



138
24

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

PERSPECTIVAS EN MEXICO DE LA INOCULACION DE
Rhizobium EN CACAHUATE (Arachis hypogaea)

T E S I S
que para obtener el título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
p r e s e n t a
LAURA ANGELICA VIDAL ACOSTA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

México, D. F.,

1991



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

	pag
1- INTRODUCCION	1
2- GENERALIDADES.	2
2. 1- IMPORTANCIA ECONOMICA Y SUS DERIVADOS.	2
2. 1. 1- IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE CACAHUATE EN MEXICO.	7
2. 2.- CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS, CULTURALES Y TAXONOMIA DE <u>Arachis hypogaea</u> .	10
2. 3.- CONDICIONES DE CULTIVO Y NECESIDADES NUTRIMENTALES DEL CACAHUATE.	13
2. 3. 1- FACTORES CLIMATICOS.	13
2. 3. 2.- FACTORES EDAFICOS.	15
2. 3. 3.- NECESIDADES NUTRIMENTALES.	16
2. 4.- FIJACION BIOLOGICA DEL NITROGENO.	21
2. 4. 1- SISTEMA MUTUALISTA <u>Rhizobium-Leguminosa</u>	22
2. 5.- INTERACCION <u>Arachis-Rhizobium</u>	27
2. 5. 1- ESPECIFICIDAD Y SELECCION DE CEPAS.	28
2. 5. 2.- VARIACION EN LA NODULACION Y FIJACION DE NITROGENO CON DIFERENTES CULTIVARES DE <u>Arachis</u>	34
2. 5. 3.- EVALUACION AGRONOMICA DE LA INOCULACION DE <u>Rhizobium</u> en <u>Arachis hypogaea</u> L.	48
3.- MATERIAL Y METODOS.	60
3. 1- OBTENCION DE MUESTRAS DE CACAHUATE.	60
3. 2.- METODO DE AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION BIOQUIMICA.	60
4.- RESULTADOS Y DISCUSION.	67
5.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	77
6.- BIBLIOGRAFIA.	80

1- INTRODUCCION.

El cacahuete (Arachis hypogaea L.) es una leguminosa de alto valor alimenticio. Sus granos se consumen directamente o bien se utilizan en la extracción de aceite y de otros subproductos.

Los datos de cultivo, producción, exportación e importación indican que su consumo a nivel mundial es muy elevado. Aún cuando en México existen extensas zonas con condiciones adecuadas para el desarrollo de esta leguminosa, se tiene que su cultivo es muy restringido. Por lo que su introducción ofrece la posibilidad de emplearlo como una fuente de divisas.

Por otra parte se tiene que este vegetal al ser una leguminosa tiene las características de asociarse con Rhizobium y fijar nitrógeno atmosférico, proceso que en la actualidad es muy estudiado a fin de disminuir el uso de fertilizantes inorgánicos nitrogenados y mantener la fertilidad del suelo.

Considerando lo anterior en el presente trabajo, se establecieron como objetivos: recapitular la información acerca de las propiedades nutricionales del cacahuete, su importancia económica; características culturales; necesidades nutricionales y fundamentalmente de la interacción de este vegetal con bacterias del género Rhizobium y la repercusión de esta en la producción agrícola; así como iniciar la formación de una colección de cepas de Rhizobium específicas y eficientes para Arachis hypogaea.

2- GENERALIDADES.

2. 1- IMPORTANCIA ECONOMICA Y SUS DERIVADOS.

El cacahuate era conocido por los habitantes del Continente Americano mucho antes de que Colón llegase al Nuevo Mundo. Los Portugueses llevaron la Planta a Europa en el siglo XVI. Al principio era cultivado en cantidades limitadas en reducidas plantaciones, casi de carácter familiar. Sus frutos se dedicaron a la alimentación y para la extracción de aceite.

Hacia finales del siglo XIX en Francia y luego en los Estados Unidos de Norteamérica, se cultivó en gran escala principalmente para la obtención de aceite comestible.

Después en Alemania al igual que en Francia y en los países bajos se crearon importantes almazaras, para tratar los granos procedentes de Africa y de la India. (a).

En las tablas 1, 2 y 3 se indican (respectivamente), los valores medios de producción, exportación e importación mundial de cacahuate en 1988. Observándose que los países con mayor producción son la India y China que proporcionan cerca de los dos tercios del total mundial. Siguen con bastante diferencia, los Estados Unidos de Norteamérica, Indonesia y Senegal.

Los principales países exportadores son: Estados Unidos de Norteamérica, China y Argentina.

Los mayores importadores son: de Europa; Reino Unido, Alemania y Holanda, de Asia; Singapur y Hong Kong, y del Continente Americano; Canadá. Se observa que Hong Kong y Singapur, aún cuando no son de los principales productores, realizan importaciones y exportaciones considerables.

TABLA 1

Principales países productores de cacahuete, (c).
(1988)

País	CTM
1.- India	8,300
2.- China	5,773
3.- U. S. A.	1,808
4.- Indonesia	786
5.- Senegal	723
6.- Myanmar	559
7.- Nigeria	540
8.- Sudán	450
9.- Argentina	443
10.- Zaire	410
11.- Vietnam	290
12.- Sudáfrica	248
13.- Malawi	192
14.- Ghana	180
15.- Brasil	170
16.- Tailandia	170
17.- Burkina Faso	161
18.- Camerun	145
19.- Zimbaue	135
20.- Gambia	125

TM = Tonelada métrica.

TABLA 2

Principales países exportadores de cacahuete, (c).
(1988)

País	CTM
1.- U. S. A.	389
2.- China	320
3.- Argentina	320
4.- Hong Kong	92
5.- Singapur	67
6.- Sudáfrica	40
7.- Gambia	20

TM = Tonelada Métrica

TABLA 3

Principales países importadores de cacahuete, (en
1966)

1. - Reino Unido	240
2. - Alemania (Federal)	200
3. - Holanda	177
4. - Singapur	147
5. - Canadá	141
6. - Hong Kong	115
7. - Francia	111
8. - España	70
9. - Suiza	40
10. - Japón	40

El cacahuete es consumido directamente como grano o bien utilizado para la extracción de aceites. En las tablas 4, 5, 6 y 7 se expone la composición química y nutricional de los granos crudos, tostados y de la crema de cacahuete, los que indican el alto valor nutricional de este grano. Los subproductos de los granos y cáscaras tienen diversos usos y a continuación se exponen algunos de ellos.

- Las películas rojas que envuelven a la almendra, son utilizadas como complemento de los alimentos a base de melazas destinadas a los animales.
- A causa de su contenido en celulosa, la cáscara del cacahuete constituye una buena materia para la producción del furfural.
- La cáscara se utiliza como combustible de las calderas.
- La harina de la torta de cacahuete carente de aceite puede constituir, a causa de su elevado contenido en proteínas vegetales y a pesar de su deficiencia en ciertos aminoácidos, sobre todo en metionina, un importante refuerzo para la alimentación de las poblaciones de países

faltos de proteínas animales.

- La harina de la torta de cacahuete mezclándola con harina de maíz y añadiendo un poco de carbonato de calcio, puede ser utilizada para la confección de ganchas o salsas, o para la preparación de galletas.
- El aceite no deshidratado es usado como sustituto del aceite de oliva en ensaladas y en la cocina.
- Una de las propiedades de la harina de la torta de cacahuete es que reduce el tiempo de coagulación de la sangre (entre las personas que padecen hemofilia).
- El aceite se usa en la industria farmacéutica y para fabricar margarinas, jabones y lubricantes.
- Después de extraer el aceite queda un residuo con alto contenido de proteínas que se usa para el alimento del ganado.
- Los granos (enteros o tostados) en dulces, pasteles, galletas y otras confecciones, en mantequilla de cacahuete.

TABLA 4

Composición de cacahuete crudo. (20).

Compuesto	Rango %	Promedio %
Humedad	3.9 - 13.2	5.0
Proteína	21.0 - 36.4	28.5
Lípidos	35.8 - 54.2	47.5
Fibra cruda	1.2 - 4.3	2.8
Extracto libre de nitrógeno	6.0 - 24.9	13.3
Cenizas	1.8 - 3.1	2.9
Azúcares reductores	0.1 - 0.3	0.2
Azúcares disacáridos	1.9 - 5.2	4.5
Almidón	1.0 - 5.3	4.0
Pentosas	2.2 - 2.7	2.5

TABLA 5

Composición de cacahuate tostado y crema de cacahuate, %.

Compuesto	Cacahuate Tostado	Crema de cacahuate (con cantidades moderadas de grasa, azúcar y sal).
Humedad (%)	1.5	1.7
Calorías	585.0	587.0
Proteínas (g)	25.9	25.2
Grasa (g)	49.7	50.5
Carbohidratos (g)	18.8	18.8
Calcio (mg)	402.0	381.0
Hierro (mg)	2.1	1.9
Sodio (mg)	417.0	505.0
Potasio (mg)	573.0	527.0
Tiamina (mg)	0.32	0.12
Riboflavina (mg)	0.13	0.12
Niacina (mg)	17.2	14.7
Vitamina A	---	---
Ac. ascórbico (mg)	0.0	0.0
Retinos (mg eq)	0.0	0.0

TABLA 6

Composición proteica de cacahuate crudo y crema de cacahuate, %.

Aminoácidos	Cacahuate %	Crema de Cacahuate %
Esenciales		
Proteína	25.9	25.1
Factor de conversión de N ₂	5.45	5.45
Arginina	3.296	3.198
Histidina	0.749	0.727
Leucina	1.872	1.815
Isoleucina	1.255	1.228
Lisina	1.099	1.055
Metionina	0.271	0.253
Fenilalanina	1.157	2.953
Triptofano	0.340	0.330
Valina	1.532	1.487
No Esenciales		
Alanina	1.094	1.051
Cisteína	0.453	0.449
Tirosina	1.104	1.071
Treonina	0.928	0.803
Ac. aspártico	4.325	4.197
Ac. glutámico	5.932	5.755
Glicina	1.710	1.659
Prolina	1.557	1.520
Serina	2.030	1.959

TABLA 7

Vitaminas en los granos de cacahuete, (%).

VITAMINA	CANTIDAD PRESENTE µg/g
Vitamina A	26 U.I./100 g
Vitaminas del Complejo B	
Riboflavina	1.05 - 1.57
Tiamina	8.5 - 14.0
Niacina	88.0 - 200.0
Acido Pantoténico	25.0
Piridoxina	3.0
Biotina	0.34
Inositol	1800.0
Acido Fólico	2.8
Vitamina C (Acido Ascórbico)	mg/100 g
Vitamina E	
Tocoferol	0.0018 - 0.030%
Tocoferol	0.0%
Tocoferol	0.018 - 0.022%
Tocoferol	Cerca de 1/3 del total de tocoferol

2. 1. 1- IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE CACAHUATE EN MÉXICO.

Aún cuando en México existen regiones con las condiciones apropiadas para el cultivo del cacahuete y de que este grano posee un alto poder alimenticio y tiene un alto consumo a nivel mundial, en México se siembra solo bajo condiciones de temporal en algunas regiones de los estados de Guerrero, Chihuahua, Puebla, Guanajuato y Jalisco.

Se ha propuesto la introducción comercial de este cultivo en rotación con sandía en regiones con suelos arenosos en las que existen pocas alternativas para el ciclo agrícola de primavera verano, tal es el caso de los municipios de Tampico el Alto, Ver. y Altamira, Tamps. Sin embargo su propagación ha sido en superficies pequeñas y

aisladas, en consecuencia se desconoce el potencial real de este cultivo en estos municipios, así como en los márgenes de los ríos ubicados en la región de las Huastecas, que presentan suelos de textura arenosa y de los cuales existen superficies importantes. (21).

En la tabla 8 se registran datos de superficie cultivada y rendimiento, estos indican que en los últimos años, la producción de este grano ha aumentado debido a la apertura de nuevas áreas y al empleo de técnicas más avanzadas con las que la producción por hectárea se elevó en media tonelada, no obstante el rendimiento es bajo si se compara con los reportados en la India en donde se producen cuatro toneladas por hectárea.

La producción anual de cacahuete se estima en 100,000 toneladas y el 90% de esta se destina al consumo como fruta seca.

TABLA 8

Producción de cacahuate en México. (2).

	Superficie sembrada (ha)	Superficie cosechada (ha)	Rendimiento (ton/ha)	Produc- ción (ton)	Valor Producción (\$x10 ⁶)
1979 Anual	68,081	63,519	0.93	59,531	508,037
1979 Primavera	67,566	63,101	0.93	59,098	503,734
1979 Verano					
1979 Otoño	515	418	1.04	435	3,727
1979 Invierno					
1980 Anual	64,436	62,388	1.17	73,061	1,168,172
1980 Primavera	64,309	61,259	1.88	72,880	1,166,378
1980 Verano					
1980 Otoño	127	119	1.52	181	1,794
1980 Invierno					
1981 Anual	79,704	75,080	1.16	87,381	1,602,168
1981 Primavera	79,534	74,917	1.16	87,123	1,598,431
1981 Verano					
1981 Otoño	170	163	1.58	258	3,737
1981 Invierno					
1982 Anual		58,590		68,609	2,119,459
1983 Anual		83,297		99,858	4,556,972
1984 Anual	88,305	87,406		105,179	11,327,168
1984 Otoño 1	997		1.56	1,557	
1984 Invierno					
1985 Anual		45	1.33	60,000	
1986 Anual		43	1.51	65,000	
1987 Anual		90	1.22	110,000	
1988 Anual		85	1.21	103,000	
1989 Anual		85	1.67	100,000	

2.2- CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS, CULTURALES Y TAXONOMIA DE

Arachis hypogaea

El cacahuete es una planta anual que presenta una gran variación entre sus tipos culturales. El tallo principal crece verticalmente y la ramificación, que aparece desde muy temprano, difiere mucho según las variedades; alcanza hasta 50 cm de altura. Las raíces penetrantes, bien desarrolladas, con abundancia de raíces laterales que aumentan con la profundidad. La mayor parte de las flores se producen en la parte más baja del tallo.

El ovario fecundado se convierte en una estructura alargada y pedunculada que se extiende hacia abajo hasta penetrar en la tierra, siendo en ese momento cuando el fruto se desarrolla rápidamente. Durante la fase anterior a la penetración en el suelo, el fruto ha sido llamado ginóforo y también carpóforo o carpopodio, nombres que no corresponden exactamente a su función ni a su origen, por lo que, W. Smith propuso el término "clavo" para denominar al fruto joven durante la fase pedunculada del desarrollo que sucede entre la fecundación y el desarrollo de la vaina.

El geotropismo positivo del "clavo" es muy manifiesto desde un principio, aunque el crecimiento hacia abajo es más rápido entre el cuarto y el dieciochoavo día después de la fecundación. Los "clavos" procedentes de flores situadas muy arriba de la planta pueden no alcanzar el suelo y marchitarse. Otras se alargan mucho y logran penetrar en la tierra. Cuando el "clavo" penetra en el suelo se vuelve de color blanquecino, aunque la parte que queda exterior a la tierra tiene color rojizo y a veces, verdoso, generalmente se

hunde de dos a seis centímetros bajo tierra. Una vez situada la extremidad del "clavo" en el suelo, empieza a hincharse y cambia de dirección ya que su parte apical gira en ángulo recto, colocándose paralelamente a la superficie del suelo. En la madurez los frutos tienen de una a cinco semillas y dependiendo de las variedades las semillas son; ovoidales, exalbuminadas y están cubiertas por la testa (película) de color rojizo, pardo, blanco, etc., fácilmente separable de ellas. La testa tiene un tejido epidérmico caracterizado por la irregularidad de sus células y que sirve para distinguir variedades.

El tamaño de las semillas es variable pudiendo llegar a los dos centímetros de longitud y uno de anchura. Los cotiledones de forma acorazonada, carnosos y llenos de células parenquimáticas, tienen gran cantidad de substancia de reserva (aceite, aleurona y almidón).

La germinación de la semilla se verifica rápidamente cuando las condiciones de humedad y temperatura son apropiadas; la absorción de agua es muy acelerada y pronto la radícula comienza a alargarse, llegando el primer día a los doce centímetros.

El crecimiento prosigue, desarrollándose la principal muy profundamente, sobre todo en terrenos ligeros, donde puede llegar hasta más de un metro de profundidad en las plantas viejas; las raíces secundarias no aparecen hasta que la raíz primera alcanza cierto vigor. El crecimiento rápido y vigoroso del sistema radicular del cacahuete es lo que determina la capacidad de adaptación a terrenos sueltos y secos.

El hipocotileo es succulento y puede tornarse de color verde en contacto con la luz; crece con rapidez y su longitud total depende de la profundidad de siembra. En cambio el epicotileo es de crecimiento lento apenas puede apreciarse hasta que la plántula tiene cinco días. Los cotiledones son conducidos casi a la superficie del suelo por el crecimiento del hipocotileo, pero no son verdaderamente epigeos. Pueden llegar a ser de color verde si les da luz, no aumentan de tamaño, pero lentamente se contraen hasta que hacia la tercera semana después de la germinación se pudren y caen.

Clasificación botánica:

Phyllum: Pteridophyta

Clase: Angiosperma

Subclase: Dicotiledoneas

Orden: Leguminales

Familia: Leguminosae

Subfamilia: Papilionaseas

Tribu: Araquidíneas

Genero: Arachis

Especie: hypogaea

Las variedades del cacahuete en el mercado mundial actual se agrupan desde el punto de vista comercial en tres grupos:

- a) Grupo Virginia.
- b) Grupo Valencia.
- c) Grupo Español.

Existen dos tipos de desarrollo de las plantas: el esparcido y el compacto, según que crezcan extendiéndose y sombreando una superficie grande o quedan más reducidas y apretadas, sombreando una superficie menor del terreno.

La variedad del tipo Virginia comprende tanto de tipo compacto como de tipo esparcido. Su ciclo vegetativo oscila entre 130 y 150 días, en la variedad de tipo Valencia, su ciclo vegetativo oscila de 110 a 120 días y la variedad de tipo Español varía de 120 a 130 días, (eo).

2. 3.- CONDICIONES DE CULTIVO Y NECESIDADES NUTRIMENTALES DEL CACAHUATE.

Al igual que para todas las plantas, los factores climáticos y edáficos intervienen en la adaptación del cacahuate al medio.

2. 3. 1.- FACTORES CLIMATICOS.

El cultivo del cacahuate se desarrolla en zonas tropicales y subtropicales, en latitudes entre 40° Norte y 40° Sur, en donde la cantidad de lluvia durante la temporada de cultivo no excede a los 500 mm; a temperaturas entre 20 y 40°C y en suelos ligeros, sueltos, frescos, bien drenados y profundos, con cierta capacidad de retener la humedad. Que sean ligeros y sueltos es especialmente importante, porque en ellos la penetración del "clavo" es mucho más fácil, desarrollándose mejor los frutos y evitándose malformaciones y pérdidas de calor, al mismo tiempo que se facilita mucho la recolección.

La temperatura y la intensidad luminosa ejercen un efecto muy importante sobre la velocidad de los

procesos fisiológicos y, por consiguiente, en la duración de las diversas fases del desarrollo.

La germinación de las semillas del cacahuate se realiza en cuatro a cinco días cuando la temperatura fluctúa de 32 a 34°C. A temperaturas mayores o menores el proceso es retardado, por lo que en países templados, la nacencia se presenta hasta después de siete a diez días.

Las temperaturas de 15 a 45°C aparecen como los extremos, más allá de los cuales la germinación se ve inhibida.

Durante su ciclo vegetativo, se requiere de una temperatura media alta (comprendida entre 22 y 26°C), sin cambios bruscos.

Respecto a la intensidad luminosa, esta tiene un marcado efecto en la germinación y en la fructificación. La luz llega a inhibir la germinación de las semillas y en casos menos extremos disminuye la velocidad de elongación del hipocotilo.

En la fructificación, la exposición de los ginóforos a la luz, retrasa su crecimiento, y los frutos solo se desarrollan en la obscuridad.

Precisa igualmente de cierto grado de humedad durante las fases que van desde la germinación hasta la total formación del fruto hipogeo, pero una vez conseguido esto le conviene un período seco para tener una buena recolección y maduración del fruto. La cantidad de agua necesaria para un cultivo

normal varía ampliamente y otras condiciones del medio influyen muy directamente para compensar posibles defectos de humedad, así mismo las diversas variedades y tipos tienen necesidades diferentes a este respecto.

2 3. 2.- FACTORES EDAFICOS.

A. - Textura y estructura.

Estas características influyen de manera decisiva en la aereación de los suelos, así como en la retención de humedad y de nutrimentos y consecuentemente en la alimentación hídrica y mineral de los vegetales en general, así como en la penetración y desarrollo de las raíces dentro del suelo. Y en el caso particular del cacahuete a causa de su modo de fructificación, la textura y estructura influyen también en la maduración, calidad de las vainas y la realización de la cosecha.

El desarrollo del cacahuete se efectúa de manera óptima en suelos ligeros, con buen drenaje y bien aireados.

Las condiciones óptimas de germinación se realizan cuando el suelo es mantenido a una humedad inferior a la capacidad de retención, de modo que el aire ocupe de un 30 a un 55% de la porosidad total.

Los suelos ligeros facilitan la penetración de los ginóforos en si mismo, así como el arranque de la cosecha. Los suelos muy arcillosos, e incluso ciertos suelos ligeros sin estructura, ricos en

arenas finas que se endurecen bajo el efecto de la desecación, dificultan la recolección y ocasionan pérdidas importantes de vainas. Las condiciones de humedad satisfactorias permiten, generalmente, evitar este inconveniente.

B. - Influencia del pH.

Este factor está íntimamente relacionado con la movilidad y disponibilidad de los elementos minerales en el suelo y por lo tanto con la absorción de los mismos, por las plantas y la nutrición y desarrollo de los mismos.

La acidez del suelo determina un exceso de aluminio y manganeso y deficiencias de calcio y fósforo, los cuales son elementos indispensables para el crecimiento de los vegetales y en el caso particular de las leguminosas para el establecimiento de una simbiosis eficiente con Rhizobium.

El cacahuate prefiere tierras ligeramente ácidas, con pH alrededor de 6; los suelos muy alcalinos no son aptos para el cultivo de esta especie.

2.3.3.- NECESIDADES NUTRIMENTALES.

La planta del cacahuate absorbe los elementos minerales a partir de la solución del suelo y a través de sus raíces y de sus ginóforos; estos últimos desempeñan un papel particular en lo que se refiere a la absorción del calcio. También puede absorber ciertos elementos a través de las hojas.

A. - Los principales elementos son:

a. - Nitrógeno.

Por ser una leguminosa, el cacahuate obtiene una cierta cantidad de nitrógeno de la atmósfera del suelo, por medio de Rhizobium. La inoculación de los granos es indispensable en los suelos que no contienen la bacteria específica. El desarrollo del sistema radicular y de los nódulos no se torna sensible hasta después de un periodo de tres semanas como mínimo, y solo a partir de este momento la planta empieza a estar capacitada para utilizar una cierta cantidad de nitrógeno procedente del exterior.

Las plantas sin nódulos presentan contenidos muy bajos de nitrógeno y poseen un follaje muy pálido a consecuencia de la lentitud en la formación de la clorofila. El nitrógeno es esencial para el cacahuate, que lo contiene en cantidades muy importantes, tanto en el follaje como en los granos (proteínas).

b. - Fósforo.

El fósforo aparece en cantidad relativamente escasa en el cacahuate, pero esta planta tiene la facultad de absorber fósforo en suelos muy pobres en este elemento. El fósforo activa el crecimiento del cacahuate y apresura su maduración. También es necesario para la fijación del nitrógeno de la atmósfera del suelo.

c. - Potasio:

La cantidad de este elemento puede variar de modo importante en la planta y esta llega a absorberlo en grandes cantidades si se encuentra en un medio rico en K_2O . Una vez absorbido, el potasio puede ser transferido parcialmente desde las partes de más edad a las jóvenes.

Cuando las plantas son cultivadas en presencia de una cantidad importante de fósforo, pueden denotar síntomas de deficiencia potásica. La falta de este elemento provoca una abundancia de vainas de un solo grano.

d. - Calcio:

Es uno de los elementos más importantes para la producción de cacahuete de granos gruesos. El calcio es fácilmente absorbido por la planta si se presenta bajo una forma soluble.

Es un elemento muy poco móvil, ya que se presenta en la planta bajo la forma de cristales de oxalato de calcio, fácilmente observables en las células epidérmicas del cacahuete. La ausencia de calcio impide el llenado de la vaina, provoca la fragilidad de esta y disminuye el índice de fertilidad de las flores.

e. - Azufre:

El azufre se desplaza en la planta a una velocidad elevada (40 cm por minuto) y puede ser absorbido con la misma facilidad por la parte aérea de la planta

como por las raíces. El azufre activa la floración y la prolonga.

La deficiencia de azufre impide la formación de clorofila, pero una aportación de azufre elemental puede restablecer la situación en pocos días.

B. - Carencia de Oligoelementos:

a. - Hierro.

La deficiencia en hierro se traduce en una clorosis de las hojas jóvenes y la desecación de las hojas más antiguas.

b. - Cobre.

Es esencial para la conservación de la enzima citocromo-oxidasa en los nódulos. El nivel del cobre es afectado por el metabolismo de la microflora. La concentración del cobre soluble disminuye durante la descomposición de algunos residuos vegetales y la deficiencia de este reduce notablemente la nodulación.

c. - Boro.

La deficiencia en boro se asemeja a la falta de calcio, con la diferencia de que las zonas necrosadas se hallan localizadas en la parte marginal de la hoja. Los brotes quedan truncados, y se nota, por otra parte, una zona sombría en los entrenudos de los tallos; a veces los tallos están hendidos. En los granos, en ausencia del boro se

observa una decoloración de los cotiledones y un enegrecimiento de los embriones.

d. - Molibdeno.

El molibdeno es de primordial importancia para la fijación biológica del nitrógeno, ya que forma parte de la enzima nitrogenasa por lo que debe ser abundante. En medios ácidos su pequeña disponibilidad es una causa frecuente de fracasos en el establecimiento de las leguminosas o de bajas producciones de cultivo. Sin embargo, la deficiencia se soluciona con la aplicación de pequeñas cantidades de molibdeno.

e. - Cobalto.

El cobalto también estimula marcadamente la utilización de N_2 por las leguminosas noduladas y aquellas pocas no-leguminosas que se han probado. El cobalto es un componente de la vitamina B_{12} y el elemento se encuentra en los nódulos en forma de compuestos que contienen esta vitamina. En cultivo, los rizobios también necesitan cobalto para crecer y sus células tienen compuestos que contienen vitamina B_{12} , esto sugiere que la estimulación de la fijación por el cobalto refleja simplemente un aumento en la proliferación y metabolismo del microsimbionte en su habitat, dentro de la raíz. El exceso de materia orgánica en el suelo no conviene al cacahuate, pues aparte de disminuir los rendimientos, produce vainas decoloradas, (1, 15 y 37).

2. 4.- FIJACION BIOLÓGICA DEL NITRÓGENO.

La fijación biológica de nitrógeno es la transformación de nitrógeno a amoníaco, reacción que es catalizada por la enzima nitrogenasa, la cual es sintetizada por numerosos microorganismos procarióticos, estos pueden efectuar dicho proceso viviendo en forma libre o bien entorno a las raíces de plantas superiores formando una asociación flexible con ellas o bien a través de una asociación estrictamente mutualista o interdependiente con una planta superior. A estas últimas corresponde el sistema Rhizobium-Leguminosas.

La cantidad de nitrógeno atmosférico que es incorporada al suelo mediante este proceso es variable. Se ha calculado que las bacterias de vida libre fijan el dinitrógeno en una proporción de 2 a 6 Kg/ha/año, en tanto que las bacterias asociadas a leguminosas fijan alrededor de 350 Kg/ha/año en los campos cultivados.

Aún cuando estas cantidades no alcanzan a proporcionar el nitrógeno suficiente para una producción agrícola intensiva es importante considerar que la utilización excesiva de fertilizantes ha conducido a problemas ambientales en lo que se refiere a la contaminación del agua, (48).

Considerando lo anterior en las dos últimas décadas, la fijación biológica del nitrógeno ha sido considerada como una alternativa altamente prometedora para mejorar la producción agrícola, de alimentos y para disminuir el uso de fertilizantes nitrogenados y problemas de contaminación, lo que ha conducido a la realización de numerosos y notables estudios respecto a este proceso, particularmente al efectuado por el sistema mutualista Rhizobium-Leguminosas.

A continuación se expone un resumen de los aspectos básicos más sobresalientes de este sistema y una descripción más amplia de los avances sobre las particularidades de la asociación Rhizobium Arachis hypogaea.

2. 4. 1.- SISTEMA MUTUALISTA Rhizobium Leguminosa.

La fijación de nitrógeno en leguminosas resulta de la culminación de una compleja interacción de la bacteria, el hospedero y el medio ambiente.

Rhizobium es una bacteria de forma bacilar, Gram negativa, de 0.5 a 0.9 por 1.2 a 3.0 micras, no esporulada, móvil, se encuentra en forma libre en el suelo y en presencia de la leguminosa específica establece asociación y fija nitrógeno del aire proveyendo a las leguminosas de una gran parte de nitrógeno que estas requirieron para su desarrollo y productividad, (4). Sin embargo para que esto sea cierto es necesario el establecimiento de una asociación eficiente que involucra las siguientes etapas:

- Reconocimiento superficial de los simbiontes.
- Penetración (infección) de la bacteria a las raíces.
- Formación de nódulos por las plantas.
- Transformación de la bacteria a formas bacteroides.
- Síntesis de la nitrogenasa por las bacterias.
- Síntesis de leghemoglobina por las plantas y bacterias.
- Fijación de dinitrógeno.

Estas etapas o procesos son regulados por características genéticas tanto de la bacteria como del hospedero y su manifestación a su vez es controlada por las condiciones ambientales, (47).

Con un sentido práctico y a fin de mejorar los niveles de fijación de nitrógeno se han desarrollado múltiples estudios sobre la selección de cepas características del hospedero que regulan la simbiosis y sobre los factores ambientales que limitan o favorecen el establecimiento de la simbiosis y la manifestación del proceso y más recientemente sobre la manipulación genética de la bacteria y del hospedero, la que parece ofrecer a largo plazo un gran potencial para mejorar los niveles de fijación de nitrógeno.

En relación a las cepas bacterianas se ha demostrado que la actividad de la nitrogenasa varía en las diferentes cepas por lo que en cuanto a su actividad en la fijación de nitrógeno han sido descritas como altamente eficientes y no eficientes o infectivas.

De este modo, en la selección de cepas el objetivo que se persigue es introducir al suelo en forma de inoculante a aquellas cepas que reúnan características superiores, no solo en cuanto a su eficiencia en la fijación de nitrógeno, sino también en cuanto a su capacidad infectiva, competitiva (con otros rhizobia nativos no efectivos), de sobrevivencia y adaptación a los suelos, que deben ser específicos para la leguminosa de interés, (48).

Sin embargo el empleo de cepas seleccionadas no asegura el éxito en el mejoramiento de la fijación de nitrógeno, ya que como se indicó anteriormente en este proceso el hospedero juega también un papel muy importante.

De tal modo que la inoculación con una cepa específica y altamente infectiva no siempre induce la formación de un gran número de nódulos, debido a que el hospedero es el que regula el patrón de nodulación, (Lange y Parker 1961, citado en 17).

En general, las características del hospedero que influyen en la nodulación, se describen en tres grupos que corresponden a aquellas que afectan la iniciación, el desarrollo y la función de los nódulos.

La iniciación es afectada por la producción de exudados de la raíz y de lectinas que favorecen la proliferación de la bacteria y el reconocimiento superficial de los simbioses (Van Egrat 1972 y Dazzo 1980, citado en 17). La presencia de sustancias tóxicas en la semilla disminuye la población de rizobia, (Thompson 1960 y Baven 1961, citado en 17).

En relación al desarrollo del nódulo, el hospedero regula el número de nódulos y el tiempo en que aparece el primer nódulo (Nutman 1967, citado en 7), así como la forma y tipo de nódulos (Dart, 1975, 12), e incluso determina que no se formen nódulos. Así mismo regula la transformación de la bacteria a

la forma bacteroide (Nutman, 1954), 47.

Algunos investigadores indican que existe una correlación directa entre la cantidad elevada de nódulos y el número de raíces laterales y una relación inversa entre el número y tamaño de los nódulos, sin embargo estos criterios son objetables ya que el número de nódulos y su distribución también son influidos por la infectividad y competitividad de la cepa y la proporción de bacterias presentes o inoculadas, así como por otros factores.

El tiempo en que aparece el primer nódulo, así como el tiempo al que dejan de ser funcionales, si bien están regulados por el hospedero, también son dependientes de la cepa y características ambientales.

Esto ha conducido a que en investigaciones más recientes y a fin de aumentar la fijación de nitrógeno se considere no solo la selección de cepas sino la selección de asociaciones más eficiente en los que una cepa altamente eficiente es probada frente a numerosas líneas o variedades de una misma especie de leguminosa, comprobándose que estas varían en su habilidad para fijar nitrógeno frente a la misma cepa de Rhizobium, 42 y 48.

Estas variaciones se han relacionado con las características morfológicas y fisiológicas del hospedero así como el habitat del mismo.

Layzell y colaboradores (1979), relacionan la

cantidad de fotosintatos (energía) con la respiración de los nódulos, (27).

Graham (1981); Rennie y Kemp (1981) confirman lo anterior indicando que la funcionalidad de los nódulos depende de la aportación de fotosintatos por el hospedero. Haw, Lawn y Brun (1978); Hardy y Havelka (1976), Pate (1977), también comprobaron lo anterior, a través de experimentos en los que se reguló la cantidad de luz, CO₂ y los niveles de fertilización y se evaluó el área foliar. Confirmándose que la fotosíntesis y la tasa traslocación de los recursos asimilados hacia diferentes partes del vegetal, influyen de manera decisiva en la fijación de nitrógeno, (28, 25 y 30).

También se ha reportado que las variedades de una misma especie de leguminosa que son de maduración temprana tienden a fijar menos nitrógeno. Esto lo explican por el desplazamiento de energía y otros nutrimentos hacia la maduración de los frutos que se presenta en periodos más cortos, lo cual limita los satisfactores de los nódulos.

Por otra parte existe abundante literatura sobre el efecto que ejercen los factores ambientales (humedad, temperatura, características físicas, químicas y biológicas del suelo), sobre el establecimiento de la simbiosis y el proceso de fijación de nitrógeno, habiéndose demostrado que todos ejercen una marcada influencia y que los valores óptimos y extremos varían en las diferentes leguminosas.

2. 5.- INTERACCION Arachis-Rhizobium.

Arachis es un género integrado por especies que presentan una amplia diversidad en su morfología, hábitos de crecimiento y periodos de maduración. (Krapowickas 1973, citado en 33).

Esta leguminosa es nodulada por Rhizobium del grupo del Caupi el que tiene la capacidad de nodular a muchas otras leguminosas tropicales, (Dart 1974), (a).

Dart y Krantz (1976), indican que Rhizobium asociado al cacahuate proporciona el 80% del nitrógeno que la planta requiere para su desarrollo (citado en 18). Y que este tipo de Rhizobium se encuentra en muchos suelos tropicales en cantidades superiores al 10²g de suelo seco (citado en 32).

La promiscuidad de esta asociación permite que el cacahuate nodule con las rhizobia nativas en muchos suelos agrícolas, por lo que la práctica de inoculación de esta leguminosa se emplea raramente. Sin embargo, Marshall, 1964; Holding y King, 1963; Sprint, 1971, demostraron que las condiciones ambientales (temperatura elevada, condiciones de humedad y pH del suelo), influyen marcadamente en el funcionamiento eficiente de Rhizobium y en consecuencia el potencial máximo de esta asociación es raramente alcanzado, (citado en 18).

Posteriormente Burton (1975), Nambiar y Dart (1980), Wynne (1980), demostraron que al igual que en otras leguminosas, en el cacahuate algunas cepas de Rhizobium nodulan y fijan nitrógeno con mayor eficiencia y que estas características también difieren en las diversas variedades de Arachis (7, 21 y 48).

2. 5. 1.- ESPECIFICIDAD Y SELECCION DE CEPAS.

En las Tablas 9, 10 y 11 y gráficas 1 y 2 se exponen algunos resultados de diferentes investigadores. Estos demuestran que las diversas cepas de Rhizobium sp.

en Arachis hypogaea varían considerablemente en cuanto a su capacidad infectiva y eficiencia en la fijación de nitrógeno, lo que indica que la selección de cepas superiores y la inoculación en cacahuete es de importancia económica en la producción de este cultivo.

En la tabla 9 se observa respuesta a la fertilización nitrogenada lo que indica la necesidad de efectuar la inoculación. Respecto a las cepas. la VIII presentó la menor infectividad y fijación de nitrógeno. De las otras 10 cepas estudiadas pueden dividirse en dos grupos; altamente eficientes, las seis primeras y eficientes, las otras cuatro, en donde el incremento fluctúa entre 50 y 69%, valores que son similares al incremento obtenido con el fertilizante químico (57.7%).

Resultados similares fueron reportados por Graham y Donawa (1981) y Nambiar (1985), quienes evaluaron cepas de Rhizobium sp. en condiciones de invernadero y de campo (ver tablas 10 y 11 y gráficas 1 y 2). Concluyendo que hay una amplia variación entre las cepas probadas respecto a su infectividad y eficiencia en la fijación de nitrógeno. «9»

Observándose que algunas cepas se comportan como parásitos, lo que determina rendimientos inferiores respecto al testigo no inoculado, tal es el caso de NC 43.3, NC 62, NC 66, NC 23.4 y TAL 464, (22).

TABLA 9

Efecto de la inoculación de 11 cepas de Rhizobium sp. sobre la nodulación y rendimiento de Arachis hypogaea variedad Red Starr. Experimento de campo en los llanos orientales Venezolanos, (23).

Cepa	Dosis de fertilizante nitrogenado	Nódulos No. y ϕ (mm)	Rendimiento Kg/ha	Incremento en la producción (%) *	
Ga	0	47	3	988.3	105.7
10	0	72	2	945.3	96.7
VI	0	50	3	937.5	95.2
CIAT 7	0	43	4	928.0	93.2
X	0	42	4	928.0	93.2
CIAT 47	0	42.5	3	902.3	87.8
CIAT 75	0	32	4	816.4	69.9
VII	0	67	3	804.7	67.6
V	0	48	2	757.8	57.7
IX	0	44	4	722.6	50.4
VIII	0	21	2	523.4	9.0
Ninguna	140	12	3	757.8	57.7
Ninguna	0	25	4	480.5	--

* Respecto al testigo sin nitrógeno y sin inoculación.

TABLA 10

Efecto de diferentes cepas de Rhizobium sp. sobre el peso y nodulación de Arachis hypogaea, (Campo). (18).

Cepas de <u>Rhizobium</u>	% de Nitrógeno en tallo	Peso seco de tallo en g.	Peso seco de nódulos mg
5018	3.23 a	2.35 cdefg	37.6
NGR 95	3.20 a	3.52 a	78.1
cpea 7D	3.14 ab	2.90 b	96.3
22 B	3.05 abc	2.83bc	30.5
AH 6	2.96 abcd	2.64 bcd	33.0
Shaw CB 756	2.93 abcd	2.56 bcde	45.1
AH 5	2.93 abcd	2.46 cdefg	33.0
Control de N2	2.81 bcde	2.48 bcdef	
AH 9	2.80 cde	1.46 k	20.6
cpea 7B	2.79 cde	1.83 hijk	84.7
AH 2a	2.72 cde	2.12 efghi	41.6
AH 3a	2.66 de	1.87 hijk	43.1
CB 756	2.65 de	2.19 defgh	25.2
555/MAR	2.52 e	2.86 b	36.2
cpea 7	2.51 e	3.51 a	140.2
AH 10a	2.49 e	2.51 bcdef	43.5
AH 10b	2.13 f	2.49 bcdef	53.6
AP 108	2.07 f	1.49 k	29.7
TOB 7c	1.84 fg	1.94 ghijk	23.4
16 a	1.65 gh	2.95 b	17.8
Control no inoculado	1.55 gh	1.66 ijk	
SE	0.12	0.17	

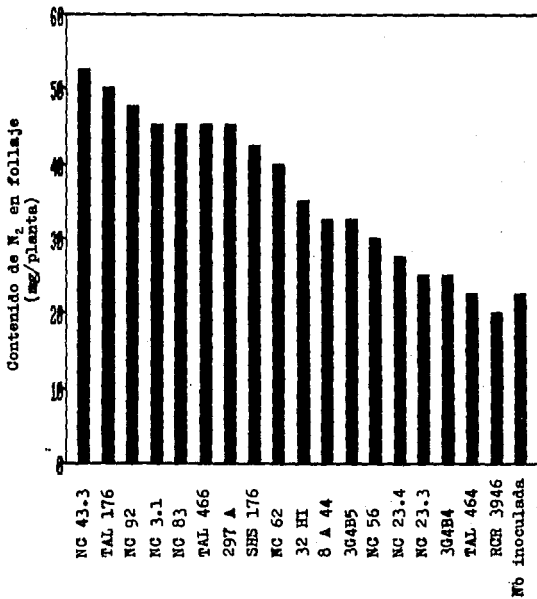
TABLA 11

Efecto de la inoculación sobre el rendimiento de Arachis hypogaea, (Campo). (18).

Cepa de <u>Rhizobium</u>	Peso seco de tallo g	Rendimiento Kg/ha
22 BK	6.51 a	929.1 a
AH 6K	7.46 a	837.6 a
5018 S	6.58 a	755.9 a
CB 756K	5.37 a	641.4 a
AH 106K	7.64 a	527.0 a
No inoculado	4.63 a	511.3 a
Error estándar	1.72	133.8

GRAFICA 1

Evaluación de 18 cepas de Rhizobium en su eficiencia en la fijación de nitrógeno. (32).
 Hospedero: Arachis hypogaea cv Robut 33-1
 Condiciones: Invernadero.

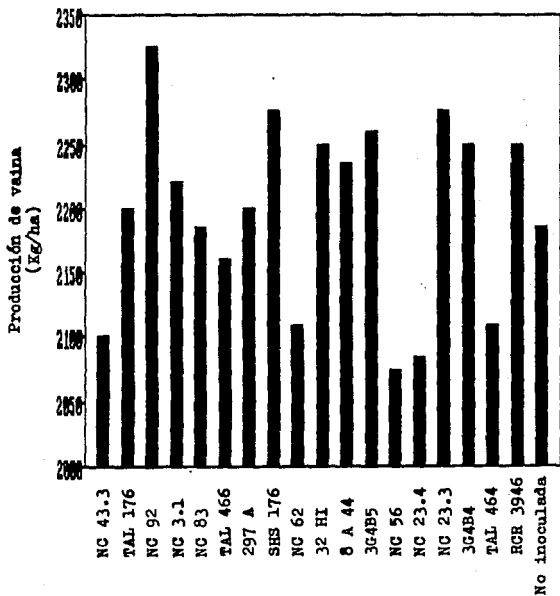


GRAFICA 2

Efecto de la inoculación de Rhizobium sobre el rendimiento de vaina de cacahuate, (sz).

Hospedero: Arachis hypogaea cv Robut 33-1

Condiciones: En campo.



Nambiar (1985), al comparar los resultados obtenidos en invernadero con los del campo indica que ambos confirman el comportamiento variable de las cepas y que los resultados de invernadero si bien constituyen un antecedente útil, deben ser ratificados o rectificadas mediante experimentos de campo ya que en condiciones naturales la presencia de rizobia nativa no eficiente y altamente competitiva bloquea la actividad de las cepas introducidas, así mismo una cepa que en condiciones de invernadero se comporta como muy eficiente, al ser introducida al campo fracasa por su pobre adaptación al suelo. Por otra parte indica que cepas de eficiencia media cuando son introducidas al campo se comportan como más eficientes que otras seleccionadas en invernadero.

En el caso concreto de los resultados expuestos en la gráfica 1, se observa que la cepa TAL 176 y NC 43.3, en condiciones de invernadero, incorporan las cantidades más elevadas de nitrógeno atmosférico, en tanto que en el campo (gráfica 2) su comportamiento es inferior a NC 92. El autor indica que la cepa TAL 176 tiene capacidad competitiva pobre, ya que en condiciones de invernadero dió lugar a un menor número de nódulos que las NC 43.3 y NC 92 en las que la cantidad de nódulos fué similar, por tanto la falta de respuesta en campo a la inoculación con la cepa NC 43.3 no puede ser explicada en función de competitividad y el autor indica que la respuesta en

campo a la inoculación con la cepa NC 92 se debe no solo a la fijación de nitrógeno sino a que esta tiene la capacidad de sintetizar sideróforos (compuestos que quelatan al hierro), contribuyendo a la mejor asimilación de hierro, (32).

2. 5. 2- VARIACION EN LA NODULACION Y FIJACION DE NITROGENO CON DIFERENTES CULTIVARES DE Arachis.

Repetidamente se ha indicado que aún cuando la nitrogenasa es sintetizada por Rhizobium; la nodulación y la fijación de nitrógeno son regulados por características genéticas de los dos simbiontes. En páginas anteriores se indicó que el cacahuate corresponde a un género cuyas especies y subespecies presentan una gran variabilidad morfológica y fisiológica, manifestación clara de características diversas. Por lo que no es sorprendente que los diferentes cultivares al ser infectados por una cepa seleccionada de Rhizobium den lugar a asociaciones con diferentes grados de eficiencia. Nambiar y colaboradores (1983) indicaron que el cultivar Robut 33-1 y la cepa NC 92 de Rhizobium son compatibles y dan lugar a la formación de una cantidad elevada de nódulos eficientes, (34).

El mismo Nambiar (1985), confirmó esta compatibilidad y reportó la incompatibilidad de la cepa NC 92 y el cultivar J 11 el cual nodula pero no fija nitrógeno, (32).

En la tabla 12 se muestran algunos resultados de este estudio.

TABLA 12
Respuesta de dos cultivares de Arachis hypogaea a la inoculación de la cepa NC 92 de Rhizobium, (az).

Tratamiento	Cultivar			
	Robut 33-1		J 11	
	Rendimiento (Kg/ha)	% de nódulos con cepa NC 92	Rendimiento (Kg/ha)	% de nódulos con cepa NC 92
No inoculado	2350	1	1950	4
Inoculado con NC 92	2780	30	1870	30
Inoculado con NC 92, 5a/70 y 1C5006.	2710	14	1800	6

Esta variación de respuesta ha sido explicada en función de la presencia o ausencia de genes específicos en el hospedero y en la bacteria, así como en características morfofisiológicas del hospedero que favorecen o limitan la eficiencia de la fijación.

En la Tabla 13 se describen las características culturales de las diferentes variedades de cacahuete, las cuales han sido relacionadas por diferentes investigadores con variaciones en cuanto a la nodulación y fijación de nitrógeno. Posteriormente se exponen algunos resultados de este tipo de investigaciones.

Namdar y colaboradores (1982), compararon la nodulación y la actividad de la nitrogenasa en ocho líneas de Arachis hypogaea, cinco pertenecientes al tipo Virginia, dos al tipo Valencia y uno al tipo Español.

TABLA 13

Grupos de *Arachis hypogaea* y características culturales. (29).

Subespecies	Varietades	Tipo	Características
<u>hypogaea</u>	hypogaea	Virginia	Ramas alternas Crecimiento extendido.
	hirsuta		Ciclo de cultivo largo o corto. Maduración tardía media o temprana.
<u>fastigiata</u>	fastigiata	Valencia	Crecimiento vertical.
	vulgaris	Español	Ciclo corto, maduración temprana.

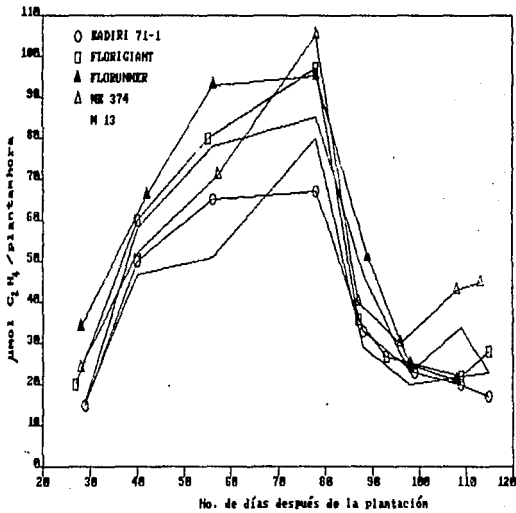
En las gráficas 3 y 4 se observa que la mayor actividad de la nitrogenasa se registró entre los 70 y 80 días; que en los cultivares del tipo Virginia, la actividad de la nitrogenasa es mayor que en los del tipo Valencia (con valores de 68 a 105 y 25 a 58 en mol de C_2H_4).

Resultados similares se observan en la gráfica 5 en donde el cultivar Kadiri 71-1 perteneciente al tipo Virginia dió lugar a una mayor reducción de acetileno respecto al cultivar MH-2 tipo Valencia, también se observa que la humedad favoreció la actividad de la nitrogenasa ya que los valores más altos se registraron en la época de lluvias.

En la tabla 14 se comparan cualitativamente los resultados de nodulación y actividad de la

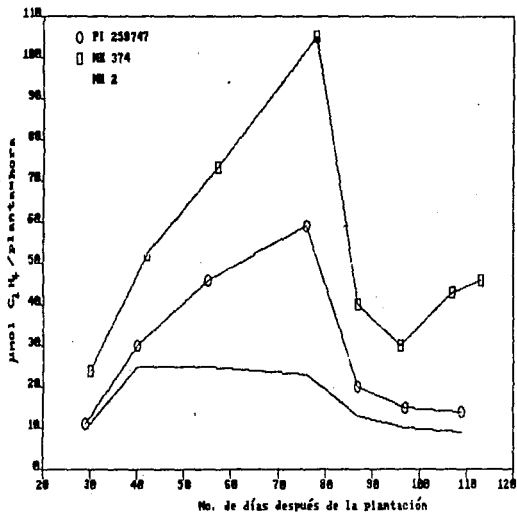
GRAFICA 3

Actividad de la nitrogenasa por planta en cinco cultivares de cacahuate de tipo Virginia (después del periodo de lluvias, 1980), (33).



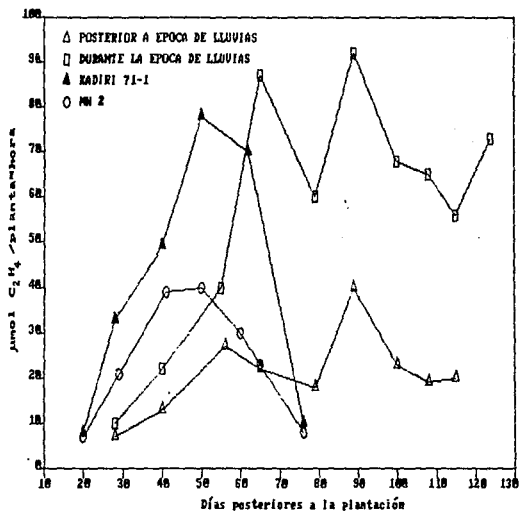
GRAFICA 4

Actividad de la nitrogenasa en *Arachis hypogaea* tipo Virginia cultivar MK 374 y tipo Valencia cultivar MI 2 y PI 259747. (88).



GRAFICA 5

Actividad de la nitrogenasa por planta en *Arachis hypogaea*: tipo Virginia, cultivar Kadiri 71-1; tipo Valencia, cultivar MH 2, durante la época de lluvias y después del periodo de lluvias, (80).



nitrogenasa obtenidos en años de investigación.

Al comparar los resultados de estos dos parámetros en un mismo ciclo se tiene que en general, los cultivares del tipo virginia presentan valores altos y medios en tanto que los cultivares de los tipos Valencia y Español dan valores bajos o medios.

También se observa que tanto la nodulación como la actividad de la nitrogenasa variaron en los diferentes experimentos y que solo en un caso del tipo Virginia no se registró actividad de la nitrogenasa, aún cuando sí se formaron nódulos, en tanto que los cultivares pertenecientes a los tipos Valencia y Español parecen ser más sensibles a condiciones desfavorables en el medio ambiente.

En la tabla 15 se registran los resultados finales los que permiten confirmar los resultados obtenidos a diferentes periodos de crecimiento antes discutidos y se observa que el tipo Virginia dió lugar al mayor rendimiento como resultado de la acumulación de nitrógeno fijado.

TABLA 14

Variación de la nodulación y fijación de nitrógeno (C_2H_4), de doce cultivares de Arachis hypogaea en tres años de experimentos, (33).

Tipo botánico	Cultivar	1977 - 1978				1978		1978 - 1979	
		1er. muestreo		2o. muestreo		nodulación	nitrógenasa	nodulación	nitrógenasa
Virginia	NC4c 2621	A**	M	A	M	M	M	A	A
	NC4c 2600	M	B	M	M	B	M	B	B
	Robert 33-1	M	M	M	M	M		B	M
Valencia	NC4c 490	M	M	M	M	M	M	A	M
	NC4c 2734	B	B	M	M	M	B		
	NC4c 51	B	M	B	B	B			
	NC4c 945	B	B	M	M	M			
	No. 421	B	B	B	B				
Español	JH 171	M	M	M	M	B	B	B	M
	No. 418	B	B	B	M				
	NC4c 888	B	B	B	B	M	B	B	B
	Ab 3275	B	B	B	B	B	B	B	B

* Las tres épocas de prueba fueron después de la época de lluvia, 1977-1978, durante la época de lluvia 1978, y después de la época de lluvia, 1978-1979.

** A = alto; M = medio; y B = bajo.

TABLA 15

Producción de materia seca durante la estación posterior a las lluvias por Arachis hypogaea, tipo Virginia (Kadiri 71-1) y tipo Valencia (MH-2), (34).

Cultivar	Peso de la vaina (Kg/ha)	Peso de la parte aérea (Kg/ha)	Total de mat. seca (Kg/ha * Día)
Kadiri 71-1	2426	4103	43
MH 2	1833	1041	24

Estos resultados permitieron concluir a los investigadores que los cultivares pertenecientes al tipo Virginia forman más nódulos y fijan más nitrógeno que los tipos Valencia y Español y correlacionaron sus resultados con el crecimiento vertical de los tipos Valencia y Español que presentan un área foliar menor que el tipo Virginia cuyo crecimiento es extendido. lo que determina una actividad fotosintética y fijación de nitrógeno más altos. Así mismo en estos tipos, el ciclo del cultivo es más corto y la maduración es temprana, por lo que al presentarse la fructificación en un periodo más temprano, la energía de la planta es canalizada a las vainas, por lo que probablemente la actividad de los nódulos es afectado.

En este sentido hay reportes que indican que el envejecimiento de los nódulos y la disminución en la fijación de nitrógeno son acelerados durante la fructificación.

Hadad (1982). llegó a conclusiones similares a las antes expuestas. Y aún cuando los objetivos de este estudio son diferentes. los resultados indican que; el cultivar de cacahuete de ciclo largo y maduración tardía dió lugar a mayor número de nódulos y masa nodular total, (22).

Para este tipo de estudios Wynne (1980), señala que en la selección de cultivares se deben tomar muy en cuenta las fechas de muestreo, ya que generalmente en las primeras etapas de desarrollo no se observan

variaciones en la fijación de nitrógeno y que estas se manifiestan cuando se inicia la formación de vainas, (48).

Respecto a la nodulación, número y distribución de nódulos en cacahuate se tiene que:

- La nodulación es regulada por plásmidos de la bacteria y en el hospedero por un par de genes recesivos independientes (Vázquez 1990, (44) y Nigam 1980, citado en 33).
- Hay líneas no nodulantes.
- En las plantas noduladas su número es muy variable (9, 22, 24, 28 y 40).
- Se distribuyen básicamente en las raíces secundarias, en menor cantidad en el hipocotilo y aún en el tallo, (33).
- Las subespecies presentan patrones diferentes de nodulación, (33).

Los genes presentes en la bacteria son de dos tipos; en el primer grupo se han descrito los llamados A, B y C. Estos son intercambiables y actúan como operones. El A y B parecen estimular la división mitótica en tanto que el C se ha relacionado con la transmisión de señales. Al segundo grupo corresponde el H que parece dar la especificidad: este fue identificado en Rh meliloti y cuando pierde este gene pierde la posibilidad de nodular alfalfa.

Este tipo de genes parece perderse con facilidad en las cepas que infectan cacahuate, (44).

Respecto al hospedero, Williams y Linch (1954); Holl

y La Rue (1976), reportaron variedades de soya no nodulantes (citado en 33). Gorbett y Burton (1979) indican que la cruz de líneas de cacahuete 487A-1-1-2 x PI 262090 dió lugar a una línea no nodulante. «m. Nambiar (1982), estudió cruces de diferentes líneas de Arachis hypogaea y obtuvo generaciones noduladas, no noduladas y algunas nodulantes segregadas que formaron pocos nódulos pero mucho más grandes que los característicos de las líneas originales.

Observando además que esta característica genética no es estable y que se mantiene en las primeras cinco generaciones en tanto que en la sexta se presenta la nodulación normal y solo un gran nódulo, (34).

El número de nódulos reportados varía en función de las variedades, tiempo de muestreo y condiciones del experimento.

Hadad (1982), en un experimento de campo reporta, en la variedad Ashford, de 40 a 95 nódulos por planta, en tanto que en la variedad Barberton de 20 a 85 nódulos. Estas cantidades se registraron a las seis semanas en tanto que a las diez semanas estos números aumentaron a 70 y 120 en la variedad Ashford y en Barberton permanecieron más o menos constantes de 30 a 50 nódulos por planta, (22).

En tanto que Wynne (1982), en un experimento de campo reporta de 440 a 950 nódulos (ver tabla 16).

Respecto a su distribución, indica que los

nódulos de las raíces secundarias son los más abundantes y los que primero envejecen; que en la subespecie hypogaea el 13% del total de los nódulos se forma en el hipocotilo, en tanto que en los cultivares de la subespecie fastigiata solo se forma del 0.5 al 1.0% sobre el hipocotilo y observó que en el cultivar MK 374 (tipo Virginia), los nódulos se forman sobre el tallo. Los nódulos del hipocotilo se forman después de 40 a 60 días y solo se desarrollan cuando el alrededor del hipocotilo esta húmedo.

Estos aspectos refuerzan en gran medida los resultados en cuanto a la mayor fijación de nitrógeno reportada en los cultivares pertenecientes al tipo Virginia de cacahuete, en donde la distribución de los nódulos determina un periodo de actividad más largo el que es favorecido por el tipo y ciclo de desarrollo en donde se espera una mayor actividad fotosintética y un suministro eficiente de fotosintatos que repercute en la mayor acumulación de nitrógeno.

Este tipo de resultados fueron confirmados por Wynne y colaboradores (1982), los que determinaron: nodulación, actividad de la nitrogenasa (reducción de acetileno), peso seco de diferentes fracciones de las plantas (tallo, peciolo, hojas y frutos) y área y duración de las hojas en los tipos Valencia, Español y Virginia de cacahuete.

En la tabla 17 se observa que el número y masa nodular así como la fijación de nitrógeno fueron

superiores en los cultivares del tipo Virginia y que estos resultados se correlacionaron con el radio y área específica de las hojas en donde los valores más altos correspondieron a los cultivares Florigiant y NC 8, lo que indica su tasa de crecimiento y capacidad fotosintética más alta que se tradujo en un peso más elevado de cada una de las secciones de las plantas que fueron evaluados. Mediante análisis de regresión se determinaron variaciones de 75% en los siguientes parámetros; duración y peso de las hojas y nodulación y actividad de la nitrogenasa. Demostrando la importancia de la relación entre la actividad fotosintética y la fijación de nitrógeno en Arachis, (48 y 49).

Corroborando los resultados obtenidos por Hardy y Havelka (1976), quienes reportan una estrecha relación entre la fijación de nitrógeno y la fotosíntesis, (25).

Otro aspecto de importancia en este estudio es que los autores proponen la evaluación de el peso seco de las hojas (método simple y barato), como una medida para seleccionar las líneas o cultivares de cacahuate que puedan ser más eficientes en la fijación de nitrógeno, (40).

TABLA 16

Resultados de la nodulación y fijación de nitrógeno en ocho cultivares de *Arachis hypogaea*, (40).

Cultivar	Nódulos		Fijación de N ₂ (μ mol CaH ₄ /plantamh)
	Número	Peso (g/planta)	
Tennessee Red	862 bc	0.80	15.4 bc
Spanhoma	440 c	0.84 e	13.1 c
Florunner	855 ab	1.33 bc	22.2 a
PI 262090	718 ab	0.96 cde	16.1 bc
Florigiant	959 a	1.75 a	23.5 a
NC 4	934 a	1.47 ab	21.4 a
NC 6	926 a	1.47 ab	23.1 a
Early Bunch	938 a	1.13 bcd	19.1 ab

TABLA 17

Resultados de peso obtenido en las diferentes partes de plantas de *Arachis hypogaea*, (40).

Tipo	Cultivar	Peso de la hoja	Peso del tallo	Peso de peciolo	Peso de la vaina	Peso fruto
		(g/planta)				
Valencia	Tennessee Red	20.8d	24.8c	4.6d	4.0e	33.2e
Español	Spanhoma	22.7cd	25.9c	5.4c	4.7de	34.6c
Virginia	Florunner	27.4b	30.4ab	5.2cd	5.9bc	33.9c
Virginia	PI 262090	24.1c	33.2a	5.2cd	2.6f	14.6d
Virginia	Florigiant	30.6a	34.8a	6.2b	6.9a	44.9b
Virginia	NC 4	29.0ab	30.9ab	6.1a	6.1abc	30.6c
Virginia	NC 6	30.1ab	36.1a	5.8bc	6.8ab	43.9b
Virginia	Early Bunch	27.5b	25.1c	6.1b	5.3cd	52.4a

2 5 3.- EVALUACION AGRONOMICA DE LA INOCULACION DE Rhizobium EN Arachis hypogaea L.

Aún cuando se ha demostrado que el cacahuate es compatible con Rhizobium del grupo del caupi por lo que esta leguminosa generalmente nodula y establece simbiosis con la población nativa de numerosos suelos agrícolas, (4); lo expuesto en las páginas anteriores indica que estas asociaciones espontáneas no siempre son las más eficientes y que existe la posibilidad de mejorar esta simbiosis mediante la utilización de cepas seleccionadas y específicas para los diversos cultivares de Arachis y que deben tomarse en cuenta las condiciones ambientales que limitan o favorecen la manifestación de la fijación de nitrógeno.

En la tabla 18 se expone un resumen de los resultados obtenidos por diversos investigadores que evaluaron el efecto de la inoculación sobre la producción de grano y se observa que la respuesta en campo es muy variable, desde aquella que indica un efecto en detrimento de la producción, con rendimientos de - 6 a - 28% respecto al testigo no inoculado y no fertilizado, (35); ninguna respuesta, (22) y hasta aquella con aumentos significativos en el rendimiento de semilla y contenido proteico fluctuando de + 1 hasta 107% de mayor producción respecto a los testigos no inoculados y no fertilizados, (8, 35, 41 y 42).

TABLA 18

Resultados de la evaluación agronomica de la inoculación de *Rhizobium* en *Arachis hypogaea*.

Cepa	Cultivar	Condiciones	Rendimiento de grano Kg/ha		% de variación respecto al T-		Referencia				
			T-	T+	Inoculado	T+		Inoculado			
5 Cepas	Inbford	40 Kg de N/ha	4638	5628	No hubo resp	+21	-	Hedad 1982. (22).			
		120 Kg de N/ha		5725		+23	-				
	Berbantes	40 Kg de N/ha	2325	3229	No hubo resp	+38	-				
		120 Kg de N/ha		3559		+52	-				
205 y 207	Virginia	M 8	289	399		+38		Shiffman 1968. (42).			
6004		N org y P bajos						Nambiar 1982. (35).			
		Inoc en semilla		371			+28				
		Inoc en suelo (líquido)		599			+107				
		Inoc en suelo (granular)		505			+74				
RC 92		Inoc en suelo granular	1345	1000			-26				
		Inoc en suelo líquido		1630			+21				
		Inoc en semilla		938			-31				
		Inoc en suelo granular		1020			-25				
IC 6009/MSZ		Inoc en suelo líquido		1890			-15				
		Inoc en suelo granular	2220	1940			-13				
IC 6009/Robot-33				3330			-6				
RC 92 /			3510	4520			+28				
IC 4009/Ab-8189			2830	2860			+1				
RC 92 /				2680			-6				
5a/70 /				360			-28				
RC 43.3/ Kadiri 71-1			500	460			-8				
RC 92 /				570			+14				
5a/70 /				800			-8				
RC 43.3/ Robot 33-1			870	960			+10				
RC 92 /				1160			+33				
11 Cepas/Hed Star			480	523-988			+9 a +105	Hysle 1978. (3).			
5a/70 /Robot 33-1			590	1160			+96	Joshi y Kulkarni 1994. (27)			
RC 92/				1260			+101				
5a/70 /			800	800			0				
RC 92/				900			+12				
RC 92/ Robot 33-1			2350	2760			+17	Nambiar 1984. (36).			
RC/92/ J12			1950	1870			-3				
RC 92/ Robot 33-1		Periodo de lluvia	1979	870	1160			+33	Nambiar 1984. (citado 32)		
			1980	1320	1640			+21			
			1981	1530	2150			+40			
		Post lluvia	1979	3500	4500			+28			
			1980	4280	4440			+2			
			1981	3210	3300			+2			
		Diversas	/Sholanit (1975)		3199	4361	5056			+40	Ratner 1979. (41)
				/ 71-234 (1976)	2696	3134	3304			+17	
				/ 71-234 (1977)	3375	3773				+11	

En condiciones de campo la falta de respuesta a la inoculación es condicionada por factores biológicos, físicos y químicos.

Dentro de los factores biológicos tenemos:

Presencia de flora nativa no efectiva y competitiva la que ha sido identificada como una de las causas principales en el fracaso de los inoculantes, (20).

Hadad y colaboradores (1982) estudiaron suelos de diferentes regiones de Sudán procediendo a determinar:

- Existencia y eficiencia de flora nativa y
- Respuesta a la inoculación y fertilización nitrogenada.

Para ello emplearon: suelos deficientes en nitrógeno y pH alcalino; 5 cepas 178 A22, 27 B7, WI, 3G4b4 y TAL 309 (seleccionadas en experimentos de invernadero en la Universidad del estado de Iowa, USA); dos cultivares de cacahuete Ashford (maduración tardía) y Barberton (maduración temprana) y dos concentraciones de inoculante 10^4 y 10^8 /semilla.

Mediante el método de infección en planta establecieron el NMP de rhizobia y reportan cantidades alrededor de 2×10^4 , resultados que concuerdan con los encontrados por Ham 1980, (24).

La respuesta a la fertilización nitrogenada y la nodulación abundante en los testigos sin inocular indican que hay población nativa muy infectiva. Por otra parte la carencia de respuesta a la inoculación

indicó que la flora introducida fue desplazada por la competitividad de la flora existente. Por lo que concluyeron que es necesario introducir cepas seleccionadas efectivas en la fijación de nitrógeno y con capacidad competitiva elevada. (22). (Ver tabla 18).

Observaciones similares se han hecho en la India. Shet (1979), reportó poblaciones de 10^2 a 10^6 /g de suelo (citado en 26); no obstante Gaur, Sen y Subba Rao (1974), indican que en este país la producción de cacahuete es baja atribuyéndolo a que las cepas existentes son competitivas pero no eficientes en la fijación de nitrógeno. (20). Otros factores biológicos que bloquean el efecto de la inoculación son la presencia de antagonistas y predadores de Rhizobium o bien que las semillas o raíces secretan sustancias que inhiban el desarrollo de la bacteria.

En este sentido Iswaran (1975) y Rai y colaboradores (1976), reportan que del 10 al 98% de los nódulos del cacahuete son afectados por insectos presentes en diversos suelos de la India y que estos han sido controlados mediante la adición de un Kg/ha de ingrediente activo de los siguientes insecticidas aldecarb, desulfatan o carbofuran con los cuales se mejora la nodulación y aumenta el rendimiento de gramo. (20).

Shiffman (1968), indicó que en la cubierta de las semillas de cacahuete existen sustancias parecidas

a los taninos, los que actúan como inhibidores de las bacterias por lo que en este caso particular no recomienda la inoculación sobre la semilla ya que con este método se obtienen rendimientos más bajos que cuando se inocula directamente al suelo.

Lo anterior fué demostrado en un estudio en el que comparó tres sistemas de inoculación y empleo semillas cubiertas con fungicidas o sin protección y observó que la inoculación directa dió lugar a la nodulación más pobre y que cuando se inoculó el suelo, la adición de inoculante líquido supera el efecto obtenido con el inoculante en turba. Y comprobó que la introducción de cepas seleccionadas mejora no solo el rendimiento sino la calidad del grano, (42). (Ver tabla 18).

Estos resultados concuerdan con los de Nambiar (1982), quien evaluó tres métodos de inoculación sobre la producción de cacahuate y observó que la inoculación líquida es la más adecuada ya que no causa problemas en la germinación y parece favorecer de algún modo a Rhizobium lo que se traduce en mayor acumulación de nitrógeno, (45). (Ver tabla 18).

En este mismo estudio se evaluó el efecto de diferentes dosis de inoculación, se comparó el efecto de varias cepas de Rhizobium y la respuesta de cuatro cultivares de Arachis y encontraron que con niveles bajos (10^2 y 10^4 /semilla) de inoculación no hubo nodulación en tanto que con niveles de 10^7 /semilla el número y peso de nódulos fué mayor y

se tradujo en mayores cantidades de nitrógeno por planta. Corroboraron que hay cepas más eficientes, tal es el caso de la NC 92; y que los cultivares varían también en su respuesta a la inoculación observando que la Robut 33-1 fue la que mejor se comportó (ver tabla 18); y concluyen que es posible aumentar la producción de cacahuete mediante el uso de cepas y cultivares adecuados, (25).

Observaciones similares fueron hechas por Ayala 1978, (26), quien provó el efecto de once cepas sobre el rendimiento del cultivar Red Starr observando que el efecto de estos fue muy variable (ver tabla 18).

Y posteriormente por el mismo Nambiar (1984) y Joshi (1984), quienes confirmaron que la cepa NC 92 y el cultivar Robut 33-1 son compatibles y dan lugar a asociaciones eficientes, (27 y 28).

Nambiar en 1984 reportó que las asociaciones eficientes son afectadas por las condiciones ambientales, por ejemplo, cuando el contenido de humedad disminuye, el desarrollo y distribución de los nódulos es marcadamente afectado, lo que se traduce en una menor acumulación de nitrógeno y consecuentemente en menor rendimiento (citado en 32).

Ratner en 1979, también hizo referencia al efecto de la temperatura y contenido de humedad. Este autor evaluó la necesidad y el efecto de la inoculación y concluyó que la inoculación dió lugar a rendimientos

mayores respecto a la fertilización nitrogenada. Y observó que el aumento en el rendimiento fue menor en el ciclo de cultivo en donde se registraron temperaturas más elevadas y menor precipitación que correspondió a 1977, aún cuando en este ciclo la cantidad de nódulos fue similar a los registrados en 1975 y 1976. Por lo que concluye que la actividad de la nitrogenasa es más sensible que las estructuras nodulares.

Esto lo comprobó evaluando el efecto de los cambios estacionales sobre la actividad de la nitrogenasa mediante la técnica de reducción de acetileno y observó que bajo condiciones favorables la actividad alcanzó un nivel tan alto como 975 μmoles de $\text{C}_2\text{H}_2/\text{g}$ de peso seco de nódulo/h y que en casos de calor y sequedad se redujo drásticamente hasta 75 μmoles de $\text{C}_2\text{H}_2/\text{g}$ de peso seco de nódulo/h, (41).

Respecto al efecto del pH Vincent en 1975 indica que la eficiencia en la fijación de nitrógeno por una cepa de Rhizobium puede disminuir incluso nulificarse cuando el pH es alterado, (45).

En este sentido en estudios realizados con cacahuate Graham y Donawa (1981), emplearon un suelo ácido (pH 4.6) al que agregaron diferentes dosis de carbonato de calcio e inocularon las semillas con cepas marcadas (tolerantes a antibióticos) y observaron que un pH próximo a la neutralidad favorece la competitividad de las cepas, la infección y la actividad de la nitrogenasa correspondiendo el valor

óptimo a 6.5 en que registraron los valores más altos de los tres parámetros evaluados. En tanto que el pH ácido tiene un efecto en detrimento, ver tabla 19. Estos resultados probablemente estén relacionados con el pH óptimo al que se desarrolla el cacahuate y que corresponde a 6.5, (10).

TABLA 19

Influencia del pH del suelo sobre; el peso de la raíz, actividad de la nitrogenasa, número de nódulos e inoculante, (10).

pH del suelo	Actividad de la nitrogenasa ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{h}$)	Peso de la raíz (g)	Número de nódulos	Inoculante recuperado (%)
4.6	5.76 a	3.41 a	41 a	47.5
6.5	12.73 a	4.54 a	87 a	58.3
7.1	11.09 a	3.43 a	76 a	28.3
Error Std.	2.57	0.37	8.09	

Respecto a la disminución en el porcentaje de bacterias inoculadas recuperadas, los autores indican que en este caso no fué el pH el que determinó este efecto sino que el pH de 7.1 favoreció a la flora nativa y el efecto de competencia determinó una sobrevivencia menor de las cepas inoculadas.

Esto indica que en el estudio de los factores ambientales debe considerarse no solo el efecto del que se está analizando, sino la repercusión en otros, en este caso el factor biológico del suelo. Estos mismos autores determinaron el efecto de inoculante en tres valores de pH, ver Tabla 20.

Sus resultados les permitieron corroborar que la mayor actividad de la nitrogenasa se registró a pH 6.5, pero que este proceso fué efectuado por la flora nativa y no por la inoculada que en este caso particular fué menos eficiente que la nativa.

Esto es de particular importancia para aquellos suelos en donde existen poblaciones elevadas de Rhizobium no eficientes en la fijación de nitrógeno, población que al estar adaptada a esas condiciones particulares puede bloquear el efecto de las cepas eficientes introducidas.

Weaver y Frederick (1974), sugieren que en condiciones favorables la cantidad de inóculo debe ser mil veces mayor que la población para asegurar que el 50% de los nódulos sean formados por la cepa introducida. Y que en condiciones adversas de pH, salinidad o temperatura del suelo, las proporciones de inoculante deben ser todavía mayores, (40).

La importancia de las interacciones ambientales también se observa claramente en los resultados expuestos por Chesney (1975), quien estudió el efecto de dosis crecientes de inoculante en ausencia y presencia de nitrógeno mineral sobre el rendimiento de cacahuate, (40).

TABLA 20

Efecto del pH del suelo y de la cantidad de inóculo sobre el peso de la raíz, actividad de la nitrogenasa (\pm SE) y recuperación de inóculo, (%).

pH del suelo	cantidad de inóculo (Célula/ml)	cantidad de nitrogenasa (μ mol/C ₂ H ₄ /h)	peso de la raíz	media recuperada (%)
4.6	No inoculado	14.26a	6.28 a	-
	106	3.75a	5.80 a	30.0
	109	5.13a	5.32 a	43.3
		\pm 1.92	\pm 0.55	
6.5	No inoculado	31.43a	8.13 a	
	106	11.24 a	6.51	50.0
	109	20.29 a	7.52 a	66.7
		\pm 6.65	\pm 0.58	
7.1	No inoculado	26.19 a	7.90 a	---
	106	18.82 a	7.47 a	32.5
	109	19.31 a	7.26 a	38.3
		\pm 8.11	\pm 0.56	

En la Tabla 21 se presentan algunos de los resultados que ellos reportaron; y de los que concluyeron.

Durante el primer ciclo, el periodo de sequia registrado durante la floración afecto el desarrollo del cacahuate lo que determinó un rendimiento bajo y carencia de respuesta a los tratamientos probados.

El experimento de 1970 indica que la inoculación favoreció el rendimiento agrícola y que se requiere de dosis fuertes de inoculante.

Lo anterior confirma la interacción de factores ambientales.

TABLA 21
Efecto de dosis de inoculante y nitrógeno mineral sobre el rendimiento de *Arachis hypogaea*, (40).

Ciclo	Inóculo g/27Kg de semilla	Nz				Media Rendimiento
		Kg/Ha				
		0	33	66	99	
Dic 1969	0	469	943	347	585	593
	113	735	500	637	596	617
	226	608	497	151	442	825
Media		614	647	378	541	
Nov 1970	0	2558	2012	2222	2113	2151
	113	2353	2617	1631	1996	2149
	226	2841	2227	2951	2593	2653
Media		2484	2296	2268	2234	

Prabhashankar (1978), indica que una tensión de humedad prolongada reduce el desarrollo de nódulos y la fijación de nitrógeno, (40).

La contribución de FBN en el desarrollo de las leguminosas y la fertilidad del suelo depende de los simbioses y de los factores ambientales. Dart y Krantz (1977), indican que en Nigeria el cultivo del cacahuate aporta cantidades de 240 Kg de Nz/ha/año de los cuales el 80% del total es asimilado por la planta, (citado en 26). En tanto que Dakora y colaboradores reportan para el norte de Ghana (Africa), que el cacahuate fija 101 Kg/ha y satisface el 79% de sus necesidades de nitrógeno y que de estos el 46% es desplazado hacia el grano y que solo el 43% del total fijado por la simbiosis es regresado al suelo, (41).

Estos mismos investigadores señalan que este nitrógeno residual al ser asimilado por cultivos

posteriores dan rendimientos similares a cuando se fertilizan con 80 Kg/ha de nitrógeno mineral. Demostrando que cuando se cultiva maíz después de cacahuete sin agregar fertilizante se obtuvieron aumentos en el rendimiento de maíz de 80%.

Lo que indica la importancia de la asociación Rhizobium-Arachis que aporta la mayor parte del nitrógeno requerido por la leguminosa y además favorece la mineralización del nitrógeno en el suelo.

Como quiera esta asociación puede ser mejorada mediante prácticas de inoculación pero para que esta tenga éxito deben considerarse los siguientes factores:

- Introducción de cepas superiores en cuanto a capacidad competitiva.
- Eficiencia en la fijación de nitrógeno.
- Persistencia en el suelo.
- La inoculación es más eficiente cuando se aplica en forma líquida.
- Introducción de cultivares genéticamente compatibles con las cepas a emplear y que reúnan además características morfológicas y fisiológicas que favorezcan la fijación de nitrógeno como las que corresponden al tipo Virginia.
- El uso de modificadores de pH y/o la adición de nutrientes que favorecen la fijación de nitrógeno como son el fósforo, cantidades reducidas de nitrógeno y elementos menores.

3.- MATERIAL Y METODOS.

La utilización de inoculantes para leguminosas ofrece una alternativa para mejorar la producción de granos de este tipo de cultivos.

La calidad de los inoculantes depende básicamente del tipo de cepas que se empleen, las que deben reunir características tales como alta efectividad en la fijación de nitrógeno y capacidad competitiva y de adaptación a los suelos a los que serán introducidos. De lo anterior deriva la importancia de contar con colecciones de cepas perfectamente caracterizadas, por lo que en este trabajo se estableció como otro objetivo:

Iniciar la formación de un cepario de bacterias fijadoras de nitrógeno simbióticas de Arachis hypogaea.

3. 1.- OBTENCION DE MUESTRAS DE CACAHUATE.

El muestreo se hizo en las parcelas del campo agrícola experimental del Bajío del INIFAP ubicadas en el estado de Guanajuato.

Se tomaron ejemplares de 6 variedades de cacahuete: V-1, V-2, V-3, V-4, Criollo y Americano. Cada planta se separó del suelo enterrando la pala a 25 cm del tallo en forma vertical por los cuatro costados de la planta, a fin de formar un cuadro en la superficie y extraer la raíz con el cubo de suelo en donde estaba contenido el sistema radicular. Las plantas con raíz y suelo se colocaron en bolsas de plástico y se trasladaron al laboratorio.

3. 2.- METODO DE AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION BIOQUIMICA:

Las raíces de las seis muestras de cacahuete se lavaron con agua corriente para eliminar las partículas de suelo,

procediéndose a separar los nódulos y desinfectarlos con HgCl₂ al 0.1% durante dos minutos, eliminando el exceso de desinfectante mediante seis a ocho lavados con agua estéril (Vincent), (45).

Los nódulos de cada muestra se maceraron en un volumen pequeño de agua y de cada una de las suspensiones lechosas se tomó una asada y se sembró por estria en cajas de Petri que contenían Extracto de levadura manitol agar adicionado de rojo congo (ELMA-RC). Cada siembra se hizo por cuadruplicado, las cajas se incubaron a 28°C y se hicieron observaciones a las 24, 48 y 72 horas. Seleccionando y marcando aquellas colonias que presentaron diámetro de 2 a 4 mm, aspecto mucoso y blanquecino. A partir de estas colonias se prepararon frotos que fueron teñidos por la técnica de Gram para su posterior observación microscópica. De las colonias en las que se observaron bacilos cortos Gramnegativos se procedió al aislamiento en tubo en medio ELMA, los tubos se incubaron a 28°C efectuándose la comprobación de pureza mediante tinción de Gram y observación microscópica.

De lo anterior resultó el aislamiento de catorce cepas a las que se les hicieron las siguientes pruebas bioquímicas, incluyéndose en este ensayo tres cepas de colección; la FQ-30 aislada de *Vigna unguiculata* (cowpea) en 1986 en Wisconsin, USA; la CP-92 donada por el Colegio de Postgraduados y aislada de *Arachis hypogaea*; y la CP-5 aislada de chicharo de vaca.

a. - Comprobación de características morfológicas coloniales en el medio de ELMA-RC.

- b. - Determinación de producción de acidez o alcalinidad en el medio ELMA adicionado de AB.
- c. - Desarrollo en glucosa-peptona-agar-púrpura de bromocresol.
- d. - Utilización de manganeso en el medio modificado de Bergensen.

En los cuatro ensayos se incubó a 28°C durante 24-48 hrs; 48-144 hrs; 24 hrs y 168 hrs respectivamente. Los resultados de estos ensayos se presentan en la tabla 22.

ENSAYO DE INFECCION EN PLANTA:

Experimento No. 1.

Prueba de viabilidad de las semillas. En dos cajas de Petri con algodón húmedo se colocaron 20 semillas y se dejaron a temperatura ambiente hasta su germinación. Observándose la germinación de 7 y 8 semillas y un desarrollo muy abundante de hongos alrededor de las mismas, por lo que se decidió probar dos desinfectantes y tres tiempos de exposición a fin de eliminar riesgos de contaminación en los ensayos de invernadero.

PRUEBA DE DESINFECCION:

Se emplearon dos desinfectantes cloralox y cloruro mercúrico, a dos concentraciones cada uno; 5% y 10% y tres tiempos de exposición; 3, 6 y 10 minutos. Los resultados se exponen en la tabla 23.

DESINFECCION Y GERMINACION DE SEMILLAS.

Se emplearon semillas de cacahuate variedad Americano, seleccionándose semillas de igual tamaño y sin daños aparentes. Estas se colocaron en un frasco y se

desinfectaron por tratamiento con etanol al 95% y después con Cloralex al 5% durante 10 minutos, eliminándose el exceso de desinfectante mediante lavados con agua estéril. Las semillas desinfectadas se colocaron en cajas de Petri con algodón y papel estéril y humedecidos, dejándose a 28°C durante tres días para su germinación.

PREPARACION DE UNIDADES EXPERIMENTALES.

En 96 bolsas de polietileno negras, se colocó papel filtro grueso aproximadamente de 15 x 12 cm. Estas se pusieron en un bastidor de alambre y en 93 bolsas se le agregaron 20 ml de solución nutritiva de Jensen estéril, libre de nitrógeno, y a las tres restantes la misma solución adicionada de nitrógeno en forma de nitratos.

En condiciones de asepsia y con pinzas esteriles se colocó una semilla germinada en cada bolsa. Realizándose 3 repeticiones por cada cepa y por cada testigo.

PROPAGACION DE BACTERIAS Y AJUSTE DE POBLACION. SE EMPLEARON 30 CEPAS, (Tabla 24).

De los cultivos madre de cada una de las cepas de la tabla 3 se tomó una asada y se inoculó en 50 ml de caldo extracto de levadura manitol, incubándose a 28°C y 200 rpm durante 7 días las cepas de crecimiento lento y 5 días las de crecimiento rápido.

Se ajustó la población celular por nefelometría de McFarland en un rango de 100 a 150 U.K. que corresponden de 1.0 a 1.5×10^9 cels/ml, mediante la adición de medio de cultivo estéril.

INOCULACION.

Se adicionó un mililitro de cultivo por semilla. Las unidades experimentales se colocaron en invernadero durante un mes procediéndose a detectar la presencia o ausencia de nódulos. Los resultados se presentan en la tabla 25.

MACETAS CON TEZONTLE.

Experimento 2.

Preparación de unidades experimentales.

Macetas de plástico de 20 cm de diametro que fueron lavadas, desinfectadas con alcohol y cubiertas con papel estraza.

El soporte (tezontle) se lavó y se ajustó el pH a 7.0, se colocó en bolsas de polipropileno y se esterilizó por exposición a vapor corriente durante 90 minutos.

En condiciones de asepsia se llenaron las macetas con el tezontle estéril y se humedecieron con 300 ml de solución Jensen libre de nitrógeno.

Se emplearon semillas de cacahuate variedad Americano y Criollo, llevándose a cabo la desinfección y germinación de igual forma al experimento No. 1.

Con una espátula desinfectada se procedió a colocar 4 semillas por maceta y se inoculó 1 ml del cultivo.

Las unidades experimentales se colocaron en el invernadero. Durante el periodo de crecimiento se dieron riegos alternos de solución nutritiva y agua estéril. A las tres semanas se dejaron dos plantas por maceta y la cosecha se afectuó a los 90 días a los que se determinó la nodulación y peso seco de la parte aérea. Ver tablas 26 y 27.

El número de tratamientos fueron 30 con tres repeticiones y dos variedades.

JARRAS DE LEONARD.

Experimento 3.

Preparación de unidades experimentales:

Para la preparación de Jarras de Leonard, se utilizó vermiculita a la cual se le ajustó el pH entre 6.5 y 6.8.

En la parte inferior de las jarras se colocaron 300 ml de solución Jensen libre de nitrógeno y en la parte superior se llenaron con la vermiculita cubiertas con papel aluminio. Las jarras se esterilizaron por exposición a vapor corriente durante 90 minutos a 121°C.

Se empleó semillas de cacahuete variedad Criollo. la prueba de desinfección y germinación se realizó de igual forma al experimento número 1.

Con una espátula desinfectada se procedió a colocar 3 semillas por Jarra.

Se inoculó un mililitro del cultivo y a los 23 días se reinoculó de igual forma. A los 35 días se dejó una planta por jarra y la cosecha se efectuó a los 57 días. Se realizaron 15 tratamientos con cuatro repeticiones.

Los parámetros evaluados corresponden a nodulación y peso seco de parte aérea y raíz, (Tabla 28).

MACETAS CON TEZONTLE Y JARRAS DE LEONARD REGADAS CON SOLUCIONES DE JENSEN (CON Y SIN NITROGENO); DART Y PATE; Y NORRIS (SIN NITROGENO).

Experimento 4.

Preparación de unidades experimentales.

La preparación de las macetas y Jarras de Leonard se realizó igual que el experimento 2 y 3 respectivamente. Se emplearon semillas de cacahuete variedad criollo procedentes de el

estado de Jalisco. Llevándose a cabo la germinación y desinfección igual al experimento 1.

Con una espátula desinfectada se procedió a colocar cuatro semillas por maceta y tres por Jarra e inoculándose un mililitro del cultivo.

A las tres semanas se dejaron dos plantas por maceta y una planta por cada Jarra y la cosecha se efectuó a los 117 días. Se llevó a cabo un tratamiento con 5 repeticiones, (ver tabla 29).

4.- RESULTADOS Y DISCUSION.

En la tabla 22 se presentan los resultados de las características microscópicas y culturales de las 14 cepas aisladas de nódulos de cacahuete las que presentan características similares a las cepas de referencia (FQ-30, CP-92 y CP-5), en cuanto a su morfología microscópica, reacción al Gram, diámetro de las colonias y utilización de manganeso. Respecto a la producción de acidez y alcalinidad, Kremer (1982), aislo de cacahuete cepas con una u otra propiedad, etc. Considerando que la familia Rhizobiaceae desarrolla lentamente en el medio de Glucosa-Peptona-Agar y de que nueve de las catorce cepas presentaron abundante desarrollo a las 24 horas, se identificó en forma presuntiva a las cepas V3-6, V3-7, V4-10, V4-11 y Americano como pertenecientes al grupo de interés.

Estas cinco cepas fueron conservadas para su identificación por el método de infección en planta.

En la tabla 23 se presentan los resultados de porcentaje de germinación, así como de semillas contaminadas después de haber sido expuestas a diferentes métodos de desinfección y se observa que el cloruro mercurico, con las dos concentraciones y tres tiempos de desinfección, afecto la viabilidad de las semillas por lo que la germinación no se presentó en ninguno de los casos. En tanto que con cloralox al 10% la media de los seis tratamientos corresponde al 93% de germinación y 26% de semillas contaminadas y con cloralox al 5%, el 95% de las semillas germinaron y la contaminación se presentó en el 20% de las semillas, por lo que se eligió el cloralox al 5% y el tiempo de exposición de 10 minutos. En la tabla 25 se presentan los resultados de infección en planta

en donde se probaron las tres cepas de referencia, las cinco aisladas y 25 de Bradyrhizobium que nodulan eficientemente con la variedad Jupiter de soya y se observa que en ninguno de los casos se detectaron nódulos.

En relación a esto Kremer en 1982 en un estudio de selección de cepas para frijol, lenteja, Vigna y cacahuate; observó que el cacahuate en ensayos en bolsa presenta problemas ya que esta leguminosa no nodula de manera uniforme. Que la nodulación solo se presenta cuando el cultivo contiene una población elevada de rhizobia que asegura una población por semilla arriba de 3.2×10^4 células de rhizobia y recomiendan para determinar la infectividad en esta leguminosa las Jarras de Leonard e inóculos con densidades celulares de rhizobia elevados.

También señala que el tiempo al que aparecen los primeros nódulos varía marcadamente con las cepas y reporta periodos de 18 a 35 días, (20).

Con base en los resultados obtenidos y las observaciones de Kremer y Nambiar se procedió a repetir el ensayo de infección en planta, empleando el sistema de macetas con tezontle (exp 2), y Jarras de Leonard con vermiculita (exp 3), ajustando la población celular a 200 UK que corresponde a un inóculo de 2.1×10^8 cels/ml en ambos casos y aumentando el tiempo de cultivo en el invernadero de 30 días que se emplearon en el experimento 1 a 90 días para el experimento 2 y a 60 para el experimento tres.

Las observaciones efectuadas durante el cultivo permitieron constatar los reportes de Nambiar 1982, que indica que a diferencia de otras leguminosas el cacahuate no manifiesta en su ciclo vegetativo deficiencias de nitrógeno los que se caracterizan por clorosis y un desarrollo escaso, (20). Durante

el experimento todos los tratamientos presentaron un desarrollo uniforme, las plantas tenían aspecto verde y vigoroso, sin embargo al efectuar la cosecha de ambos experimentos no se registró nodulación (Tabla 25) y la determinación del peso seco en los tratamientos inoculados fué similar al testigo sin nitrógeno (T-) y siempre menor que el testigo fertilizado (T+), (Tablas 26, 27, 28 y 29).

En la búsqueda de otros factores que hubieran afectado la nodulación se determinó la conductividad eléctrica de las soluciones de riego y soluciones que persistían en la base de las Jarras de Leonard o los que se drenaron de macetas. Los resultados de estas determinaciones son similares y sus valores se encuentran en rangos que no perjudican a la simbiosis, (Tabla 30).

Como último intento se procedió a emplear otras soluciones nutritivas empleadas en experimentos hidropónicos con cacahuete y en este caso tampoco se logró inducir la nodulación a pesar de que en este caso se empleó la cepa FM-73 donada por Fertimex, S.A., la cual había sido usada en experimentos de campo con los que se obtuvo no solo la nodulación sino incremento en la producción.

TABLA 22

Características morfológicas y culturales de cepas aisladas de *Arachis hypogaea* y de colección.

Clave de las cepas	Morfología microscópica y reacción al Gram.	Morfología colonial en ELMA-RC		Producción de acidez (Ac) o alcalinidad (Al) en ELMA-AB
		Diámetro (mm)	Aspecto	
V1-1	Bacilos (-)	2 a 3	mucosa traslúcida	Al
V1-2	Bacilos (-)	2 a 4	mucosa traslúcida	Al
V1-3	Bacilos (-)	2 a 4	mucosa traslúcida	Ac
V2-4	Bacilos (-)	2.5 a 4	cremosa opaca	Al
V2-5	Cocobacilos (-)	1 a 3	cremosa opaca	Al
V3-6	Cocobacilos (-)	1.5 a 3	cremosa opaca	Al
V3-7	Cocobacilos (-)	1.5 a 3	cremosa opaca	Al
V4-8	Bacilos (-)	2 a 4	mucosa traslúcida	Ac
V4-9	Bacilos (-)	2 a 4	mucosa traslúcida	Al
V4-10	Cocobacilos (-)	1.5 a 3	cremosa opaca	Al
V4-11	Cocobacilos (-)	1.5 a 3	cremosa opaca	Al
Criollo 12	Bacilos (-)	2 a 4	mucosa traslúcida	Ac
Criollo 13	Cocobacilos (-)	0.5 a 3	cremosa opaca	Al
Americano14	Cocobacilos (-)	0.2 a 1	cremosa opaca	Al
FQ-30	Bacilos (-)	1 a 3	cremosa opaca	Al
CP-92	Bacilos (-)	2 a 4	mucosa traslúcida	Ac
CP-5	Bacilos (-)	1 a 4	mucosa traslúcida	Ac

TABLA 23

Determinación de la efectividad del desinfectante y su efecto en la viabilidad de las semillas.

DESINFECTANTE	VARIETADES					
	AMERICANO			CRIOLLO		
	Germinación/Contaminación (%)			Germinación/Contaminación (%)		
	t=3'	t=6'	t=10'	t=3'	t=6'	t=10'
Cloralex 10%	100/20	90/0	90/20	80/40	100/60	100/20
Cloralex 5%	100/0	90/10	100/0	100/50	90/50	90/10
HgCl ₂ 10%	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
HgCl ₂ 5%	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

Los resultados son el promedio de dos repeticiones.

TABLA 24

Clave y procedencia de las cepas empleadas en el experimento 1.

Procedencia	Soya	Frijol	Cacahuete
Cepa	FQ 3	FQ27	V3-6
	4	28	V3-7
	5	29	V4-8
	6	35	V4-9
	7		Americano
	8		FQ-30
	9		CP-92
	10		CP-5
	11		
	12		
	13		
	16		
	17		
	18		
	19		
	34		
	45		
	46		
	Nit J		

TABLA 25

Experimento # 1, (bolsas) Variedad Americano

Tratamientos	Nodulación
V4-10	-
V4-11	+
V3-8	+
V3-7	-
Americano 14	-
FQ-30	-
CP-92	-
FQ-3	-
FQ-4	-
FQ-5	-
FQ-6	-
FQ-7	-
FQ-8	-
FQ-9	-
FQ-10	-
FQ-11	-
FQ-12	-
FQ-13	-
FQ-15	-
FQ-17	-
FQ-18	+
FQ-19	-
FQ-34	-
FQ-45	-
FQ-46	-
Nlt J	-
FQ-27	-
FQ-28	-
FQ-29	-
FQ-35	-
Testigo (-)	-
Testigo (+)	-

TABLA 26

Experimento 2 (macetas con tezontle), variedad Criollo.

Tratamientos	Nodulación	Peso seco de parte aérea (g)
V4-10	-	1.52
V4-11	-	1.45
V3-6	-	1.43
V3-7	-	1.4
Americano	-	1.74
FQ-30	-	1.00
CP-02	-	1.05
FQ-3	-	0.8
FQ-4	+	1.51
FQ-5	-	0.96
FQ-6	-	1.3
FQ-7	-	1.23
FQ-8	-	1.05
FQ-9	-	1.34
FQ-10	-	0.88
FQ-11	-	1.16
FQ-12	-	0.97
FQ-13	-	1.24
FQ-16	-	1.30
FQ-17	-	1.35
FQ-18	-	1.16
FQ-19	-	1.51
FQ-34	-	0.73
FQ-45	-	1.16
FQ-46	-	1.29
Nit J	-	1.00
FQ-27	-	1.27
FQ-28	-	1.18
FQ-29	-	1.24
FQ-36	-	1.39
Testigo (-)	-	1.2
Testigo (+)	-	3.6

TABLA 27

Experimento 2 (macetas con tezontle), variedad Americano.

Tratamientos	Nodulación	Peso seco de parte aérea (g)
V4-10	-	2.04
V4-11	-	1.57
V3-5	-	1.50
V3-7	-	1.58
Americano	-	1.66
FQ-30	-	2.26
CP-02	-	1.73
FQ-3	-	1.17
FQ-4	-	1.56
FQ-5	-	1.37
FQ-6	+	1.59
FQ-7	-	1.34
FQ-8	-	1.62
FQ-9	-	1.57
FQ-10	-	1.5
FQ-11	-	1.63
FQ-12	-	1.56
FQ-13	-	1.27
FQ-16	-	1.33
FQ-17	-	1.46
FQ-18	-	1.44
FQ-19	+	1.31
FQ-34	-	1.47
FQ-45	+	1.61
FQ-46	-	1.16
Nit J	-	2.08
FQ-27	-	1.27
FQ-28	-	1.34
FQ-29	-	1.39
FQ-36	-	1.38
Testigo (-)	-	1.60
Testigo (+)	-	4.71

TABLA 28

Experimento 3 (Jarras de Leonard), variedad Criollo.

Tratamientos	Nodulación	Peso seco de parte aérea (g)	Peso seco de raíz (g)
V4-10	-	0.835	0.255
V4-11	-	0.892	0.23
V3-8	-	0.845	0.252
V3-7	-	0.97	0.27
Americano	-	0.545	0.235
FQ-30	-	0.417	0.172
CP-92	-	0.54	0.202
CP-5	-	0.58	0.252
FM-73	-	0.86	0.245
FM-754	-	0.785	0.202
FM-763	-	0.747	0.202
FQ-4	-	0.72	0.242
FQ-6	-	0.627	0.208
FQ-19	-	0.652	0.227
FQ-45	-	0.765	0.292
Testigo (-)	-	0.495	0.202
Testigo (+)	-	1.182	0.220

TABLA 29

Experimento 4. Resultados del efecto de diferentes soluciones sobre la nodulación en Arachis hypogaea inoculada con la cepa FM-73.

	Jarras de Leonard		
	% Nodulación	Peso seco de parte aérea	Peso seco de raíz
Solución Jensen	-	3.34	0.65
Solución Norris	-	4.26	0.63
Solución Dart y Pate	-	3.64	0.77
Solución Jensen +Nz	-	9.58	0.63
	Macetas con tezontle		
	% Nodulación	Peso seco de parte aérea	Peso seco de raíz
Solución Jensen	-	6.64	1.08
Solución Norris	-	7.42	1.37
Solución Dart y Pate	-	5.3	1.0
Solución Jensen +Nz	-	9.26	1.31

TABLA 30

Resultados de la conductividad eléctrica en algunas muestras con y sin nitrógeno, tomadas al azar.

Muestra	Conductividad eléctrica (siemens $\times 10^{-2}$)
Agua destilada	0.042
Agua filtrada	0.6
c/Nz Testigo A (+)	2.3
c/Nz Testigo B (+)	3.2
c/Nz Testigo D (+)	2.54
s/Nz V-3 C	0.88
s/Nz Americano C	0.93
s/Nz FM-73 B	0.905
s/Nz Solución Jensen A	0.835
s/Nz Solución Jensen B	0.88
s/Nz Solución Jensen C	0.7
c/Nz Solución Jensen A	1.75
c/Nz Solución Jensen B	1.9
c/Nz Solución Jensen C	1.96

5.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

- El cacahuete es una leguminosa que por sus propiedades nutricionales y demanda a nivel mundial, ofrece una alternativa para aumentar los ingresos a nivel nacional por concepto de exportación potencial. Así mismo este fruto al ser originario de América es bien aceptado por el pueblo Mexicano por lo que la difusión y orientación sobre su valor alimenticio probablemente aumentaría su consumo ya que este producto no presenta el problema de adaptación del pueblo Mexicano.
- En México existen climas tropicales y subtropicales y extensas zonas con suelos arenosos, por lo que es viable aumentar la superficie a cultivar con cacahuete.
- Respecto a la interacción Rhizobium-Arachis, aun cuando el cacahuete nodula promiscuamente con Rhizobium del grupo del caupí, la bibliografía revisada indica que esta asociación presenta las mismas particularidades de otras leguminosas y que la optimización de la fijación de nitrógeno en este sistema se logra con el uso de simbiontes compatibles. Que hay cepas de Rhizobium y cultivares de Arachis que dan lugar a asociaciones más eficientes y que estas son influenciadas por el medio ambiente. De este modo para mejorar la producción de cacahuete es necesaria la inoculación. El beneficio de la inoculación solo se alcanzará a través de la selección de cepas y cultivares, la evaluación de competencia de las cepas y la evaluación de la tolerancia de la bacteria y de la leguminosa a condiciones adversas del suelo.
- Los experimentos de invernadero son muy útiles en la selección de cepas y cultivares. Pero la recomendación a nivel agrícola

debe basarse también en experimentos llevados a cabo en el campo.

Las determinaciones de masa nodular y actividad de la nitrogenasa no siempre se correlacionan con el contenido total de nitrógeno o con el rendimiento de follaje y grano, ya que esto depende del tiempo al que se haga la determinación y de las condiciones ambientales. Algunos investigadores consideran como el mejor parámetro el rendimiento final que es el índice de nitrógeno total acumulado.

- Respecto a la colección de cepas, desafortunadamente este objetivo no se alcanzó, sin haber podido encontrar las causas que bloquearon la nodulación en los experimentos realizados. Por lo que al no poder generar una conclusión se considera importante incluir las observaciones de Kremer respecto a estudios en cacahuete.

En ensayos de infección en planta en bolsas se deben tomar precauciones ya que la carencia de nodulación es un hecho frecuente, lo cual parece relacionarse con la forma particular de infección.

La mayoría de las leguminosas son infectadas por Rhizobium a través de numerosos filamentos radiculares que se desarrollan en todo el sistema radicular. En tanto que el cacahuete es infectado solo en la base o junta o unión del pelo radicular. Esta localización quizá requiera de un periodo mayor de sobrevivencia de Rhizobium debido a que el tiempo para que ocurra la infección es mayor.

- Un número reducido de rhizobia en el inóculo determina que estos desaparezcan antes de que alcancen el sitio específico de infección.

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

Algunas variedades de cacahuate no secretan exudados radiculares que estimulen la multiplicación de los rhizobia inoculados, lo que conduce al fracaso de la nodulación indicando que las cepas que promueven la nodulación temprana dan lugar a simbiosis más eficientes, etc.

Esta sugerencia concuerda en parte con la observación de Nambiar (1982), que indica que el cacahuate para nodular requiere de una población de rhizobia de 10^7 células/semilla, etc.

6.- BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Alexander, M. (1980).
Introducción a la Microbiología del suelo.
2a. Edición en Inglés. Libros y Editoriales, S.A.
- 2.- Anuario Estadístico de la Cosecha de Cacahuate en la República Mexicana. (1979-1980).
SARH-DGEA.
- 3.- Ayala, B. Luis y Velasquez L. (1978).
Evaluación agronómica de once cepas de Rhizobium sp inoculadas en Maní (Arachis hypogaea), cultivado en suelos de los llanos orientales de Venezuela.
IX Reunion Lationamericana sobre Rhizobium México, pp. 31-44.
- 4.- Bergey's. (1984).
Manual of Systematic Bacteriology.
Ed. Williams and Wilkins
Vol. I.
- 5.- Boletín Trimestral de Estadísticas de la F.A.O., (1988).
Vol. 4
- 6.- Boletín Trimestral de Estadísticas de la F.A.O., (1989).
Vol. 2
- 7.- Burton, J. C. (1975)
Pragmatic aspects of the Rhizobium/leguminous plant association. In Proc. First Internat. Symp. Nitrogen Fixation, Vol. 2. Ed. W. E. Newton and C. J. Nyman.
Washington State Univ. Press, Pullman, W. A., USA.
- 8.- Ciclos de Cultivo. (1986).
Biblioteca del INIA. SARH, México.
- 9.- Considine, D. M. (1982).
Nuts.
Food and Food Production Encyclopedia.
Ed. Van Nostrand Reinhold Company, Inc., N. Y., 1982; pp 898
- 10.- Chesney, H. A. D. (1975).
Fertilizer studies with groundnuts on the brown sands of Guyana. Effect of nitrogen, inoculum, magnesium, and fritted micronutrients.
Agronomy Journal Vol. 67 pp 6-10.
- 11.- Dakora, F. D. y colaboradores (1987).
Assessment of N₂ fixation in groundnut (Arachis hypogaea L) and cowpea (Vigna unguiculata L Walp) and their relative N₂ contribution to succeeding maize crop in Northern Ghana.
MIRCEN Journal, Vol. 3, pp 389- 399.

- 12.- Dart, P. J. (1975).
Legume root nodule initiation and development. In the development and function of roots. Ed. J. G. Torrey and D. T. Clarkson.
Academic Press, London, England. pp 487-506
- 13.- Dart, P. J. (1974)
The infection process. In the Biology of Nitrogen Fixation. Ed. Quispel, A., Amsterdam: North Holland Publ. Co., 381-429
- 14.- Date, R. A. (1970). Microbiological problems in the inoculation and nodulation of legumes Plant and Soil. Vol. 32 pp 703-725.
- 15.- Gillier, P. (1970).
El cacahuete o mani.
Editorial Blume, España. pp 47-85.
- 16.- Gorbert, D. W. & Burton, J. C. (1979).
Crop Sci. 19, 727-728.
- 17.- Graham, P. H. (1982).
Plant factors affecting symbiotic nitrogen fixation in legumes. In Biological Nitrogen Fixation Technology for tropical Agriculture. Ed. Graham, P. H. & Harris, S. C. CIAT. Cali, Colombia. pp 27-34.
- 18.- Graham, R. A. y Donawa Alfred L. (1982).
Greenhouse and field evaluation of Rhizobium strains nodulating groundnut (Arachis hypogaea L.). Trop. Agric. (Trinidad) Vol. 59 No. 3 Julio 1982, pp. 254-256.
- 19.- Graham, R. A. and Donawa, A. L. (1981).
Effect of soil pH and inoculum rate on shoot weight, nitrogenase activity and competitive nodulation of groundnut (Arachis hypogaea L.).
Trop. Agric. (Trinidad) Vol. 58, No.4, Octubre 1981, pp 337-340.
- 20.- Groundnuts. (1987).
Encyclopedia of Chemical Technology, Vol 14; pp 122.
- 21.- Guia para cultivar cacahuete de temporal en las huastecas. (1984).
SARH
Folleto para productores, Número 9.
- 22.- Hadad, M. A., Luynachan, T. E. y Musa, M. M. (1982).
Inoculation Trials on groundnut (Arachis hypogaea) in Sudan. In B.N.F. Technology for tropical Agriculture. Ed. Graham P. H. & Harris, S. C.; CIAT. Cali, Colombia. pp 249-256.
- 23.- Ham, G. E., Lawn y Brun, W. A. (1976).
Influence of inoculation, nitrogen fertilizers and photosynthetic source-sink manipulations on field grown soybeans. In Symbiotic nitrogen fixation in plants. Ed. P. S. Nutman. Cambridge Univ. Press. Cambridge. England. pp. 239-253.

24. - Ham, G. E. (1980).
Inoculation of legumes with Rhizobium in competition with naturalized strains in: Nitrogen fixation W. E. and W. H. Orme Johnson (Eds) Univ. Park Press, Baltimore, M.D., U.S.A. Vol. 2, pp 131-138.
25. - Hardy, R. W. F. y Havelka, U. D. (1976). Photosynthate as a major factor limiting nitrogen fixation by field-grown legumes with emphasis on soybeans. In Symbiotic nitrogen fixation in plants, Ed. P. S. Nutman. Cambridge Univ. Press. Cambridge, England. pp. 421-439.
26. - Hedge, S. V. (1982).
Field responses to Rhizobium inoculation in Arachis hypogaea, Vigna spp and Dolichos spp in India.
In: BNF technology for tropical agriculture. Ed. Graham P. H. & Harris S. C.: CIAT; Cali, Colombia. pp 257-264.
27. - Joshi, P. K. and Kulkarni, J. H. (1984).
Inoculated groundnut to produce more. Indian Farming. Vol. 34 pp 7-8.
28. - Kremer, R. J. and Peterson, H. L. (1982).
Insulation, selection and evaluation of Rhizobium under controlled conditions. Soil Sci Plant Anal. Vol 13 (9), pp 749-774.
29. - Labandera, C. A. and Vincent, J. M. (1975).
Competition between an introduced strain and native Uruguayan strains of R. Trifolii. Plant and soil. Vol. 42, pp 327-347.
30. - Mateo, B. J. Ma. (1981)
Leguminosas de Grano
Salvat Editores, S.A.
México Primera edición, pp 451-458
31. - Nambiar, P. T. C. y Dart, P. J. (1980).
Studies on nitrogen fixation by groundnut at ICRISAT. In Proceedings of International Peanut Workshop. ICRISAT, Patancheru. India. pp. 110-124.
32. - Nambiar, P. T. C. (1985).
Response of groundnut (Arachis hypogaea L.). To Rhizobium inoculation in the field: problems and prospects.
Mircen Journal 1: 293-309.
33. - Nambiar, P. T. C.; Dart, P. J.; Nigam, S. N. y Gibbons, R. W. (1982).
Genetic Manipulation of Nodulation in Groundnut. In Biological Nitrogen Fixation Technology for tropical Agriculture. Ed. Graham, P. H. & Harris, S. C. CIAT; Cali, Colombia. pp 257-264.
34. - Nambiar, P. I. C. y Dart, P. J. (1983).
Factors influencing nitrogenase activity (acetylene reduction) by root nodules of groundnut, Arachis hypogaea L.
Peanut Science Vol. 10, pp 26-29.

35. - Nambiar, P. J. y colaboradores (1982).
Response of groundnut (*Arachis hypogaea*) to inoculation. In
BNF Technology for tropical Agriculture Ed. Graham, P. H. &
Harris, S. C. CIAT; Cali, Colombia. pp 241-248.
36. - Nambiar, P. T. C. y colaboradores (1984).
Response of groundnut (*Arachis hypogaea* L) to *Rhizobium*
inoculation. *Oleagineux*, Vol. 39, pp 149-155.
37. - Panero, S. M. (1987).
Anteproyecto de Norma para crema de cacahuete envasada.
(Reporte de trabajo en el campo profesional) pp 14-17.
Universidad Iberoamericana. México, D. F.
38. - Pate, J.S. (1977). Functional biology of dinitrogen fixation
by legumes. In *A Treatise on dinitrogen fixation*.
III. Biology. Ed. R. W. F. Hardy y W. S. Silver. Wiley.
Interscience. New York, N. Y., USA. pp. 473-517.
39. - Pérez, S. R. y Vidar, C. E. (1980).
Selecao de estirpes de *Rhizobium japonicum* en cultivares de
soya (*Glycine max* L Merrill).
Agronomía Salrevgrande Porto Alegre 15 (2), pp 205 -210.
40. - Prabhaskar, M. R. (1979).
Potential of rhizobial inoculation of fieldbean (*Lablab*
purpureus (L. Sweet) under rainfed farming in a mixed
cropping system with ragi (*Eleusine coracana* (L.) Gaertn.).
Thesis. Univ. of Agric. Sci., Bangalore, India.
41. - Ratner, E. I. y colaboradores. (1979).
Some characteristics of symbiotic nitrogen fixation, yield,
protein and oil accumulation in irrigated peanuts (*Arachis*
hypogaea L). *Planted Soil*. Vol. 51, pp 373-386.
42. - Schiffmann, J. and Y. Alper (1968).
Inoculation of peanuts by application of *Rhizobium*
suspension into the planting furrows. *Expt. Agric.* Vol.4 pp
209-226.
43. - Stout, B.A. y colaboradores (1980).
Energía para la agricultura mundial.
Colección FAO Agricultura. Vol. 7, pp 136 - 159
44. - Vázquez, M (1990).
Conferencia. Genes simbióticos y su regulación. Interacción
planta-bacteria, CIFN, Cuernavaca, Mor.
45. - Vincent, J. M. (1965).
Environmental factors in the fixation of nitrogen by the
legumes. In *Soil Nitrogen*. (Eds. W. V. Bartholomew and F. D.
Clark). Amer. Soc. Agron. Monography, 10 Madison. Wisconsin,
USA.
46. - Weaver, R. W. and Frederick, L. R. (1974).
Effect on inoculum rate on competitive nodulation of *Glycine*
max. (L.) Merrill. 2. Field studies. *Agron. J.* 66, 233, 236.

47. - Woodroof, J. G. (1973).
Producing, Processing Products.
The AVI Publishing Co., Wesport, Connecticut.
48. - Wynne, J. C., Elkan, G. H. & Schneeweiss, T. J. (1980).
Increasing nitrogen fixation of the groundnut by strain and
host selection. In Proceedings of International Peanut
Workshop, ICRISAT, Patancheru, India. pp. 95-109.
49. - Wynne, J. C., Ball, G.H., Elkan, T. G., Isleib and T. J.
Schneeweiss (1982).
Host-Plant factors affecting nitrogen fixation of the peanut.
In Biological Nitrogen Fixation Technology for Tropical
Agriculture. Ed. Graham P. H. & Harris S. C. CIAT; Cali,
Colombia. pp 254-258.