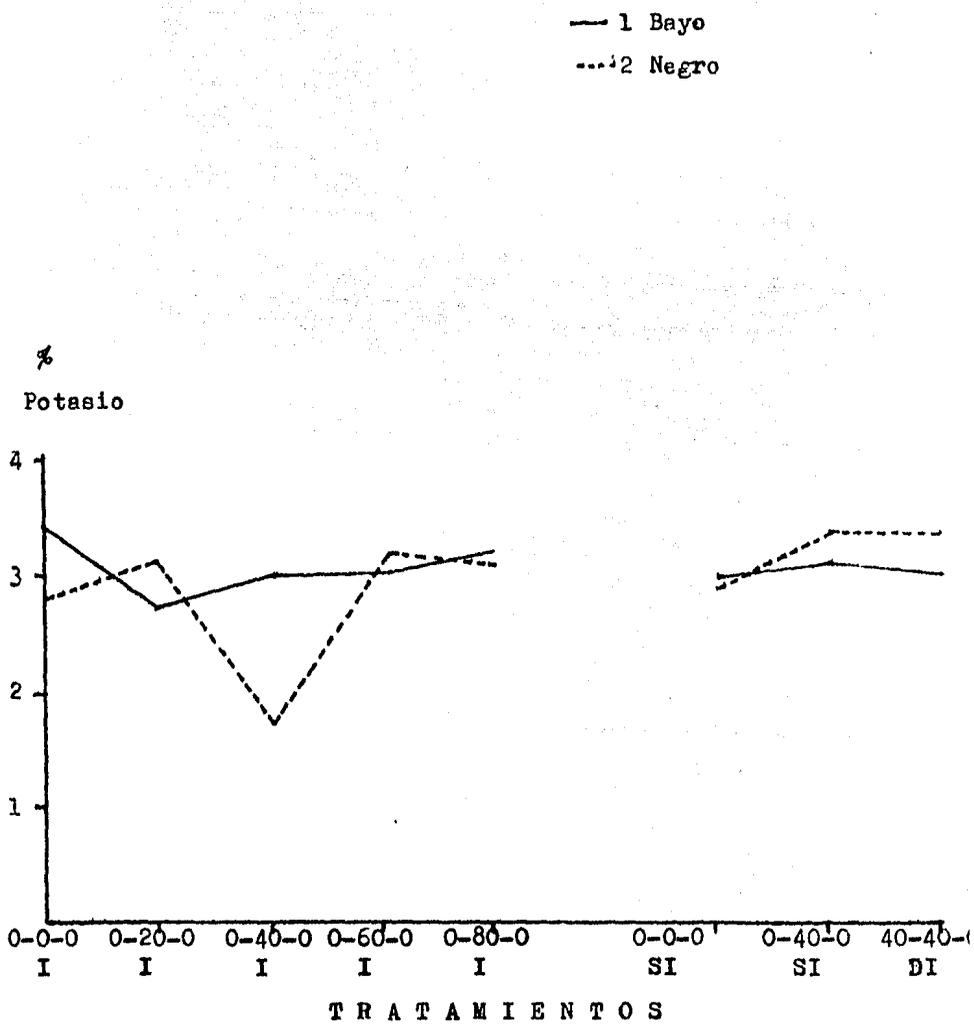


Figura 10. % Pótasio en las hojas al inició de la floreción.

provocando que algunos elementos esenciales se hagan menos asimilables.

Como se sabe el nitrógeno es uno de los elementos principales para el desarrollo de las plantas; sin embargo para las leguminosas inoculadas no se conoce cual es la cantidad adecuada de éste elemento para una buena nodulación. De acuerdo con lo que se indica en la Revisión de literatura, los bajos contenidos de nitrógeno en el suelo estudiado resultan adecuados para el cultivo del frijol, ya que éstas plantas fijan mayor cantidad de nitrógeno atmosférico cuando las cantidades de ese elemento en el suelo son bajas.

También se observa que el contenido de los elementos nutritivos fósforo, potasio, calcio y magnesio en el suelo es adecuado para que se lleve a cabo la nodulación y la fijación simbiótica del nitrógeno sin mayor problema.

Sin embargo, las altas concentraciones de calcio en el suelo pueden haber influido negativamente en la aprovechabilidad del fósforo que se aplicó en cada tratamiento pudiendo ocurrir la reacción de fijación que se menciona en la Revisión de literatura.

6.3.2. Parámetros medidos

NUMERO DE NODULOS EFECTIVOS

El análisis de varianza de los datos (Apéndice, cuadro 1) indica que existe una diferencia altamente significativa (al 1 %) en cuanto al número de nódulos producidos, entre las dos variedades de frijol ensayadas y entre los tratamientos.

La variedad Bayo presentó el mayor número de nódulos con el Tratamiento 4, es decir cuando se inoculó y se aplicó la fórmula 0-60-0, mientras que el número más bajo de nódulos se presentó en el tratamiento 8, cuando la planta no se inoculó y se aplicó la fórmula 40-40-0.

Por su parte, la variedad Negro presentó el mayor número de nódulos con el Tratamiento 11, esto es, inoculada y con la fórmula 0-40-0, y el menor número de nódulos con el Tratamiento 16, sin inocular y con la fórmula 40-40-0.

Analizando el comportamiento de las dos variedades de frijol se puede apreciar (Cuadro 8, Figura 3) que el Negro alcanza su mayor nodulación con 20 unidades de fósforo menos que las que requiere el Bayo. En los dos casos, dosis mayores de fósforo disminuyeron la formación de nódulos.

Las plantas no inoculadas de las dos variedades sin fertilizar (Tratamiento 6 y 14) presentan nódulos que en número son estadísticamente iguales al número de nódulos formados en las plantas inoculadas sin fertilizar (Tratamiento 1 y 9), con lo cual se puede suponer que existe alguna Cepa nativa

de Rhizobium en el suelo, y que ésta podría competir con la cepa inoculada.

Cuando a las dos variedades sin inocular se les aplicó 40 unidades de fósforo (Tratamiento 7 y 15) no se aumentó prácticamente el número de nódulos ya que fueron estadísticamente iguales a los testigos inoculados (1 y 9) y no inoculados (6 y 14) sin fertilizar (Apéndice, Cuadro 6).

Por otra parte, se observó que la aplicación de nitrógeno y fósforo (40-40-0) inhibió notablemente la formación de nódulos de las cepas nativas, tratamiento 8 y 16, en donde se observó menor número de nódulos que los testigos inoculados y sin inocular.

NUMERO DE VAINAS

No se obtuvo diferencia significativa desde el punto de vista estadístico en cuanto al número promedio de vainas producidas por tratamiento en las dos variedades (Apéndice, Cuadro 2).

Sin embargo, si se comparan los valores numéricos que se presentan en el Cuadro 8 y en la gráfica de la Figura 4, se puede apreciar que las plantas sin inocular responden mejor a las aplicaciones de fósforo que las plantas inoculadas, incrementándose el número de vainas, sobre todo cuando se aplica nitrógeno además de fósforo (Tratamientos 6,7, 8 y 14,15 y 16). En todos éstos tratamientos la producción de vainas en el Bayo fué superior al Negro.

En el caso del frijol Bayo inoculado no se aprecia una respuesta significativa a las aplicaciones de fósforo, el número de vainas más alto obtenido con la mayor dosis de fósforo (Tratamiento 5) es similar a la del testigo sin fertilizar (Tratamiento 1); en cambio el frijol Negro inoculado parece responder favorablemente a las aplicaciones crecientes de fósforo.

TAMAÑO DEL GRANO

El análisis de varianza del tamaño del grano, expresado en gramos, indica que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos (Apéndice, Cuadro 4). Sin embargo, si se comparan los valores que se presentan ordenados en el Cuadro 9 del Apéndice y en la gráfica de la Figura 5, se puede apreciar que el frijol Negro es de mayor tamaño que el Bayo en todos los tratamientos, lo cual se explica por sus diferencias genéticas.

El frijol Negro inoculado parece responder favorablemente al incremento del fósforo aplicado lográndose el tamaño más grande del grano con la fórmula 0-80-0, pero cuando no se inocula se obtiene grano casi del mismo tamaño sin aplicar fertilizante.

El frijol Bayo presenta el mismo comportamiento pero la respuesta es menos marcada.

En las dos variedades sin inocular, la aplicación de 40 unidades de fósforo disminuyó el tamaño del grano.

RENDIMIENTO ECONOMICO

El análisis de varianza de los datos de rendimiento económico (kg/ha) indican diferencias significativas entre variedades, siendo superior el rendimiento en la variedad Negro que en el Bayo, pero ésto puede deberse a factores genéticos.

En cuanto al rendimiento económico por tratamiento no se encontró diferencia estadística significativa (Apéndice, Cuadro 3).

Si se observan los valores ordenados en el Cuadro 8 del apéndice y la gráfica de la Figura 6, se puede apreciar que los más altos rendimientos corresponden a las plantas sin inocular (Tratamiento 16 y 7); el frijol Bayo alcanza su máximo rendimiento cuando se aplican unicamente 40 unidades de fósforo (Tratamiento 7), mientras que si se aplican las 40 unidades de fósforo con 40 unidades de nitrógeno disminuye el rendimiento a valores menores que el testigo sin fertilizar, aunque son muy pequeños.

Por otra parte, no se observan incrementos apreciables en el rendimiento cuando se aplica fósforo en el frijol Bayo inoculado.

Para el frijol Negro el máximo rendimiento se obtiene sin inocular aplicando nitrógeno y fósforo. Cuando se inocula ésta variedad los más altos rendimientos se producen cuando se fertiliza con 40 y 60 unidades de fósforo cuya dife-

rencia no es significativa, mientras que un aumento en la dosis de fósforo a 80 unidades produjo la disminución del rendimiento por debajo de los testigos.

PROTEINA EN GRANO

El análisis de varianza indica que no existe diferencia estadística significativa en cuanto a la cantidad de proteína que contienen los granos de frijol entre las dos variedades en todos los tratamientos (Apéndice, Cuadro 5).

Al observar la dispersión de los valores en la gráfica de la Figura 7 y el ordenamiento de los mismos de acuerdo con la prueba de medias en el Cuadro 10 del Apéndice se puede apreciar lo siguiente:

El mayor contenido de proteína en el frijol Negro se obtiene en las plantas inoculadas y fertilizadas unicamente con 80 unidades de fósforo (Tratamiento 13); cuando las plantas de ésta variedad no se inoculan obtienen su mayor contenido de proteína cuando se fertilizan con 40 unidades de fósforo, siendo éste resultado prácticamente igual al que se obtiene con la planta inoculada y fertilizada con 20 unidades de fósforo, los cuales contienen 4.44 % menos de proteína que el valor máximo encontrado en ésta variedad.

Los valores más altos de proteína en el frijol Bayo se obtienen en las plantas sin inocular, en primer lugar cuando no se fertilizan y en segundo lugar cuando se aplican 40 unidades de fósforo (Tratamiento 6 y 7) con una diferencia de

apenas 0.65 %. La aplicación de nitrógeno junto con el fósforo (Tratamiento 8) bajó notablemente el contenido de proteína en el grano, de las plantas sin inocular.

En las plantas inoculadas de frijol Bayo se observa la disminución de proteína por debajo del testigo al aplicar 20 y 40 unidades de fósforo pero aumenta y permanece más o menos estable al aplicar 60 y 80 unidades de fósforo.

ANALISIS FOLIAR

% Nitrógeno

Para éstos parámetros no se hizo análisis estadístico.

Se observa para la variedad Negro en la Figura 8 y Cuadro 8, que el contenido de nitrógeno fué mayor en los tratamientos sin inocular siendo el mayor el Tratamiento 16 con 40-40-0. Observándose que el testigo sin inocular ni fertilizar (0-0-0) presentó el más bajo contenido. En cuanto a los tratamientos inoculados el más bajo fué el del Tratamiento 1 (0-0-0) y se incrementó al aumentar la dosis de fósforo hasta 60 unidades, al edicionarle 20 más (0-80-0) éste disminuyó.

En cuanto a la variedad Bayo presentó un comportamiento muy similar en todos los tratamientos sobresaliendo con poco el Tratamiento 2(0-40-0), notándose que ésta variedad estuvo muy por abajo de los resultados de la Variedad Negro.

% Fósforo

Tuvo una respuesta que no nos permite sacar una conclusión acerca de su relación con las otras variables medidas, Figura 9, se ve que para la variedad Bayo al agregarle las primeras 20 unidades de fósforo (Tratamiento 2) aumentó su % de fósforo, al agregarle 20 más (Trat. 3 0-40-0) disminuyó su respuesta un poco más abajo que en el primer tratamiento donde no se aplicó fertilizante, en el siguiente tratamiento (4 con 0-60-0) volvió a incrementarse y así siguió inclusive con los tratamientos 6, 7 y 8, donde no se inoculó, presentándose en el Tratamiento 8 el contenido más bajo de todos los tratamientos.

La variedad Negro se comportó de forma similar solamente que aquí en el Tratamiento 10 (0-20-0) disminuyó el %, en el Tratamiento 3(0-40-0) aumentó y así a medida que se aumentaba la dosis disminuía y aumentaban el %. En los tratamientos sin inocular (14, 15 y 16) ocurrió lo mismo presentándose en el Tratamiento 16 el más bajo.

% Potasio

En cuanto a éste análisis su respuesta fué muy similar en todas las variables para la Variedad Bayo; no presentando diferencias ni entre los tratamientos inoculados y los que no lo fueron.

En la Variedad Negro su respuesta fué también similar, a excepción de los Tratamientos 3 (0-40-0) y el 6(0-0-0) donde se presentaron los valores más bajos.

Se puede observar al comparar gráficamente las respuestas de las variables medidas (Figura 3 a la 10) que los Tratamientos para ambas variedades que presentaron el menor número de nódulos (8 y 16) (Figura 3), presentaron el mayor número de vainas (Figura 4), así como uno de los mejores tamaños de grano (0.312 g y 0.333 g respectivamente), en cuanto a su porcentaje de proteína si bien son altos de acuerdo con la Revisión de literatura 17.9-37.6 % de materia base seca en frijol (70) son de los más bajos (34.84 y 38.78 %, respectivamente) en éste trabajo aunque, como ya se indicó, su diferencia con los más altos estadísticamente no es significativa.

Por su rendimiento económico el Tratamiento 16 fué el más alto de todos y su contenido de nitrógeno foliar fué el más alto también, mientras que el de fósforo fué el más bajo.

Relacionando su % de proteína con el rendimiento económico se ve que donde el % es mayor su rendimiento es menor y donde es menor el rendimiento es mayor, y ocurre lo mismo para el contenido de nitrógeno foliar.

VII. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados del trabajo, es posible concluir lo siguiente:

1.- Hay presencia de Rhizobium nativo, puesto que hay nodulación en todos los tratamientos aún en los que no fueron inoculados, por lo que de acuerdo con la Revisión de Literatura el inoculante aplicado tuvo que competir con la Cepa nativa.

Por lo que se puede decir que:

a) La Cepa nativa es "efectiva", puesto que aún cuando el número de nódulos fué menor en los tratamientos sin inocular que los inoculados su rendimiento económico fué mayor, ésto quizá es debido a que en ese terreno se ha sembrado frijol-maíz y en especial las variedades utilizadas en el presente trabajo; en los últimos ciclos de cultivo, por lo que la cepa nativa está adaptada a la variedad y viceversa; así como a las condiciones de clima de la zona.

b) El suelo contiene la cantidad de nitrógeno, materia orgánica, etc. adecuada para el desarrollo del frijol, lo que se comprueba con los resultados del Tratamiento 8 y 16, pero que al agregarle el fertilizante fosforado, sus rendimientos se pueden incrementar.

2.- Se pudo observar que al aplicar inoculante y fertilizante fosforado las respuestas solo estuvieron altas en algunas de las variables medidas; mientras que el aplicar fertilizante fosforado sin inocular la respuesta para todas las va-

riables en ambas variedades fué alta, por lo que se puede decir que el tratamiento 0-40-0 sin inocular, fué el mejor bajo éstas condiciones de clima, suelo y cultivo.

3.- Que aún cuando la variedad "Negro" presentó el más alto rendimiento económico kg/ha con 40-40-0 sin inocular, la Variedad Bayo sin necesidad de aplicar nitrógeno 0-40-0 sin inocular presentó un rendimiento económico alto, por lo cual si se toma en cuenta esto la Cepa nativa es más eficiente puesto que no hubo necesidad de adicionar nitrógeno en forma de fertilizante.

4.- Que de acuerdo con las recomendaciones técnicas la dosis de fertilización 40-40-0, para la zona del Valle de México es adecuada en ésta zona para la Variedad Negro; en base a que fué en éste tratamiento donde se obtuvieron mayor número de vainas, su tamaño de grano fué mayor, su rendimiento económico fué el más alto y su porcentaje de proteína también estuvo entre los más altos.

Sin embargo, pese a que se obtuvieron resultados, se puede observar que algunas de las variables medidas presentan datos disparatados, puesto que no concuerden mucho entre repeticiones; esto pudo deberse a que se presentó una granizada que afectó muy seriamente a las plantas; de acuerdo a la Revisión de Literatura donde se menciona que cuando ocurre defoliación en las plantas de frijol afecta sus rendimientos, lo cual se cree que fué lo que ocurrió en éste trabajo no obstante fué posible obtener cosecha que aunque no era la esperada sí pudo ser cuantificada para el presente trabajo.

Otra cosa que pudo afectar los resultados, es que aún cuando se obtuvo información acerca de como llevar a cabo la inoculación, y se siguieron las intrucciones del fabricante para ello, no se tenía experiencia de como hacerlo por lo que se recomendaría que para éste tipo de trabajo se recurriera a personas con experiencia en ello.

B I B L I O G R A F I A .

- 1.- Aguirre, B.G. 1976. Factibilidad económica de la aplicación de inoculante en la producción de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a diferentes niveles de nitrógeno en el suelo de Cadereyta Jiménez, N.L. Monterrey, N.L.
- 2.- Aguilera, M.R.G. 1974. Evaluación del efecto simbiótico de 14 cepas de *Rhizobium phaseoli* en 3 variedades mejoradas de frijol negro de Guatemala. Tesis profesional. Facultad de Agronomía. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- 3.- Alexander, M. 1980. Fijación simbiótica del nitrógeno. En introducción a la microbiología del suelo. Traducción de la 2a. Ed. en Inglés por J.J. Peña Cabriales. Ed. AGT Editor, S.A. México.
- 4.- Allen, N.O. 1974. La inoculación de las leguminosas en "Forrajes". H.D. Hughes, M.E. Heath y D.S. Metcalf Eds. traducida al Español de la 2a. Ed. en Inglés por José Luis de la Loma. Ed. C.E.C.S.A., México, D.F.
- 5.- Anónimo, 1968. Prácticas agrícolas la. parte. Departamento de promoción y divulgación agrícola ENA. Chapingo, México.
- 6.- Barlandas, R.H.R. 1985. Evaluación de la inoculación de cinco variedades de soya (*Glycine max* L.) en el area de Zumpango del Río, Estado de Guerrero. F.E.S. Cuautitlán, UNAM, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México.
- 7.- Bhaduri, S.N. 1951. Influence of the numbers of *Rhizobium* supplied on the subsequent nodulation of the legume host plant. *Ann Botany*.
- 8.- Blake, C.A. 1965. Bulk density in: Methods of soil analysis, Part 2. Chemical and microbiological properties. Madison, Wisconsin. American Society of Agronomy Inc. Agronomy 9.

- 9.- Boonkerd, N., Webner, D.F. and Bezdicek, D.F. 1978. Influence of Rhizobium japonicum strains and Inoculation methods on soybeans grown in Rhizobia-populated soil. *Agronomy Journal*.
- 10.- Bouyoucos, G.J. 1963. Directions for making mechanical analysis of soil by hidrometer method. *Soil Sc.*
- 11.- Brady, N.C. y Buckman, H.O. 1977. Naturaleza y propiedades de los suelos. Montaner y Simon, S.A. Barcelona, 2a. edición.
- 12.- Bral, A.K., Shantaram, S. and Werma, D.F.S. 1980. Changes in the outer cell wall of Rhizobium during development of root nodule symbiosis in soybean. *Can. J. Microbiology*.
- 13.- Brill, W.J. 1977. Biological nitrogen fixation. *Scientific American*.
- 14.- Brock, D.T. 1978. *Biología de los microorganismos* 2a. Ed. Omega, S.A. Barcelona, España.
- 15.- Brockwell, J., Dudmen, W.F., Gibson, A.H., Hely, F.W. y Robinson, A.C. 1968. An integrated programme for the improvement of legume inoculant strains. *Trans. of the 9th Int. Congress of Soil Science*. Adelaide.
- 16.- Brokwell, J. et al., 1975. Use of wild soybean (*Glycine ussuriensis* Regel and maock) as a test plant in dilution nodulation frequency tests for counting Rhizobium japonicum. *Soil Biol. Biochem.* 7.
- 17.- Burton, J.C., O.N., Allen y Berger, K.C. 1954. Response of beans (Phaseolus vulgaris L.) to inoculation with mixtures of effective and ineffective rhizobia, *So. Sce. Soc. American Proc.*
- 18.- Carlsson, B.J. 1973. Soybeans. Improvement, production and uses. *American Society of Agronomy Inc., Agronomy Num. 16.* Edited by Caldwell, E.B. Publisher Madison. Wisconsin, U.S.A.

- 19.- Cassman, K.G., Whitney, A.S. and Stockinger, K.F. 1980. Root growth and dry matter distribution of soybean as affected by phosphorus stress, nodulation and nitrogen source. *Crop. Sc.* 20.
- 20.- Chávez, S.A., Núñez, E.R. y Echegaray, A.A. 1975. Efecto de la fertilización con N, P, Mo, Co y Fe y del manejo de dos cepas de inoculante (Rhizobium phaseoli), sobre la nodulación e acumulación de N y rendimiento de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Tesis M.C. CP, Chapingo, México.
- 21.- CIAT: 1975. Bean production systems program. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Serie FE-No. 5, Cali, Colombia.
- 22.- CIAT: 1981. Informe anual.
- 23.- CIAT: 1985. Informe anual.
- 24.- Cochram, G.W. y Cox, M.G., 1985. Diseños experimentales. 9a. reimpresión. Editorial Trillas, S.A. DE C.V., México.
- 25.- Crofts, F.G., Jackson, D.L.P.M. Martin y W. Patrick, 1971. Fundamentos de agricultura moderna-los vegetales y sus cosechas. Ed. Aedo. Barcelona. España.
- 26.- Cuatle, F.M.E. 1979. Efecto de la fertilización, fumigación del suelo e inoculación con Rhizobium, sobre la nodulación, contenido de nitrógeno y rendimiento de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Chapingo, México.
- 27.- Date, R.A. 1970. Microbiological problems in the inoculation and nodulation of legumes. *Plant and soil* 32.
- 28.- Date, R.A. 1976. Especificidad de la simbiosis Rhizobium-leguminosa VIII RELAR, Cali, Colombia.
- 29.- Dawson, C.R. 1970. Potential for increasing protein production by legume inoculation. *Plant and soil*. 32.

- 30.- Day, M.J. 1976. Influencia de los factores ambientales en la fijación de nitrógeno por las leguminosas. VIII RELAR, Cali, Colombia.
- 31.- De Mooy, C.J., John, P. and Emil S. 1973. Soybeans. Improvement, Production and uses. American Society of Agronomy, Inc., Agronomy Num. 16. Edited by Caldwell, E.B. Publisher Madison, Wisconsin, U.S.A.
- 32.- DEGETENAL 1981. Dirección General de Geografía del Territorio Nacional. Carta de vegetación y clima del Estado de México.
- 33.- Díaz, M.F. 1974. Estudio preliminar sobre algunos componentes morfológicos y fisiológicos del rendimiento en cuatro variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis M.C. CP., ENA, Chapingo, México.
- 34.- Dunham, D.H. y Cox, G.M. 1931. Double Infection of Leguminous Plants with Good and Poor strain of Rhizobia, So. Sca. 31.
- 35.- Echegaray, A. 1958. Microbiología general y agrícola. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Monterrey, México.
- 36.- Fahareus, G. y Ljunggren, H. 1959. The possible significance of Pectic Enzymes in Root Hair Infection b y Nodule Bacteria. *Physiol. Plant.* 12.
- 37.- Franco, A.A. y Dobereiner, J. 1967. Especificidade hospedeiro no simbiose com *Rhizobium-Feijao* e influencia de diferentes nutrientes. *Pes. Agropec. Brasil* 2.
- 38.- Freire, J. 1976. Inoculation of soybean IPAGRO UFRGS, Porto Alegre, R.S. Brasil.
- 39.- Fuentes, T.M. 1981. Respuesta a la inoculación y los componentes del rendimiento en tres genotipos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Chapingo, Méx.

- 40.- Galomo, R.T. 1978. Respuesta de la Inoculación y Fertilización en cuatro variedades de frijol *Phaseolus vulgaris* L. en la Región de la Chontalpa, Tabasco.
- 41.- Graham, H.P. 1976. Problemas en la nodulación de las leguminosas VIII RELAR, Calif, Colombia.
- 42.- Graham, P.H. y Halliday, J. 1977. Inoculation and nitrogen fixation in the genus *Phaseolus*. In exploiting the Legume-Rhizobium Symbiosis in tropical Agriculture. Ed. J.M. Vincent University of Hawaii. College of Tropical Agriculture Publis. 145.
- 43.- Gross, A. 1976. Abonos. Guía práctica de la Fertilización. 6a. edición. Ediciones Mundi-Prensa.
- 44.- Hatfield, J.L., Egli, D.E., Leggett, Joe and Peaslee, D.E. 1974. Effect of applied nitrogen on the nodulation and early growth of soybean. *Agronomy Journal*. 66.
- 45.- Hiltboald, A.E., Thurlow, D.L. and Skipper, H.D. 1980. Evaluation of Commercial soybean Inoculants by various Techniques. *Agronomy Journal* 72.
- 46.- Hinson, K. y Hatwing, E.E. 1978. Nutrición de nitrógeno e inoculación. Producción y protección vegetal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación. Roma.
- 47.- Jackson, M.L. 1964. Análisis Químico de suelos. Ed. Omega. Barcelona.
- 48.- Janseen, K.A. 1972. Effect of Physical and nutritional Factors of the Environment on nitrogen Fixation, Plant Composition and yeald of Dark Kidney Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Ph, D. Thesis. Michigan State University. East Lansing.
- 49.- Karachi, KM. 1979. The effect of phosphorus on growth of four tropical pasture legumes. *F. Afr. Agric. For. J.* 44 (4).

- 40.- Galomo, R.T. 1978. Respuesta de la Inoculación y Fertilización en cuatro variedades de frijol *Phaseolus vulgaris* L. en la Región de la Chontalpa, Tabasco.
- 41.- Graham, H.P. 1976. Problemas en la nodulación de las leguminosas VIII RELAR, Cali, Colombia.
- 42.- Graham, P.H. y Halliday, J. 1977. Inoculation and nitrogen fixation in the genus *Phaseolus*. In exploiting the Legume-Rhizobium Symbiosis in tropical Agriculture. Ed. J.M. Vincent University of Hawaii. College of Tropical Agriculture Publis. 145.
- 43.- Gross, A. 1976. Abonos. Guía práctica de la Fertilización. 6a. edición. Ediciones Mundi-Prensa.
- 44.- Hatfield, J.L., Egli, D.E., Leggett, Joe and Peaslee, D.E. 1974. Effect of applied nitrogen on the nodulation and early growth of soybean. *Agronomy Journal*. 66.
- 45.- Hiltboald, A.E., Thurlow, D.L. and Skipper, H.D. 1980. Evaluation of Commercial soybean Inoculants by various Techniques. *Agronomy Journal* 72.
- 46.- Hinson, K. y Hatwing, E.E. 1978. Nutrición de nitrógeno e inoculación. Producción y protección vegetal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación. Roma.
- 47.- Jackson, M.L. 1964. Análisis Químico de suelos. Ed. Omega. Barcelona.
- 48.- Janseen, K.A. 1972. Effect of Physical and nutritional Factors of the Environment on nitrogen Fixation, Plant Composition and yeald of Dark Kidney Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Ph. D. Thesis. Michigan State University. East Lansing.
- 49.- Karachi, KM. 1979. The effect of phosphorus on growth of four tropical pasture legumes. *F. Afr. Agric. For. J.* 44 (4).

- 50.- Kobashi, S.J. 1979. Fisiología. En contribuciones al conocimiento del frijol (*Phaseolus*) en México. E. Mark Engleman. Ed. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- 51.- Kornelius, E. y Freire, J.R. 1974. Aeração e umidade do solo como factores limitantes da nodulação em *Phaseolus vulgaris* L. Agrom. Subriograndense, Porto Alegre. Brasil 10(2).
- 52.- Lépiz, I.R. 1968. Respuesta a cuatro variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a la inoculación con (*Rhizobium phaseoli*). Tesis Profesional ENA. Chapingo, México.
- 53.- Lie, T.A. 1981. Environmental Physiology of the Legumen-Rhizobium symbiosis. In nitrogen Fixation Vol. 1. Ecology. W.J. Broughton ed. Oxford University Press. 15 BNO-19-8545-40-1
- 54.- Little, M.T. y Hills, J.F. 1985. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. 6a. reimpression. Editorial Trillas, S.A. DE C.V. México, D.F.
- 55.- Loneragan, J.F. 1972. The soil chemical environment in relation to symbiotic nitrogen fixation IAEA, Viena. 149.
- 56.- Lorin, E.H. 1970. Métodos para el análisis químico y la evaluación biológica de alimentos para animales. Universidad de Florida, Gainesville, Florida.
- 57.- Luna, F.M. 1967. Respuesta del frijol Bayomex a la inoculación con *Rhizobium phaseoli* (Dangeard) en Chapingo, Méx. Chapingo.
- 58.- Manguiat, I.J., Torres, F.G. and Tilo S.N. 1981. Preinoculation of field legume seeds with Rhizobia. Phil. Agro. 64.
- 59.- Martvedt, J.J., Giordano, P.M. y Lindsay, W.L. 1983. Micronutrientes en Agricultura traducción Cristina Vaqueiro Garibay. A.G.T. Editor, S.A.México.

- 60.- Mejía, D.C. 1983. Inoculación con *Rhizobium* y su efecto en los componentes del Rendimiento en 4 especies de *Phaseolus*.
- 61.- Mesquita, R.D. 1973. Influencia de algunos componentes morfológicos en el rendimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Tesis de Maestría en Ciencias, Chapingo, Méx.
- 62.- Molina, G.O. 1967. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre algunos componentes fisiológicos del rendimiento y el contenido de nitrógeno en la planta de 6 variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Chapingo, M.C., Chapingo, México.
- 63.- Moreno, D.R. 1970. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, S.A.R.H.
- 64.- Morris, D.R., Boonkerd, N. and Vesuvat, Y. 1980. Effects of N-serve on soybean and soil nitrogen Transformations. Plant and soil 57.
- 65.- Muldoon, J.F., Hume, D.J. and Beversdorf, W.D. 1980. Effects of seed and soil applied Rhizobium japonicum inoculants on soybean in Ontario, Canada. J.Plant Sci. 60.
- 66.- Munsell Soil Chart. 1975. Edition Munsell Color, Co. Meryland, E.U.A.
- 67.- Normales Climatológicas. 1980. Dirección General de Geografía y meterología, S.A.G.
- 68.- Nutman, P.S. 1971. The Physiology of Root Hair infection. In as leguminosas na Agricultura Tropical. I. Dobereiner, P.A. da Eira y A.B. Campelo eds. anais do Seminario sobre Metodología e Planifamiento de Pesquisa Cam Leguminosas Tropicais, realizado no Instituto de Pesquisa Agropecuaria do Centro Sul en 1970. Brasil.
- 69.- Olsen, F.J. and Moe, P.G. 1971. The effect of phosphate and lime on the establishment, productivity, nodulation and persistance of *Desmodium intertum*, *Medicago sativa* and *Stylosanthes gracilis* E. Afr. Agric. For. J. 37.

- 60.- Mejía, D.C. 1983. Inoculación con *Rhizobium* y su efecto en los componentes del Rendimiento en 4 especies de *Phaseolus*.
- 61.- Mesquita, R.D. 1973. Influencia de algunos componentes morfológicos en el rendimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Tesis de Maestría en Ciencias, Chapingo, Méx.
- 62.- Molina, G.O. 1967. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre algunos componentes fisiológicos del rendimiento y el contenido de nitrógeno en la planta de 6 variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Chapingo, M.C., Chapingo, México.
- 63.- Moreno, D.R. 1970. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, S.A.R.H.
- 64.- Morris, D.R., Boonkerd, N. and Vesuvat, Y. 1980. Effects of N-serve on soybean and soil nitrogen Transformations. Plant and soil 57.
- 65.- Muldoon, J.F., Hume, D.J. and Beversdorf, W.D. 1980. Effects of seed and soil applied Rhizobium japonicum inoculants on soybean in Ontario, Canada. J.Plant Sci. 60.
- 66.- Munsell Soil Chart. 1975. Edition Munsell Color, Co. Meryland, E.U.A.
- 67.- Normales Climatológicas. 1980. Dirección General de Geografía y meterología, S.A.G.
- 68.- Nutman, P.S. 1971. The Physiology of Root Hair infection. In as leguminosas na Agricultura Tropical. I. Dobereiner, P.A. da Eira y A.B. Campelo eds. anais do Seminario sobre Metodología e Planifamiento de Pesquisa Cam Leguminosas Tropicais, realizado no Instituto de Pesquisa Agropecuaria do Centro Sul en 1970. Brasil.
- 69.- Olsen, F.J. and Moe, P.G. 1971. The effect of phosphate and lime on the establishment, productivity, nodulation and persistance of *Desmodium intertum*, *Medicago sativa* and *Stylosanthes gracilis* E. Afr. Agric. For. J. 37.

- 70.- Ortega, T.E. 1976. Aplicación de inoculantes a las semillas para siembra de leguminosas. Seminario INIA, México. Inédito.
- 71.- Ortiz, V.B. 1967. Edafología. E.N.A. Chapingo, México.
- 72.- Pons, A.L., Goepfert, C.F. y Oliveira, F.C. 1976. Efeito da adubacao nitrogenada em feijoeiro II. Solo vida. Agron. Subriograndense. Porto Alegre 12 (2).
- 73.- PRONASE. 1980.
- 74.- Quiespel, A. 1974. The biology of nitrogen fixation. Frontiers of Biology Vol. 33. North Holland Publishing Company, Amsterdam, Oxford.
- 75.- Reyes, J.J.E. 1978. El rendimiento y sus componentes en frijol de gufa (*Phaseolus vulgaris* L.) y ayocote (*Phaseolus coccineus*, L.) en función de la densidad de población. Tesis profesional de la U.A.N.-E.S.A., Tepic, Nayarit.
- 76.- Sabbagh, G.E.A. 1975. Primer ensayo de fertilización e inoculación en frijol, en el ejido de Portezuelos, municipio de Manlio Fabio Altamirano, Ver. Tesis Profesional Ing. Agronomo, ENA, Chapingo, México.
- 77.- S.E.P. 1985. Manuales para educación agropecuaria Frijol, y chicharo.
- 78.- Síntesis Geográfica del Estado de México 1985. S.P.P.
- 79.- Souto, S.M. y Dobereiner, 1968. Efeito do fosforo temperature e unidade do solo na nodulacao e no desenvolvimento de duas variedades de soja perene. Pesq. Agrop. Brasil.
- 80.- Srhoder, E.C. 1970. Métodos de selección de cepas de *Rhizobium Trifolii* (Dangeard) para *trifolium subterraneum* L.CV. Baccus Marsh. I. Ensayos de Laboratorio V. Reunión Latinoamericana de *Rhizobium*, Río de Janeiro, Brasil.

- 81.- Ssali, H. and Keya S.O. 1983. The effect of Phosphorus on nodulation, Growth and Dinitrogen Fixation by Beans. Departmente of Soil Science, University of Nairobi, Nairobi, Kenya. Biological Agriculture and Horticulture.
- 82.- Stewart, W.D.P. and Band, G. 1961. The effect of ammonium nitrogen on fixation of elemental nitrogen in *Alnus* and *Myrica*. *Plant and Soil*. 14.
- 83.- Tamahane, V. D.P. , Motiramani, V.P. Boli y R.L. Donahue. 1978. Suelos: Su química y fertilidad en zonas tropicales. Ed. Diana, México.
- 84.- Trujillo, G.G. 1976. Perspectivas de la inoculación de leguminosas de grano en México. Resúmenes de la VIII. RELAR, CIAT, Cali, Colombia.
- 85.- Trujillo, G.G. 1981. Producción de inoculantes en México. Memoria del IV Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Tomo II. S.L.P.
- 86.- Turgeon, G.B. y Bauer, D.W. 1982. Early Events in the infection of Soybean by *Rhizobium japonicum*. Time Course and Cytology of the initial Infection Process. *Can. J. Bot.* Vol. 60.
- 87.- Vargas, S.R. 1957. Abonamiento e inoculación en el cultivo del frijol. Informe mensual La Molina 32 (372).
- 88.- Vargas, M.A.T., Pérez, J.R.R. e Suhet, A.R. 1982. Adubacao nitrogenada inoculacao e ópocas de Colagem para a Soja em um solo sob cerrado. *Pesq. Agropec. Brasil, Brasilia* 17(8).
- 89.- Vincent, J.M. 1975. Manual práctico de Rhizobiología. Trad. O. Battiany. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina.
- 90.- Vincent, M.J. et al., 1976. Exploiting the legume-Rhizobium symbiosis in tropical agriculture NIFTAL. Proceedings of a workshop university of Hawaii, U.S.A.

- 91.- Virtanen, A.I. 1939. Mecanismo de la fijación del nitrógeno simbiótico por las leguminosas, Proc. Soil Sci. Soc. Amer. 4.
- 92.- Virtanen, A.I.; Erkama, J.M. y Leikala, H. 1947. Relation Between N/Fixation and Leghemoglobin content of Leguminous Root Nodules Acta Chem. Scand. 1.
- 93.- Waksman, S.A. 1968. Soil Microbiology. University of London, Inglaterra.
- 94.- Walkley, A. 1947. Critical examination for determining Organic Carbon in Soils. Soil Sci.
- 95.- Walter, G.W., Mcbee, H.R., Temple, L.K. 1984. Introducción a la microbiología. Ed. Compañía Editorial Continental, S.A. DE C.V., México.

A P E N D I C E

Cuadro 1. Análisis de varianza de "número de nódulos"

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	P. calcula	F.T. REQUERIDO .05	.01
Bloques	2	28.49	14.24	0.8672n.s.	3.33	5.42
tratamientos	15	1,294.14	86.27	5.25 **	2.02	2.72
error	29	476.18	16.42			
Total	46	1,798.81				

n. s. = no significativo

** = altamente significativo

Cuadro 2. Análisis de varianza "número de vainas"

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	P. calcula.	F.T. REQUERIDO .05	.01
Bloques	2	3,433.34	1,716.67	1.459n.s.	3.33	5.42
Tratamientos	15	16,866.44	1,124.43	0.956n.s.	2.02	2.72
Error	29	34,103.56	1,175.98			
Total	46	54,403.34				

n. s. = no significativo

Cuadro 3. Análisis de varianza "rendimiento económico"

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F. calcula.	F.T. REQUERIDO	.05	.01
Bloques	2	28,114.28	14,057.14	3.88 *	3.33	5.42	
Tratamientos	15	75,865.29	5,057.68	1.39 n.s.	2.02	2.72	
Error	29	105,016.41	3,621.25				
Total	46	208,995.98					

* = significativo

n.s. = no significativo

Cuadro 4. Análisis de varianza "tamaño de grano"

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F. calcula.	F.T. REQUERIDO	.05	.01
Bloques	2	4.72	2.36	.0898n.s.	3.33	5.42	
Tratamientos	15	495.09	33.00	1.256 n.s.	2.02	2.72	
Error	29	762.00	26.27				
Total	46	1,261.81					

n.s. = no significativo

Cuadro 5. Análisis de varianza "proteína en grano"

Fuente de variación	G.L.	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F. calcula.	F.T. REQUERIDO	.05	.01
Bloques	2	81.11	40.55	.600 n.s.	3.33	5.42	
Tratamientos	15	954.33	63.62	.9420n.s.	2.02	2.72	
Error	28	1,890.87	67.53				
Total	46	2,926.31					

n.s. = no significativo

Cuadro 6. Prueba de medias (DMS) "número de nódulos"

$$DMS \ .05 = t \sqrt{\frac{2s^2}{r}} = 1.15 \sqrt{\frac{2(62.92)}{2}} = 7.45$$

Tratamiento	Media	Significancia
14	32	a
11	27	b
12	24	b
13	24	b
1	23	b
7	23	b
2	22	b
6	22	b
3	21	b
5	21	b
9	20	b
14	20	b
15	20	b
10	14	c
8	12	c
16	11	c

Cuadro 7. Prueba de medias (DMS) "número de vainas"

$$\text{DMS } .05 = t \sqrt{\frac{2s^2}{r}} = 1.15 \sqrt{\frac{2(1951.10)}{3}} = 41.47$$

Tratamiento	Media	significancia
8	132	a
16	130	a
7	118	a
13	104	a
1	98	a
5	98	a
2	97	a
11	97	a
4	91	a
10	89	b
6	85	b
12	84	b
15	84	b
3	82	b
9	81	b
14	69	b

Cuadro 8. Prueba de medias (DMS) "rendimiento económico"

$$DMS .05 = t \sqrt{\frac{2s^2}{r}} = 1.15 \sqrt{\frac{2(6842.80)}{3}} = 77.67$$

Tratamiento	Media	Significancia
16	741.07	a
7	653.57	b
12	587.14	b
11	582.50	b
6	555.00	c
8	526.78	c
9	445.35	d
15	435.71	d
5	361.07	e
1	347.68	e
10	344.28	e
4	323.57	e
14	322.14	e
3	314.64	e
13	314.28	e
2	311.78	e

Cuadro 9. Prueba de medias (DMS) "peso de grano"

$$DMS .05 = t \sqrt{\frac{2 s^2}{r}} = 1.15 \quad \sqrt{\frac{2(40.04)}{3}} = 5.94$$

Tratamiento	Media	Significancia
13	37.7	a
14	35.3	a
9	33.5	a
16	33.3	a
12	33.0	a
11	32.3	a
6	32.0	a
8	31.2	a
4	31.1	a
15	31.0	a
5	30.8	a
10	30.7	a
3	29.9	a
7	29.6	a
2	28.6	b
1	28.2	b

Cuadro 10. Prueba de medias (DMS) "porcentaje de proteína en grano).

$$\text{DMS } .05 = t \sqrt{\frac{2s^2}{r}} = 1.15 \quad \sqrt{\frac{2(151.45)}{3}} = 11.55$$

Tratamiento	Media	Significancia
13	45.32	a
6	43.34	a
7	42.69	a
10	41.06	a
15	40.88	a
11	39.28	a
4	38.84	a
16	38.78	a
14	38.15	a
1	37.62	a
5	37.04	a
9	35.83	a
2	35.23	a
8	34.84	a
12	34.64	a
3	31.96	b