

65
28j.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

**"RESPUESTA DE CUATRO VARIEDADES DE Glycine max
(L. MERR.) A LA INOCULACION CON Bradyrhizobium
japonicum BAJO CONDICIONES CONTROLADAS".**

TESIS MANCOMUNDA
Que para obtener el Título de :
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A N :
PAREDES MALAGON ROSA ELENA
FLORES BARRERA MARICELA

MEXICO, D. F.

1988.



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.

INDICE

	PAGS.
I. INTRODUCCION	1
II. Antecedentes	4
2.1 Soja	5
2.2 Fijación Biológica de Nitrógeno en Leguminosas.	12
2.2.1 Características de <u>Bradyrhizobium</u> .	12
2.2.2 Establecimiento de la simbiosis.	13
2.2.3 Aspectos prácticos.	23
III. OBJETIVOS	31
IV. MATERIAL Y METODOS.	34
V. RESULTADOS.	39
VI. DISCUSION DE RESULTADOS.	44
VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	47
VIII. RESUMEN.	49
IX. BIBLIOGRAFIA.	52
X. APENDICE.	61

I

INTRODUCCION

El desarrollo de cosechas mejoradas de frijol soja para una región, implica una secuencia de procedimientos para evaluar variedades de soja, dosis de fertilizantes, y diferentes tipos de inoculantes.

La simbiosis entre Rhizobium y leguminosa proporciona una fuente más económica de nitrógeno que el fertilizante nitrogenado. La aceptación de esta idea da mayor importancia al suministro de nitrógeno simbiótico que puede llegar a ser de 100 a 200 Kgs/Ha/año, por lo que los estudios en bacteriología de leguminosas debe ser parte integrante de cualquier programa de investigación.

Tomando en cuenta que el beneficio de los inoculantes está influenciado por muchos factores, entre ellos las relaciones de especificidad entre ciertas cepas de Bradyrhizobium japonicum y diferentes variedades de frijol soja, se pensó que el objetivo práctico del presente trabajo sería el determinar el grado de especificidad de 3 cepas de colección y 3 inoculantes comerciales (nitragin) con las variedades de frijol soja: Júpiter, UVV-1, H80-0892, H 80-0918, las que se pretenden introducir a diferentes zonas del sureste y Golfo de México.

Este trabajo se realizó bajo condiciones nutrimentales y microbianas controladas, efectuándose diferentes tipos de evaluación que llevan eventualmente a la conclusión de si una cepa en particular puede resultar un mejoramiento significativo de la producción vegetal de las variedades en estudio. Los experimentos se efectuaron a nivel invernadero para obtener la interespecificidad de cepas potencialmente efectivas con diferentes variedades de frijol soja.

Este estudio debe ser complementado con otros experimentos de invernadero a fin de determinar la adaptación de las cepas a los suelos en estudio; así como detectar posibles factores que inhiban el efecto de los microorganismos inoculados y finalmente deberá realizarse la validación de las cepas en experimentos de campo que proporcionarán la prueba concluyente de la capacidad de la cepa para incrementar la productividad agrícola, bajo la interacción de los diferentes factores de la región.

II

A N T E C E D E N T E S

2.1 SOJA:

Los avances tecnológicos han hecho posible obtener de la soja varios productos de importancia alimenticia, como: semillas, harinas, concentrados y aislados de proteínas. Estos productos difieren en propiedades funcionales, así como en contenido de grasas y proteínas, pero los patrones de aminoácidos son esencialmente los mismos. Nutricionalmente estos productos tienen en común proteína altamente digerible con grandes cantidades de lisina y un patrón de aminoácidos esenciales relativamente bueno (cuadro 1). Presenta bajo contenido en grasas saturadas, libre de colesterol, tiene pocas calorías; la más baja proporción de calorías por proteína en el reino vegetal. Por lo que los frijoles de soja han sido incorporados a los sistemas alimenticios como fuente de calorías y proteína suplementaria y complementaria. (citado en 3)

Los productos de soja contribuyen a las dietas debido a sus propiedades funcionales, que son esenciales debido a la mejora nutricional y económica que imparten a otros alimentos. El mismo resultado se obtiene al agregarse a dietas basadas en maíz, trigo o arroz. Finalmente, su patrón de aminoácidos les ha permitido ser usados con extendedores de leche y -- carne, sin alterar la calidad de la proteína o la aceptabilidad del producto.

En nuestro país, el 60% de la harina de soja se está usando en productos de panadería; y los panaderos la usan por sus propiedades funcionales y no por su valor nutritivo, ya que además de retener la humedad, mejoran la textura y color, resultando más económica. (citado en 3).

Cuadro 1.- Aminoácidos esenciales contenidos en 100 g. de proteína de soja, (7)

Aminoácidos	Porcentaje (base seca)
Triptofano	0.46
Isoleucina	1.04
Leucina	1.79
Treonina	0.94
Lisina	1.41
Metionina	0.36
Cistina	0.71
Fenil-alanina	1.29
Tirosina	0.84
Valina	1.22

A pesar de su lucha contra diversos obstáculos, la proteína del frijol de soja ha adquirido mayor importancia dentro de la nutrición humana mundial por lo que en las últimas dos décadas, su producción ha aumentado notablemente en varios países, como Estados Unidos, Brasil y China.

Los avances tecnológicos han propiciado el desarrollo de los productos derivados de la soja como extendedores concentrados, fórmulas infantiles, comidas hipoalérgicas, mezclas de proteína vegetal, suplementos de proteínas, de los que ha aumentado también el consumo. Su funcionalidad y mezcla con otros alimentos ha incrementado su aceptabilidad entre personas de todas las edades y de diferentes estratos culturales (citado en 3)-

Así, es necesario que tanto productores como consumidores, tomen -- conciencia de la versatilidad y gran contenido nutritivo de frijol soja, como una vía para solucionar los problemas de alimentación mundial.

La soja puede ser cultivada en varios tipos de suelos dentro de la grandísima variedad de climas; el Brasil ecuatorial, la nevada isla de Hokkaido en el extremo norte del Japón, por ejemplo, son regiones consideradas como las mayores productoras mundiales de soja.

Esta planta es relativamente resistente a enfermedades y parásitos -- y es cultivada muy a menudo sin el uso de fertilizantes nitrogenados.

La soja es una leguminosa que asociada con bacterias del género - Bradyrhizobium las que se encuentran en los nódulos de las raíces de la planta, extraen nitrógeno del aire y lo fijan en los nódulos, y así estimulan el crecimiento de esta planta y de otros cultivos que pueden ser sembrados después o junto a la soja.

Usando el frijol de soja según el tradicional esquema de rotación - de cultivos, no sólo se enriquece el suelo con nitrógeno sino que la misma rotación contribuye a controlar las enfermedades de las plantas y malas hierbas y ayuda al crecimiento de organismos benéficos para el suelo, lo cual reduce la necesidad de usar los pesticidas químicos, los que ocasionan alteraciones ecológicas y detrimento económico. Por otra parte -- conserva la capa de humus protegiendo al suelo de la erosión del viento y el agua y mantiene un mejor equilibrio entre las plantas.

Es de gran importancia social y económica incrementar el cultivo de estas plantas, tanto en calidad como en cantidad, pues de esta manera -

se está mejorando la principal fuente de proteínas del campesino, que en su tradicional dieta diaria incluye siempre leguminosas (citado en 3)

La soja pertenece a la familia Leguminosae, sub-familia Papilionoideae y género Glycine (L). Son plantas herbáceas, anuales, con sistema radicular bien desarrollado y con abundante nodulación, tallos erguidos y bien ramificados, aunque algunas variedades pueden tener tallos rastreros o volubles; la longitud de los tallos varía de 45 cm. a más de 1.5 m. Tanto el tallo como las hojas y vainas suelen ser más o menos pilosas y ásperas.

Las hojas son alternas trifoliadas, con los folíolos oval-lanceolados y el peciolo acanalado en su parte superior donde se pueden observar unas pequeñas estípulas. Las hojas se vuelven amarillas y caen cuando las vainas maduran. Flores en inflorescencia racimosas muy pequeñas y en número bastante elevado (8-16), de color púrpura o blanquecino, con las características típicas del género; vainas ásperas y cortas, las semillas son de tamaño relativamente pequeño, superficie lisa, color amarillo, verde, café y negro, de forma casi siempre ovalada. Y las raíces bien desarrolladas con algunas raíces secundarias débiles. En los cuadros 2 y 3 se resumen las regiones y variedades que se cultivan en México, así como las fechas de siembra.

CUADRO 2

Regiones de la República Mexicana en donde se cultivan diferentes variedades de soja comercial (citado en: 18, 19, 25, 26, 28 y 34)

Región	Variiedad de Soja
Apatzingán, Mich.	Tropicana, Cajeme, Davis, Semmes.
Delicias, Chih.	Davis, Cajeme, Bragg, Tetabiate, Conchos 74.
Valle de Culiacán, Sin.	Cajeme, Bragg, Sinaloa, Huites 77, Sana Lonq, Culiacán, Rosales S-80, Tamazula S-80,
Valle del Fuerte, Sin.	Culiacán, Hood, Tetabiate, Cajeme, Davis, Bragg, Corerepe.
Valle del Mayo, Sin.	Cajeme, Davis, Mayo 80.
Valle de Mexicali, B.C.	Cajeme, Davis, Hood, Lee 68, Hill.
Valle del Yaqui, Son.	Cajeme, Hood, Davis, Tetabiate, Bacatete, Yaqui 80, Sannona, Culiacán.
Zona Tropical Golfo	Tropicana.
Bajío.	Tetabiate, Davis, Jalisco, Cajeme, --- Forrets, Júpiter.
Costa de Oaxaca.	Tropicana, Davis, Júpiter.
Iguala, Gro.	Tropicana, BM-2.
Itsmo de Tehuantepec	Tropicana, Acadian.
Península de Yucatán.	Tropicana, Ciap 72, Uxmal 4
Sur de Tamaulipas	Tropicana, Júpiter, Alamo, Bernal, -- UFV-1, Culiacán.
Tapachula, Chis.	Tropicana, Júpiter, UFV-1, Forrets, U-soja, Sta. Rosa.
Valle de Guadalajara	Jalisco, Cajeme, Davis, Júpiter.

CONTINUA CUADRO 2:

Zona tropical del Golfo

*Tropicana, Forrests, Culiacán,
Júpiter.*

Zona Huasteca

Júpiter, Mineira, UFV-1, Santa Rosa.

C U A D R O 3

FECHAS DE SIEMBRA Y CICLO VEGETATIVO EN DÍAS PARA VARIETADES DE SOJA CULTIVADAS EN DIFERENTES ZONAS (citado en: 18,19,25,26,28, y 34.)

ZONAS	VARIETADES DE SOJA	CICLO VEGETATIVO EN DÍAS	FECHA DE SIEMBRA
Sinaloa	Cajeme	120 - 150	15 mayo-10 junio.
	Bragg	110 - 140	15 mayo-30 junio.
	Davis	100 - 120	15 mayo-30 junio.
	Culiacán	100 - 110	15 mayo-30 junio.
	Huites 77	110 - 115	15 mayo-30 julio.
	Rosales S-80	100 - 130	15 mayo-10 junio.
	Tamazula S-80	100 - 130	15 mayo-10 julio.
	Sanalona - 77	100 - 120	1° jun.-10 julio.
	Soconusco, Chis.	UFV-1	110 - 140
Júpiter		120 - 130	25 jun.-25 julio.
Visoja		110 - 140	25 jun.-25 julio.
Huasteca	Santa Rosa	110 - 130	25 jun.-25 julio.
	Júpiter	110 - 120	1° Jul.-30 julio.
	Mineira	100 - 110	15 jun.-30 julio.
	UFV-1	100 - 120	1° jul.-30 julio.
Tamaulipas	Santa Rosa	110 - 120	15 jun.-30 julio.
	Bernal	120 - 130	1° jul.-30 julio.
	UFV-1	115 - 125	1° jul.-10 Ago.
	Culiacán	100 - 110	1° jul.-10 Ago.
Itsmo de Tehuantepec	Júpiter	120 - 130	1° jul.-10 ago.
	Tropicana	110 - 120	15 mayo-30 junio.
	Acadian	100 - 120	15 mayo-30 junio.

2.2.- FIJACIÓN BIOLÓGICA DE NITRÓGENO EN LEGUMINOSAS Y FACTORES QUE LA AFECTAN.

Se denomina fijación biológica de nitrógeno el proceso por el cual el nitrógeno es reducido a amoníaco por microorganismos procarióticos, los que se agrupan en dos categorías:

- * Microorganismos no simbióticos.
- ** Microorganismos simbióticos.

Dentro del último grupo está ubicada la familia Rhizobiaceae, bacterias que como se mencionó anteriormente se asocian con algunas leguminosas y fijan nitrógeno.

En el establecimiento de la simbiosis, así como en el proceso de fijación de nitrógeno, están involucradas una serie de características genéticas de la bacteria y del hospedero, cuya expresión es regulada por la interacción de los simbioses y por las condiciones del medio ambiente. La literatura sobre estos aspectos es muy extensa y en esta revisión de resumen los aspectos más sobresalientes sobre las características de la bacteria que se asocia con soja, los cambios de la simbiosis, así como las actividades que desempeña cada uno de ellos (citado en 31).

2.2.1.- CARACTERÍSTICAS DE Bradyrhizobium.

Las bacterias del género Bradyrhizobium son bacilos de 0.5 a 0.9 x 1.2 a 3.0 μ . Son Gram negativas, no forman esporas, móviles con flagelos polares o subpolares, los cultivos viejos presentan gránulos de polihidroxibutirato y son pleomorfos. Son aeróbicos y heterótrofos, capaces de utilizar una amplia variedad de hidratos de carbono, con temperatura óptima de

25 a 30°C y un pH óptimo de 6 a 7.

Sus colonias sobre extracto de Levadura manitol agar sales minerales son puntiformes o circulares, convexas y viscosas producen alcalinidad, su crecimiento es lento por lo que para que su desarrollo sea visible requiere de 7 a 10 días de incubación en este medio ya sea en estado sólido o líquido.

- Tiene la capacidad de invadir los pelos radiculares de las plantas leguminosas de zonas tropicales e inducir la formación de nódulos, pudiendo o no fijar nitrógeno atmosférico (citado en: 22)

2.2.2.- ESTABLECIMIENTO DE LA SIMBIOSIS.

Involucra una serie de etapas en las que participan ambos simbiontes y que se resumen a continuación:

- Estimulación de la población de Bradyrhizobium por efecto de rizosfera.
- Deformación de los pelos radiculares de la leguminosa.
- Reconocimiento de los simbiontes, adsorción y penetración de la bacteria a la raíz.
- Desarrollo del nódulo.
- Fijación de nitrógeno.

Estimulación de la población de Bradyrhizobium por efectos de rizosfera.

Las leguminosas como todos los vegetales excretan por la raíz una gran variedad de sustancias que se acumulan en las zonas adyacentes al sistema radicular, las que indudablemente sirven como nutrientes a los microorganismos, lo que determina el aumento de población microbiana en

estas zonas. A esto se le llama efecto de rizosfera.

El efecto de rizosfera no es específico, sin embargo se tiene el conocimiento de que ciertos compuestos estimulan cierto tipo de microorganismos. Y en el caso particular de leguminosas y rhizobia Van Egerat --- (1972) menciona que las raíces de chícharo contienen homoserina, sustancia que favorece específicamente el crecimiento de Rhizobium leguminosarum (citado en 19).

Para el caso de Bradyrhizobium Hubbel y Elkan (1976), estudiaron el exudado de raíces de líneas derivadas de cruces de soja de las variedades Lee y L9 - 674, las cuales difieren en su capacidad para nodular. Y observaron que las líneas noduladas excretan niveles más altos de proteínas y azúcares reductores y menos aminoácidos libres que la mutante obtenida, (citado en: 19)

Considerando la especificidad a nivel de estimulación de bacterias por efecto de sustancias excretadas por diferentes leguminosas, desde 1969 Rovira expuso que la especificidad a este nivel podía ser el resultado de la presencia de compuestos particulares en una especie de leguminosa o del balance equilibrado de varios azúcares, aminoácidos y ácidos orgánicos presentes en el exudado, (citado en: 19).

Otros autores consideran que la falta de especificidad puede ser -- atribuida a la excreción de diferentes compuestos, por las raíces de algunas leguminosas que inhiben el desarrollo de las diferentes especies -- o cepas rhizobia, sin embargo sus resultados no fueron concluyentes, mencionado en (32)

Deformación de los pelos radiculares de la leguminosa.

En este proceso intervienen los dos simbios. La raíz produce - triptofano, que es transformado por la bacteria a ácido indol acético, - el que determina el encurvamiento de los pelos radiculares. La deforma-- ción puede ser de varios tipos, dependiendo de que las combinaciones esta-- blecidas sean homólogas o heterólogas. En el primer caso la deformación-- de la punta del pelo radicular da lugar a lo que se conoce como "cayado-- del pastor" en donde el encurvamiento es francamente evidente.

En el segundo caso la deformación es moderada. En estas dos eta-- pas la colonización de los rhizobia es meramente externa y para que se-- inicie la colonización interna se llevan a cabo una serie de alteracio-- nes bioquímicas y morfológicas en ambos simbios que se inician con:

- El reconocimiento superficial o adsorción de los dos simbios En la leguminosa se atribuye a una glicoproteína denominada lectina que se enlaza a los sitios activos de la superficie bacteriana los que varían - en las diferentes especies de Rhizobium. Reportándose para Bradyrhizo-- bium japonicum a la D- galactosa como componente de la cápsula y la 2-ce-- to-3-deoxioctanato (K D O), constituyente de los lipopolisacáridos de - la pared celular.

La comprobación del papel que juegan los exopolisacáridos bacte-- rianos en el reconocimiento entre hospederos y el establecimiento de la-- simbiosis fue hecha por Bhuvanewari (1984) quien agregó al inoculante - de Bradyrhizobium japonicum polisacáridos capsulares purificados y obte-- nidos de la cepa introducida, induciendo de este modo la formación de un

mayor número de nódulos, [citado en: 15].

La hipótesis del reconocimiento entre lectinas y componentes de la superficie bacteriana es muy atractiva para explicar la especificidad entre los dos simbioses pero hay numerosas incógnitas tales como:

- Diferencia de competencia entre cepas que tienen exopolisacáridos esencialmente iguales.
- Identificación de variedades de Glycine max que no producen lectinas y nodulan.
- Unión de algunas especies de leguminosas con rizobina heterólogos.

Existen algunas explicaciones en relación a la diferencia de competencia entre cepas que contienen exopolisacáridos iguales, y es que aún cuando se establezca la adsorción superficial de los hospederos, en el genoma de la planta existe la información que favorecerá o impedirá que el proceso de infección continúe. Arsac y Cleyet-Morel (1986), Kosslak y Bohlool (1985), [citado en: 15].

Así mismo Hardarson (1979), Anus (1981) y Gučash (1984) reportan que la competitividad de las cepas es influida por otros factores tales como la temperatura del suelo, [citado en 15].

Bhuvanewari (1983) indicó que cualquier factor que altere el estado fisiológico de la bacteria se puede traducir en cambios de la estructura externa modificándose la capacidad de competencia y la habilidad para nodular, [citado en: 15].

Es sabido que la composición de los medios de cultivo empleados --- en la producción de inoculantes determinan diferencias muy marcadas en la secreción de exopolisacáridos y que esto se traduce en la modificación de la habilidad competitiva (115).

Respecto a los otros dos cuestionamientos se requiere de más invaginación que permita aclarar los mecanismos que intervienen.

Desarrollo del nódulo.

Una vez que se ha establecido la unión superficial de los dos simbiontes la bacteria penetra o infecta a la raíz y se inicia la formación del nódulo.

Los fenómenos observados durante el desarrollo del nódulo son:

- Invasión de los pelos de la raíz.
- Avance del hilo de infección.
- Diferenciación de la bacteria y de las células que integran al nódulo, fijación de nitrógeno e inducción de las enzimas de asimilación y distribución del amonio (36).

La infección del pelo de la raíz se lleva a cabo generalmente en el extremo distal que se encuentra enroscado por efecto de la bacteria en donde se produce la invaginación de la pared celular del pelo radicular, en cuyo interior las células bacterianas se multiplican formando el llamado filamento de infección.

El avance de la infección está mediado posiblemente, por la división de las bacterias en el extremo y dentro del hilo de infección, y -- por la presencia de celulasas y pectinasas (Vance, 1983; Bauer, 1981) que participan en el ablandamiento y resíntesis de la pared celular.

Newcomb, 1980; Vance 1983; Vanderhoej y col., 1977 encontraron -- que hay otro factor que interviene en el ablandamiento de la pared celular, como lo es, la síntesis de hormonas vegetales, sintetizadas por la bacteria. Sin embargo, no se ha encontrado la razón por la cual un hilo de infección pasa, a través de la pared de la célula del pelo de la raíz a las células adyacentes.

Las células adyacentes a la raíz son diploides y poliploides. --- Cuando los rhizobia infectan células poliploides estas son estimuladas - iniciándose la división progresiva que conduce a la formación del nódulo.

Las bacterias son liberadas del hilo de infección, quedando separadas del citoplasma vegetal por una membrana de origen vegetal llamada membrana peribacteroidal, dentro de la cual se divide activamente y se transforma en bacteroides. (Dart, 1977; Vance, 1983).

Las células diploides también se dividen. Parte del tejido que no es infectado conecta al nódulo con el tejido vascular de la raíz. Y se ha demostrado que una parte importante del metabolismo del nódulo está confinado a las células no infectadas, debido a la abundancia de ciertos organelos (citado en 36).

Formación del nódulo.

El desarrollo normal de nódulos en soja es razonablemente bien entendido e involucra a las bacterias que inducen la división de las células corticales, el encurvamiento del pelo radicular, la formación del hilo infectivo y elongación y liberación de las bacterias dentro de las células corticales en división y la proliferación continua de células de la plan

ta y bacteria para formar el nódulo funcional.

La iniciación del nódulo y su formación son regulados por ambos simbios, en tanto que las diferencias de tiempo en que aparecen los primeros nódulos, la posición y el número de ellos sobre la raíz son regulados por el hospedero.

El análisis molecular de los genes bacterianos requeridos para la nodulación, y los fenotipos simbióticos de mutantes de Rhizobium diferentes genéticamente han sido examinados con detalle. Esto incluye incapacidad para nodular, nodulación tardía o atenuada, desarrollo de nódulos anormales y cambios producidos en el hospedero (citado en: 31). La formación de un gran número de nódulos debe ser controlada por numerosos genes del hospedero y se ha correlacionado el número elevado de nódulos con el número de raíces laterales e inversamente relacionado con el tamaño de los nódulos. Por otra parte se han reportado hospederos con características genéticas que limitan la nodulación. Y se reporta a Nod1 y Nod2 como genes que controlan directamente el número y tamaño del nódulo, los que codifican para un fenotipo supernodulante, (citado en: 36).

Williams y Linch reportaron una mutante de soja no nodulante, tales plantas acarrean una mutación espontánea designada como nj-1 (citado en: 32).

La comprobación del efecto de la interacción de ambos simbios se efectuó con este tipo de soja no nodulante, la que bajo condiciones experimentales fue inducida a formar nódulos con ciertas cepas de Bradyrhizobium, en donde se obtuvieron nódulos normales en número reducido.

[Devine, 1984] y Lavigne, 1984] [citado en: 32].

En tanto que otras cepas de Bradyrhizobium no nodulan los genotipos $rj1 - rj1$. Esta incapacidad se atribuye a que el genotipo $rj1 - rj1$ reduce la frecuencia de la nodulación pero no influye en la secuencia normal de desarrollo. Alternativamente $rj1 - rj1$ puede inactivar la nodulación normal y de este modo desenmascarar un segundo mecanismo de nodulación. [citado en: 32].

En el caso específico de soja, los nódulos aparecen en la corona de la raíz y se reportan mecanismos que inhiben la nodulación en las porciones terminales.

Las inoculaciones dobles con cepas homólogas de Bradyrhizobium japonicum en soja revelan una respuesta rápida regulatoria de la planta que inhibe la nodulación de la porción distal en la raíz primaria, [citado en: 32]. Heron y Puerppke [20] [1987] reportaron resultados de inoculaciones dobles hechas con Bradyrhizobium en diferentes variedades de soja, - que no parecen estar de acuerdo con lo anterior; y concluyen que la regulación de la nodulación en la raíz primaria parece variable y depende de la interacción entre cepa y variedad específica de soja. Sin embargo el patrón de nodulación no puede generalizarse en forma estricta debido a - que es afectada por factores externos como la temperatura, densidad de la planta y tiempo de la inoculación.

Fijación de nitrógeno y efectividad.

La fijación de nitrógeno es el proceso mediante el cual el nitrógeno elemental es reducido a amonio. Reacción catalizada por la nitroge

nasa. En la simbiosis Rhizobium-leguminosa se lleva a cabo la síntesis de amonio, debido a la presencia de nitrogenasa, que es la clave molecular - en fijación de nitrógeno, siendo sintetizada por la bacteria.

Todos los microorganismos fijadores de nitrógeno la poseen y su estructura química no varía significativamente de una especie a otra y -- por otro lado, no todos los organismos que la poseen fijan nitrógeno.

La nitrogenasa es un complejo proteico constituido por dos componentes principales: Componente I y Componente II. El primero tiene un peso molecular de 220 mil y está constituido por cuatro subunidades, cada una de las cuales es una cadena individual de aminoácidos. Además contiene 24 átomos de hierro y dos de molibdeno. El papel del molibdeno es muy importante ya que parece estar en una parte del sitio activo de la enzima.

El Componente II tiene un peso molecular de 55 mil y está formado por dos subunidades proteicas que incluyen 4 átomos de hierro.

El primer evento en la secuencia que conduce a la fijación de nitrógeno, es la reducción del Componente II por una proteína transportadora de electrones externa a la nitrogenasa. El Componente II reducido, --- reacciona con el ATP y entonces reduce el Componente I, el cual finalmente reduce al nitrógeno molecular formando amoníaco.

Una peculiaridad de todos los sistemas de nitrogenasa es que los dos componentes proteicos de la enzima son desnaturalizados en contacto con el oxígeno por lo que algunos microorganismos fijadores de nitrógeno, han desarrollado mecanismos para controlar la inactivación de la nitroge-

nasa por oxígeno.

En el caso de la simbiosis entre Rhizobium y leguminosas, estas últimas sintetizan una ferroproteína denominada leghemoglobina que está presente en el citoplasma de las células infectadas y en función es dosificar el oxígeno para que no se inactive la nitrogenasa, en los nódulos de la raíz.

La coloración roja de los nódulos se debe a la presencia de la leg hemoglobina. (citado en: 19).

Efectividad en la fijación de nitrógeno.

La efectividad en la fijación de nitrógeno en las leguminosas se inicia con la diferenciación de las bacterias en bacteroides que son los responsables de reducir el nitrógeno atmosférico en amoníaco.

La eficiencia de esta actividad está regulada no solo por la bacteria sino por la interacción con el hospedero y el medio ambiente.

Reportándose bacterias con diferentes grados de eficiencia en la fijación de nitrógeno, que corresponden a bajas, medianas o altamente efectivas. Así como variedades de hospederos que permiten o impiden la manifestación de la actividad de la bacteria.

En relación al grado de efectividad en la fijación de nitrógeno de las bacterias, se indica que la baja eficiencia o efectividad está relacionada con otras características que presentan las diferentes cepas bacterianas, tales como:

— Capacidad para acumular 4-amino hidroxibutirato, la que reduce la -

cantidad de nitrógeno disponible para la planta. [16]

- Incapacidad para utilizar la energía proveniente de los fotosintatos, la que es utilizada para reducir el nitrógeno para la formación y mantenimiento de nódulos [16].
- Incapacidad para sintetizar la enzima hidrogenasa que cataliza la disociación del hidrógeno molecular proveniente de la reducción de nitrógeno molecular, en protones y electrones que son recirculados y utilizados nuevamente en la reducción del nitrógeno. La ausencia de esta enzima impide la recirculación de protones y electrones y determina el desprendimiento de hidrógeno gaseoso, lo que constituye un desperdicio de energía. [117].

Dixon [1972] reporta que la actividad de la hidrogenasa depende de la especie del hospedero. Esto fué corroborado por Gibson [1981] --- quien indica que las cepas CB756 y 32H1 en asociación con Vigna radiata se comportan como hidrogenasa negativa (Hup⁻), en tanto que Vigna unguiculata como Hup⁺ [citado en: 13].

Lo anterior indica la importancia de los estudios en los que se analizan no solo las características de la bacteria sino su compatibilidad con el hospedero; así como su interacción con factores que limitan o favorecen el establecimiento de la asociación y la fijación de nitrógeno, tales como el pH, la temperatura e intensidad de luz (clima), el contenido de humedad y nutrimentos como el Fe, Co, Mo y especialmente el fósforo.

2.2.3 ASPECTOS PRACTICOS

Se ha estimado que esta asociación da origen a la fijación de 90-

millones de toneladas de nitrógeno por año. Esto representa más del doble de lo aportado por fertilizantes químicos y más de la mitad de la fijación biológica total por año.

La necesidad de aumentar la producción de alimentos en el mundo, - la trascendencia de este tipo de asociación en la productividad agrícola - y subsecuente economía en el uso de fertilizantes químicos; así como la - posibilidad de introducir este tipo de asociaciones en habitats deficientes de nutrientes ., ha conducido a la producción e introducción de fertilizantes biológicos. Sin embargo, no siempre se obtienen los beneficios - esperados. Ya que como se expuso anteriormente el establecimiento y manifestación de una simbiosis eficiente involucra características genéticas - de ambos hospederos y su interacción con el medio ambiente; así como el manejo de los inoculantes por parte de los productores, distribuidores y - agricultores.

Lo anterior ha conducido a efectuar estudios secuenciales de selección de cepas con base en las siguientes características:

- Efectividad en la fijación de nitrógeno.
- Interespecificidad.
- Capacidad de adaptación a un rango amplio de suelos en los que - se deben considerar factores tales como: resistencia a variaciones de pH, temperatura, presencia de antagonistas, etc. (citado en: 1).

Burton (1976) propuso los siguientes criterios para emplear cepas - en la producción de inoculantes:

- Una cepa debe ser capaz de formar nódulos efectivos en la fijación de nitrógeno en los huéspedes para los cuales se recomienda, y bajo una amplia variedad de condiciones de campo.
- Que la cepa produzca una nodulación temprana en un intervalo amplio de temperatura.
- Que tenga capacidad para crecer en el cultivo.
- Propagarse y sobrevivir en el soporte usado.
- Sobrevivencia sobre la semilla.
- Tolerancia al pH del suelo y a los pesticidas.
- Efectuar la nodulación en la presencia de nitrógeno combinado.
- Interespecificidad baja. (citado en: 5).

La carencia de respuesta a la inoculación con cepas seleccionadas evidenció la necesidad de efectuar no solo la selección de cepas, sino la selección de asociaciones más eficientes que eliminen riesgos de incompatibilidad. Comprobándose que algunas variedades de Glycine max, con ciertas cepas de Bradyrhizobium japonicum dan lugar al establecimiento de simbiosis más eficientes en la fijación de nitrógeno.

Las variaciones de la eficiencia son atribuidas, como se mencionó anteriormente, a características de la bacteria. tabla 1, a la presencia de genes específicos en el hospedero que bloquean la infección de la bacteria específica o bien la expresión de la nitrogenasa, tabla 2.

La interrelación entre las cepas de Rhizobium y su planta hospedera ha sido discutida atribuyéndose la mayor eficacia en cuanto a la fijación de nitrógeno a la especificidad o compatibilidad entre la cepa de Rhizobium y la planta sobre la que nodula.

En la década presente se ha dado gran importancia a la selección --

de asociaciones capaces de nodular y fijar nitrógeno (compatibles), sugiriéndose considerar otras características que permitan identificar el material superior por lo que el germoplasma de ambos simbiontes deberá -- ser muy diverso La Rue (1980), Devine (1984) y Graham (1984) (citado en: 22).

Carroll (1985) y Gremand (1986) consideran que la selección de -- asociaciones capaces de nodular y fijar nitrógeno en ausencia y presencia de nitratos es un aspecto prioritario en la investigación sobre fijación biológica de nitrógeno. Esta afirmación la basan en el hecho de que el efecto de la introducción de cepas que fijan nitrógeno en presencia de -- altas concentraciones de nitratos es limitada por las poblaciones nativas que compiten. En tanto que si se introducen hospederos que nodulan y fijan nitrógeno en presencia de nitratos elimina el problema de competencia. Y reportan a la cepa CB1809 y a las variedades Bragg y Williams como germoplasma superior (citado en: 2)

Lo anterior es particularmente importante si se considera que -- las leguminosas no obtienen todo el nitrógeno de la fijación, sino que -- una parte es utilizado del nitrógeno existente en el suelo, por ejemplo -- los chícharos obtienen del 80 al 90% del nitrógeno requerido a través de la fijación. En tanto que la soja del 50 al 75% por lo que es necesario -- agregar nitrógeno suplementario que podrá tener un efecto inhibitorio en la fijación y que esto dependerá de la cantidad y forma de nitrógeno -- aplicado, sitio de aplicación, factores ambientales y del grado de sensibilidad o tolerancia de los simbiontes para efectuar la fijación de nitrógeno en presencia de nitrógeno disponible (36). Lo anterior indica la necesidad de efectuar estudios sobre la interacción cepa de Bradyrhizobium --

-variedad de soja-dosis de fertilizante nitrogenado como el reportado por Danso (11) que indica asociaciones eficientes entre Nitragin y las variedades Chippewa y Amsoy -71, así como con la cepa D. Los que fijaron nitrógeno eficientemente en presencia de 20 y 100 Kg de N/Ha.

En el laboratorio de Microbiología Experimental de la Facultad de Química U.N.A.M., Hernández y Meza (19) realizaron estudios de selección de asociaciones eficientes, basándose en su interespecificidad. Emplearon 7 variedades de soja que fueron inoculadas con 14 cepas de Rhizobium japonicum de eficiencia comprobada, siguiendo la metodología de Vincent (42). La evaluación de la eficiencia de la asociación se hizo mediante de terminaciones de peso seco en la parte aérea, % de nodulación y contenido de nitrógeno. Se encontró que todas las cepas probadas fueron eficientes con las diferentes variedades, pero que la mayor eficiencia en cuanto a la fijación de nitrógeno fué variable. (Ver tabla 3)

Observándose que las variedades Alonso, Davis y V-1 dieron lugar a asociaciones altamente eficientes con un número reducido de cepas en tanto que las otras variedades establecen asociaciones eficientes con un mayor número de cepas. Observándose que las cepas FQ 9, 17 y 18 dieron lugar a asociaciones eficientes con la mayoría de las variedades estudiadas.

T A B L A I

Resultados de asociaciones eficientes entre diferentes variedades de *Glycine max.* L. Merr. y diferentes cepas de *Bradyrhizobium japonicum*

Clave de cepas	Variedad de <i>Glycine max</i>	Observaciones	Referencias
Mezcla de 6 cepas		En las 3 variedades las cepas 587 y 5019 fueron más competitivas y produjeron mayor peso seco de follaje y mayor contenido nitrógeno.	(35) *
527, 532	Sta. Rosa		
586, 587	Bragg		
5019, 5020	UFV-1		
Mezcla de 5 cepas		En todas las variedades la cepa 29W dio lugar al mayor número de nódulos peso seco y contenido de nitrógeno.	(41) *
513, 527, 532	Missoes, Bragg		
586 y 29W	Parana, Hardee		
	Plamalto, Prata		
	Sta. Rosa, Pampeira		
110 & 38	1 Variedad	Capacidad competitiva.	(6) **
110 & 76		110 76 38	
76 & 38			
Nitragin	Bossier, Júpiter	Asociación eficiente con las variedades Júpiter y CES485	(13) **
	CES485, Malayan		

* Experimento de invernadero y campo

** Experimento de campo.

T A B L A 2

Factores genéticos que controlan la simbiosis en Glycine max. Devine (citado en: 19)

Factores genéticos	Variedades de soja	Fenotipos
Rj1	T181, T201	No nodulan con numerosas cepas de <u>B. japonicum</u>
Rj2	Hardee, CNS	Infectivos con cepas de los serogrupos C1 y 122
Rj3	Hardee	Infectiva con la cepa 33.
Rj4	Hill, Dunfield	Infectiva con la cepa 61.
?	Peking	Infectiva con las cepas del serogrupos 123.

T A B L A 3, (citado en : 19)

Inoculantes unicepas constituidos por:	Variedad de soja	Mayor contenido de nitrógeno.
FQ4, FQ5	Alonso	con FQ5
FQ6, FQ7	Davis	con 17
FQ8, FQ9	V - 1	con 17 y 18
FQ10, FQ11	Cajeme	con FQ5, FQ8, FQ9, 17 - 18.
12, 13	Júpiter	con FQ6, 7, 8, 9, 12, _ 13, 16, 17, y 18
16 y 17	BM - 2	con FQ4, 6, 7, 8, 9, 11 12, 13, 16, 17, y 18
18, FQ 19	Bragg	Todas superiores al tes- tigo con nitrógeno.

III

OBJETIVOS

El efecto benéfico de la bacteria del género Rhizobium sobre el desarrollo de las leguminosas es ampliamente conocido y se utiliza como una de las medidas para mejorar la productividad agrícola.

Sin embargo, este beneficio es influido por muchos factores entre los que se mencionan:

- a) Infektividad y efectividad de las cepas de Rhizobium
- b) Especificidad de las cepas de Rhizobium por variedades determinadas de leguminosas.
- c) Características físicas y químicas del suelo.

En nuestro país existen numerosos reportes que indican carencia de respuesta a algunos inoculantes comerciales existentes en cultivos de diferentes variedades de soja especialmente en las zonas de Tamaulipas y Chiapas.

Con base a lo anteriormente expuesto y a trabajos previos realizados en el laboratorio de Microbiología Experimental, en los que se han seleccionado cepas altamente efectivas en la fijación de nitrógeno e interespecíficas para 7 variedades de soja el objetivo planteado es el siguiente:

OBJETIVO GENERAL:

Seleccionar simbiosis eficientes en la fijación de nitrógeno.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- a) Determinar la interespecificidad de cepas de Bradyrhizobium japonicum seleccionadas previamente y variedades de soja de posible intro -

ducción a las zonas del Golfo y Sureste de la República Mexicana.

b) Comparar el efecto de estas cepas seleccionadas con la respuesta de cepas procedentes de inoculantes comerciales.

IV
MATERIALES
Y
METODOS

El experimento fue conducido en el invernadero perteneciente al laboratorio de Microbiología Experimental de la Facultad de Química (UNAM).

DISEÑO DEL EXPERIMENTO:

El diseño experimental utilizado fue distribución completamente al azar, con tres repeticiones, donde cada unidad experimental estuvo constituida por una jarra de Leonard.

- Jarra Leonard.

Se empleó como soporte vermiculita ajustada a un pH de 7, y como solución nutritiva se usó medio de Jensen adicionado de elementos traza con un pH de 6.8, las jarras se esterilizaron en autoclave a 121°C y 15 libras de presión durante 2 horas (Vincent - 1970).

- Cepas utilizadas.

Se emplearon tres cepas de colección (FQ9, FQ17 y FQ18) y tres inoculantes de la empresa Nitragin (Nj, Ns, Nsw).

- Inóculo.

La propagación de las cepas se hizo en caldo - extracto levadura -- manitol (CELM) a 28°C en un agitador rotatorio hasta alcanzar el -- inicio de la fase estacionaria que se determinó por el método de -- cuenta en placa y turbidimétricamente en el fotocolorímetro (Klett-Sumerson).

El tiempo de incubación requerido varió para cada cepa, alcanzando se alrededor del séptimo día.

Los inoculantes comerciales fueron proporcionados por Nitragin S.A.

Estos se conservaron en refrigeración hasta el momento de su uso.

- Semillas.

En los experimentos se utilizaron semillas certificadas de frijol soja variedades: "Júpiter", "UFV-1", "H80 -0892", "H80 -0818", proporcionadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA).

La selección de estas fue realizada manualmente de tal forma que presentaran un tamaño uniforme. Se desinfectaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 5% durante diez minutos y después se lavaron varias veces con agua estéril y se dejaron germinar sobre algodón húmedo en cajas petri en condiciones estériles a 28°C durante tres días.

- Inoculación y siembra de la semilla.

Se colocaron en cada jarra 5 semillas germinadas, se adicionó a cada semilla 1ml. de cultivo correspondiente, el que contenía 10^8 cel/militro ó 1.5 gramos del inoculante comercial.

- Raleo.

El raleo se efectuó a los 15 días dejando tres plantas por unidad experimental.

- Testigos.

En todos los experimentos se incluyeron plantas testigos sin inocular y sin N, y plantas testigos sin inóculo y con nitrógeno mineral (nitrato de potasio) al 0.05% (T+), (Vincent, 1970).

- *Diseño del experimento.*

Complemente al azar con 8 tratamientos y tres repeticiones.

- *Condiciones en el invernadero.*

Iluminación.- Se ajustó el período de iluminación a 13 horas.

Temperatura.- Temperatura diurna: mínima 25°C - máxima 30°C.

Temperatura nocturna: mínima 18°C - máxima 25°C.

% de Humedad relativa: 70

- *Cosecha.*

Las plantas fueron cosechadas a los 50 días de desarrollo.

- *Parámetros evaluados.*

Porcentaje de plantas noduladas y distribución de los nódulos en las raíces.

Número de nódulos.- Se contó el número de nódulos por raíces.

Altura de la planta.- Se midió cada planta desde la superficie de vermiculita hasta la punta de la hoja más alta.

Peso seco de parte aérea.- Se recolectaron hojas y tallos, y se secaron en estufa a 70°C durante 72 horas hasta peso constante.

Eficiencia de la asociación.- Se tomó como base el peso seco de los tratamientos testigos a los que se agregó nitrógeno mineral. Este valor fue considerado como el 100% debido a que las plantas se desarrollaron en presencia de los nutrimentos. A pesar de este valor se obtuvieron los rendimientos proporcionados por los diferentes tratamientos calificándose como:

Altamente eficientes a las mayores al 100%.

Eficientes a las que son iguales a $100\% \pm 5$.

Eficiencia baja a las menores que 100 y mayores que el testigo sin nitrógeno.

No eficientes las menores que el testigo sin nitrógeno

V
RESULTADOS

TABLA NUM. 1.- Resultados de la inoculación con: Bradyrhizobium japonicum
en la variedad "Júpiter"

TREATMENTS	% DE PLANTAS NODULADAS *		DISTRIBUCION DE LOS NODULOS	NUMERO DE NODULOS POR PLANTAS	ALTURA DE LA PLANTA (cm)	(g) PESO SECO PARTE AEREA POR PLANTA **	EFICIENCIA DE LA SIMBIOSIS *** % DE PROD. GRADO. EFIC.
TESTIGO (-)	0		—	—	51.33	0.855	80.30
TESTIGO (+)	0		—	—	57.33	1.066	100
CEPA	9	66	b	11	56.66	1.066	100
CEPA	17	100	a	17	58.66	0.594	55.72
CEPA	18	100	a	13	51.33	0.955	89.58
NITRAGIN-J	100		a	24	60.66	1.205	113.03
NITRAGIN-S	100		a	18	57	1.099	103.09
NITRAGIN-SW	100		a	9	60	1.077	101.03

*a = Localizados en la parte superior de la raíz
b = Localizados en la parte media de la raíz
c = Localizados en la parte inferior de la raíz

** % De producto base seca
AE=Altamente Eficiente
*E= Eficiente EB=Eficiencia Baja
NE= No Eficiente

TABLA NUM. 2.- Resultados de la inoculación con: Bradyrhizobium japonicum
en la Variedad "H80-0918",

TREATAMIENTOS	% DE PLANTAS NODULADAS	* DISTRIBUCION DE LOS NODU- LOS	NUMERO DE NO DULOS POR PLANTAS	ALTURA DE LA PLANTA (cm)	PESO SECO PARTE AEREA POR PLANTA(g)	EFICIENCIA DE LA SIMBIOSIS **% DE PROD.	DE LA *** GRADO. EFIC.
TESTIGO (-)	0	—	—	46	0.944	47.74	—
TESTIGO (+)	0	—	—	52	1.977	100	—
CEPA 9	100	a	6	39.66	0.847	42.84	N E
CEPA 17	66	b	21	37.33	0.888	44.90	N E
CEPA 18	66	b	6	38	2.150	107.73	E
NITRAGIN-J	100	a	20	36.66	0.933	47.19	N E
NITRAGIN-S	100	a	16	51.66	0.983	49.72	N E
NTRAGIN-SW	100	a	8	51	0.747	37.78	N E

* a= Localizados en la parte superior de la raíz
b= Localizados en la parte media de la raíz
c= Localizados en la parte inferior de la raíz

** % De producto base seca
AE= Altamente Eficiente
E= Eficiente EB= Eficiencia Baja
*** NE= No Eficiente

TABLA NUM. 3.- Resultados de la Inoculación con Bradyrhizobium japonicum
en la variedad "H80-0892"

TRATAMIENTO	% DE PLANTAS NODULADAS *	DISTRIBUCION DE LOS NODU- LOS	NUMERO DE NO- DULOS POR PLANTAS	ALTURA DE LA PLANTA (cm)	PESO SECO PARTE AEREA POR PLANTA(g)	EFICIENCIA DE LA SIMBIOSIS *** % DE PROD. GRADO. EFIC.	LA GRADO. EFIC.	
TESTIGO (-)	0	—	—	36.66	0.736	80.87	—	
TESTIGO (+)	0	—	—	45.66	0.910	100	—	
CEPA	9	100	a	8	42.33	0.700	76.92	N E
CEPA	17	100	a	14	56.66	1.183	130	A E
CEPA	18	100	a	7	44.66	0.711	78.3	N E
NITRAGIN-J	100	a	13	44.33	0.638	70.10	N E	
NITRAGIN-S	100	a	11	45.33	0.855	93.95	E B	
NITRAGIN-SW	100	a	4	45.66	0.961	105.60	E	

* a = Localizados en la parte superior de la raíz
b = Localizados en la parte media de la raíz
c = Localizados en la parte inferior de la raíz

** % De producto base seca
AE= Altamente Eficiente
E= Eficiente EB= Eficiencia Baja
*** NE= No Eficiente

TABLA NUM. 4.- Resultados de inoculación con Bradyrhizobium japonicum
en la variedad UFV-1.

TRATAMIENTOS	% DE PLANTAS * MODULADAS	DISTRIBUCION DE LOS MODU- LOS	NUMERO DE NO DULOS POR PLANTAS	ALTURA DE LA PLANTA (cm)	PESO SECO PARTE AEREA POR PLANTA(g)**	EFICIENCIA DE LA SIMBIOSIS *** % DE PROD. GRADO. EFIC.		
TESTIGO (-)	0	—	—	48	0.688	89.11	—	
TESTIGO (+)	0	—	—	51	0.772	100	—	
CEPA	9	100	a	19	754.33	1.077	139.5	A E
CEPA	17	100	a	17	52.66	0.888	115.02	A E
CEPA	18	100	a	20	50.66	1.3	168.39	AE
NITRAGIN-J	100		a	22	60.33	0.921	119.30	AE
NITRAGIN-S	100		a	22	52.33	1.011	130.95	AE
NITRAGIN-SW	66		b	6	60	0.766	99.22	E

* a = Localizados en la parte superior de la raíz
b = Localizados en la parte media de la raíz
c = Localizados en la parte inferior de la raíz

** % De producto base seca
AE = Altamente Eficiente
E = Eficiente EB = Eficiencia Baja
*** NE = No Eficiente.

VI

DISCUSION DE LOS RESULTADOS.

- Variedad Júpiter.

Los 3 inoculantes comerciales dieron origen a una distribución más abundante en la parte alta de la raíz en tanto que con las cepas de colección se observaron nódulos de menor tamaño y distribuidos a lo largo de todas las raíces, siendo más abundantes en la parte media e inferior de las raíces.

Los resultados del peso seco indican que cuatro de las seis cepas probadas establecieron una asociación eficiente en la fijación de nitrógeno y corresponden en orden decreciente a N-J, N-S, N-SW y FQ9.

- Variedad H80-0918.

Se observó nodulación escasa y distribuida preferentemente en el tercio superior de la raíz en los tratamientos FQ, 9 y los comerciales en tanto que en los otros tratamientos se observaron en la parte media e inferior de la raíz.

El peso seco indica que solo la cepa FQ18 fue capaz de establecer una asociación eficiente aún cuando el número de nódulos por planta resultó muy bajo.

Esta variedad fue la que mostró mayor interespecificidad ya que solo hubo fijación de nitrógeno cuando se empleo la cepa FQ18, en tanto que con los otros inoculantes el rendimiento fue mayor al testigo con nitrógeno y en ocasiones al testigo sin nitrógeno.

- Variedad H80-0892.

Todas las cepas probadas fueron infectivas, la distribución y número de nódulos similares a las observadas en la variedad H80-918.

Tomándose como referencia para conocer el grado de "especificidad" de esta variedad con respecto a las diferentes cepas se observó que únicamente la cepa 17 en este caso fue efectiva en tanto que la 9 y 18 fueron infectivas y no efectivas.

Observando el comportamiento en cuanto a los inoculantes comerciales fué el designado como de mayor efectividad el Nitragin-Sw, y el Nitragin-S, de baja efectividad, en tanto que el Nitragin-J resultó sólo infectivo, ya que el peso seco resultó inferior con respecto al testigo negativo.

- Variedad UFV-1.

Esta variedad resultó de la menor interespecificidad observándose en todos los tratamientos el mayor número de nódulos, los que se detectaron en el tercio superior de la raíz.

Los pesos secos indican que todas las cepas empleadas fueron muy efectivas y dieron lugar a asociaciones altamente eficientes excepto con Nitragin-SW.

Aún cuando los valores de las medias indican variación en el comportamiento de las cepas, en el análisis estadístico no se obtuvieron diferencias significativas.

V I I

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las 3 cepas de colección y los otros tres inoculantes comerciales - son infectivas.

- La eficiencia de la asociación entre las cepas probadas y las variedades de soja es variable, lo que indica diferencias de interespecificidad y se consideran como potenciales para la variedad "Júpiter" a los tres inoculantes comerciales y a la cepa FQ9; para la variedad H80-918 la cepa FQ18; para la variedad H80-0892 a la cepa FQ17 y los inoculantes comerciales N-SW y N-S y para la variedad UFV-1 a todas las cepas probadas.

- La variedad 918 fue la que mostró mayor interespecificidad por lo que es recomendable determinar el efecto de otras cepas de Bradyrhizobium japonicum.

- La variedad UFV-1 desde el punto de vista de inoculación representa menos problema debido a que es capaz de establecer una asociación eficiente con numerosas cepas de Bradyrhizobium japonicum.

Para fines de inoculación en campo se recomienda determinar, en las cepas seleccionadas, grado de competitividad y evaluar el comportamiento de las mismas en presencia de suelo.

VIII
RESUMEN

En México, el cultivo del frijol de soja no satisface las necesidades del consumo nacional, por lo que se realizan considerables importaciones de este grano. Es de importancia vital, social y económica incrementar el cultivo de esta planta, tanto en calidad como en cantidad, pues de esta manera se está mejorando una importante fuente de proteínas. Uno de los procedimientos para aumentar el rendimiento de la soja es el de la inoculación con Bradyrhizobium. Este tema ha tomado bastante importancia debido a la reciente crisis energética mundial y tomando en cuenta 2 puntos de vista sobresalientes como son: el aumento tan grande de la población humana y la menor producción de alimentos por falta de fertilizantes nitrogenados.

Este trabajo representa una fase para encontrar asociaciones eficientes en la fijación de nitrógeno con base en la interespecificidad de cepas potencialmente efectivas de Bradyrhizobium japonicum llamadas "cepas de colección" con diferentes variedades de frijol soja que son: Júpiter", "H50-0842" y "UFV-1"; las cubles son las mejor adaptadas a las condiciones del sureste del país y Golfo de México. Para tal efecto se probaron los siguientes tratamientos: 3 inoculantes comerciales, y 3 cepas de colección: FQRJ9, FQRJ17 y FQRJ18.

El experimento se realizó en jarras de Leonard con 3 repeticiones - utilizando como soporte vermiculita. Este se llevó a cabo en invernadero.

La evaluación de los tratamientos se hizo mediante la determinación del peso seco de la parte aérea, número de nódulos, y distribución de los nódulos en la raíz.

Los resultados obtenidos indicaron que la variedad de frijol soja - UFV-1 presentó un comportamiento excelente con las cepas de colección e - inoculantes comerciales, representando esto una baja interespecificidad - y una eficiencia óptima de todas las cepas, con dicha variedad. Se encon - tró también interespecificidad óptima entre la variedad de frijol soja - H80-0892 con las cepas FQRJ17 y Nitragin "SW", la H80-0918 con la FQRJ18, y la "Júpiter" con la FQRJ9 y los 3 inoculantes comerciales.

IX

BIBLIOGRAFIA

- 1) Barrios L.M.T. y Tsuzuki R.M.G.
Selección de cepas efectivas de Rhizobium japonicum para frijol de soja variedad "Júpiter".
Tesis de Licenciatura, Fac. de Química U.N.A.M. 1980.
- 2) Betts J.H. and D.F. Herridge. --
Isolation of soybean Lines Capable of Nodulation and Nitrogen Fixation under High Levels of Nitrate Supply.
Crop Science, 27 (6): 1156 - 1161. 1987.
- 3) Bill y Akiko S.
La soja y sus derivados. Cuadernos de Natural
Editorial Posada, S.A.
México, D.F., 11 - 20. 1982.
- 4) Brewari R.B., Jain M.K. and Bhatnagar R.S.
Varietal Response of soybean (Glycine max (L) Merr.)
To different strains of Rhizobium japonicum.
Indian F. Agric. Sci. 43 (8): 801-804, 1973.
- 5.- Burton, J.C.
Methods of inoculating seeds and their effect on survival of rizobia.
In: Symbiotic Nitrogen Fixation in plants.
Edition P.S. Nutman. IBP7. Cambridge University
Press, 1976.

- 6) Caldwell B. B.
Initial Competition of root-nodule bacteria on soybeans in a field environment.
Agronomy Journal 61 (5): 813-5, 1969.
- 7) Crispín M.A.- Barriga S.C.
El cultivo de la soja en México.
Folleto de Divulgación No. 54 del INIA SAG, 1975.
- 8) Chávez S.A.
Efecto de la fertilización con N,P,Mo, Co, y Fe y del manejo de dos cepas de inoculante (Rhizobium phaseoli, sobre la nodulación, acumulación de N y rendimiento de frijol (Phaseolus vulgaris, L).
Tesis Maestría, Colegio de Postgraduados Chapingo México, 1975.
- 9) Date, R. A.
Microbiological problems in the inoculation and nodulation of legumes
Plant and Soil, 32: 703-25, 1970.
- 10) Date, R. A.
Principles of Rhizobium strain selection.
In: Symbiotic Nitrogen Fixation in plants.
Edition P.S. Nutman. IBP7. Cambridge University Press, 1976.

- 11) Danso, S.K.A., C. Hera. and C. Douka.
Nitrogen fixation in soybean as influenced by
cultivar and Rhizobium strain.
Plant and Soil 99 (1): 163-174. 1987
- 12) Devine T.E. and Breithaupt. B.H.
Significance of Incompatibility Reactions
of Rhizobium japonicum strains with Soybean
Host genotypes.
Crop Science. 20: 269-271. 1980.
- 13) Devine, E.T.
Genetics and breeding of nitrogen fixation
Biological Nitrogen Fixation Ecology Technology
and Physiology.
Editor. Martin Alexander Plenum Press, N Y, London
127-154, 1984.
- 14) Fernández P.M., Cabezas de H.E. y Ruiz M.A.
Interacción óptima entre estirpes de Rhizobium y variedades
de soja.
Estudio estadístico. Phytón 40, 179-188, 1981.
- 15) Fernández - Flouret, D. y Cleyet-Morel, J.C.
The influence of the culture medium on the
competitive abilities of Bradyrhizobium strains.
Plant and Soil 103: 126-128, 1987.

- 16) Gibson, A.H.
Especificidad en la simbiosis Rhizobium-Leguminosa
VIII Reunión Latinoamericana sobre Rhizobium.
Cali Colombia, 1976.
- 17) Hanus, J.S. y col.
Vied and Nitrogen content of soybean seed¹as
influenced by Rhizobium japonicum in inoculants
possesing the nitrogenase characteristic.
Agronomic Journal 73: 368-372, 1981.
- 18) Hernández R.F., Paredes Vidales P., Alvarado M.J. y col.
SARH - INIA - CIAPAN
Campo Agrícola Experimental del Valle de Culiacán.
Folleto 13: 5, Junio 1985.
- 19) Hernández, S.G. y Meza, F.M.G. ..
Inoculación de Rhizobium japonicum en diferentes
variedades de soja (nivel invernadero).
Tesis de Licenciatura, Fac. de Química, UNAM, 1987.
- 20) Heron S.D. and Pueppke G.S.
Regulation of Nodulation in the Soybean-Rhizobium
Symbiosis.
Plant Physiol. 84: 1391 - 1396, 1987.
- 21) Hughes, T.A. and Elkan, G.H.
Studies on the Rhizobium japonicum Soybean symbiosis.
Plant and Soil 61, 71-80, 1981.

- 22) Jordan, C.D.
Family III. Rhizobiaceae Conn 1938, 32
In: Bergeys Manual of Systematic Bacteriology
Edition Krieg, N.R. & Holt, J.G., Baltimore
1: 234-244, 1984.
- 23) Kvien, C.S., Nam, G.E. and Lambert, J.W.
Recovery of introduced Rhizobium japonicum strains
by soybean Genotypes.
Agronomy Journal, 73: 900 - 905, 1981.
- 24) Little T.M. y Jackson H.F.
Métodos estadísticos para la investigación en la
agricultura.
Ed. Trillas, México, 1976.
- 25) Maldonado, M.N. y De La Paz, G.S.
SARH - INIA Del Golfo Norte.
Campo Agrícola Experimental de Las Huastecas.
Folleto 4: 6-9, Mayo 1982.
- 26) Monterrubio Solís H.
Efecto de la Inoculación en soja cultivada en dos
suelos de temporal del Trópico húmedo del estado de
Campeche.
Tesis de Licenciatura, Fac. de Química, UNAM, 1987.

- 27) Nangju, D.
Soybean Response to Indigenous Rhizobi as influenced
by cultivar origin.
Agronomy Journal 72: 403-406, 1980.
- 28) Osoria Rodriguez L., Pedraza Martinez F.
SARH-INIA Abasolo Tamaulipas
Campo Agrícola Experimental Las Adjuntas
Folleto 1: 5-7, Abril 1985.
- 29) Papa da Kis, J.
Los fertilizantes.
Ed. Albatros Buenos Aires, Argentina. 35-47, 1977.
- 30) Pinson, R.M.L.
Efecto de la inoculación de Rhizobium japonicum
en el rendimiento de soja.
Tesis de Licenciatura, Fac. de Química, UNAM., 1978.
- 31) Postgate, J.F.R.S.
Cuadernos de Biología. Fijación del nitrógeno.
Ed. Omega, España, S.A. 56-60, 1981.
- 32) Pueppke, S.G. y Payne, J.H.
Responses of Rf1 and rf1 Soybean Isolines to
Inoculation with Bradyrhizobium japonicum
Plant and Soil 103: 126-128, 1987.

- 33) Reyes, V.G. and Schmidt, E.L.
Population of Rhizobium japonicum
associated with the surfaces of soil grown roots.
Plant and Soil, 61: 71-80, 1981.
- 34) Reza Alemán R., Archundia Romero R., F.V.G.
SARH-INIA. Tapachula, Chiapas.
Campo Agrícola Experimental Rosario Izapa
Folleto 1: 3-4, septiembre 1983.
- 35) Rodríguez P.J.R. y Vidor G.
Selecao de estirpes de Rhizobium japonicum
E Competitidade por sitios de infacciao nodular
em cultivares de soja (Glycine max(L) Merrill),
Agronomia Sulrio grandmer
Porto Alegre, Brasil. 16(2): 205-219, 1980.
- 36) Sánchez, F. Fijación Simbiótica de nitrógeno: Bioquímica,
Biología Molecular y Perspectivas de la Ingeniería Genética.
Prospectiva de la Biotecnología en México.
413-433. Compilador Quintero, R. Ed. Fundación Javier Barros
Sierra y CONACYT, México, D.F. 1985.
- 37) Senarartne, R.C. Amornpimol and G. Hardson.
Effect of combined nitrogen on nitrogen fixation of
Soybean. (Glycine max (L) Merrill) as affected by cultivar
and rhizobial strain.
Plant and Soil 103 (1): 45-50, 1987.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 38) Sharma, D.S. and Tilak, K.V.B.R.
Comparative Efficiency of different commercial inoculants.
of Rhizobium japonicum of field-soybeans.
Indian Journal Agric. Res. 8(4): 223-226, 1974.
- 39) Skipper H.D., Palmer, J.H., Giddens, J.E. and Woodruff, J.M.
Evaluations of commercial soybean
Inoculants from south Carolina and Georgia.
Agronomy Journal, 72: 673-674, 1980.
- 40) Van Berkum, R. y Bohlool, B.B.
Evaluation of nitrogen fixation by bacteria in
association with roots of tropical grasses.
Microbiological Rev. 44(3): 491-517, 1982.
- 41) Vidor, C.; Brose, E.; Pereira, J.S.
Competicao por sitios de infeccao nodular entre
estirpes de Rhizobium japonicum em cultivares de soja
(*Glycine max* (L) Merrill).
Agronomia Sulriograndense, 15(2): 227-238, 1979.
- 42) Vincent, J.M.
A manual for the practical of the root nodule bacteria.
IBP Handbook 15. Blackwell Scientific Publications, 1970.

A P E N D I C E .

ANALISIS ESTADÍSTICO

VAR. JUPITER

Repeticiones

TRATAMIENTOS	1a.	2da.	3a.	Total	X
T (-)	0.666	0.833	1.066	2.565	0.855
T (+)	0.666	1.300	1.233	3.199	1.066
C-9	1.450	0.900	0.850	3.200	1.066
C-17	0.900	0.550	0.333	1.783	0.594
C-18	0.700	1.300	0.866	2.866	0.955
N-j	1.350	1.600	0.666	3.616	1.205
N-Δ	1.233	0.900	1.166	3.299	1.099
N-Δw	0.900	1.233	1.100	3.233	1.077

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F OBSERVADO	F 5% REQUERIDO
TOTAL	23	13,4327			
TRATAMIENTOS	7	0.7612	0.1087	0.1372	2.66
ERROR	16	12.6715	0.7919		

VAR. H80 - 0918

Repeticiones.

TRATAMIENTO	1a.	2da.	3a.	Total	X
T (-)	1.200	0.833	0.800	2,833	0.944
T (+)	1.733	3.400	1.200	5.333	1.777
C-9	0.975	0.766	0.800	2.541	0.847
C-17	0.600	1.600	0.466	2.666	0.888
C-18	0.900	4.900	0.650	6.450	2.150
N-j	1.033	0.733	1.033	2.799	0.933
N-Δ	0.800	1.200	0.950	2.950	0.983
N-δw	0.775	0.800	0.66	2.241	0.747

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F OBSERVADO	F 5% REQUERIDO
TOTAL	23	24.6566			
TRATAMIENTOS	7	5.4990	0.7855	0.6560	2.66
ERROR	16	19.1576	1.1973		

VAR. H80 - 0892

Repeticiones.

TRATAMIENTOS	1a.	2da.	3a.	Total	X
T (-)	0.766	0.800	0.633	2.199	0.736
T (+)	1.300	0.666	0.766	2.732	0.910
C-9	0.400	0.500	1.200	2.100	0.700
C-17	1.050	1.100	1.400	3.550	1.183
C-18	0.800	0.800	0.533	2.133	0.711
N-j	0.850	0.500	0.566	1.916	0.638
N-8	0.966	0.700	0.900	2.566	0.855
N-4w	1.100	1.050	0.733	1.883	0.961

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F OBSERVADO	F 5% REQUERIDO
TOTAL	23	3.2426			
TRATAMIENTOS	7	0.7204	0.1029	0.6529	2.66
ERROR	16	2.5222	0.1576		

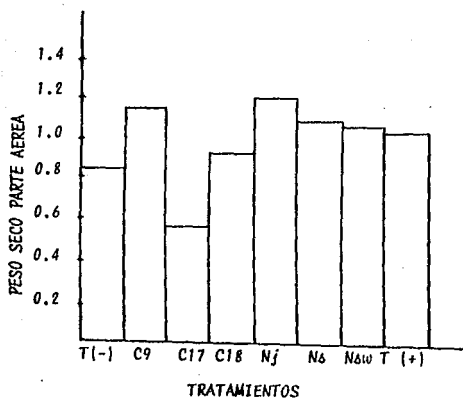
VAR. UFV - 1

Repeticiones.

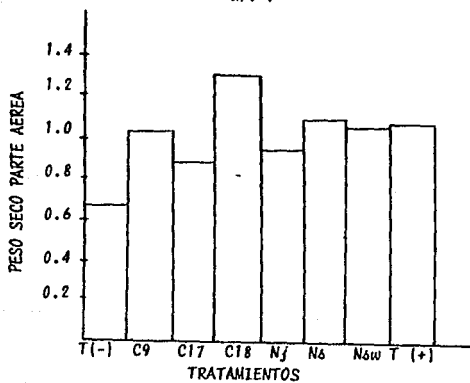
TRATAMIENTOS	1a.	2da.	3a.	Total	X
T (-)	0.766	0.850	0.700	2.316	0.772
T (+)	0.800	0.700	0.566	2.066	0.688
C-9	1.466	0.733	1.033	3.232	1.077
C-17	0.600	1.333	0.733	2.666	0.888
C-18	0.700	1.900	1.300	3.900	1.300
N-j	1.066	0.933	0.766	2.765	0.921
N-δ	1.100	0.900	1.033	3.033	1.011
N-δw	0.866	0.600	0.833	2.299	0.766

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F OBSERVADO	F 5% REQUERIDO
TOTAL	23	4.4232			
TRATAMIENTOS	7	0.8307	0.1186	0.5282	2.66
ERROR	16	3.5925	0.2245		

JUPITER

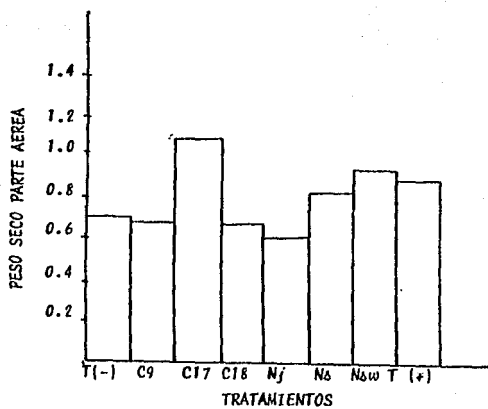


UFV-1



-No se registraron diferencias estadísticas significativas - al nivel del 5%.

H60-0892



H80-0918

