

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA

COLECCION Y OBSERVACION PRELIMINAR DE CEPAS NATIVAS DE
Rhizobium spp. AISLADAS DE PLANTAS DE MANI (Arachis hypogaea)
DESARROLLADAS EN DIFERENTES SUELOS DE GUATEMALA.

T E S I S

Presentada a la Honorable Junta Directiva
de la Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala

P O R

WALTER SOEL GARCIA CASTRO

En el acto de su investidura como

INGENIERO AGRONOMO

En el grado académico de

LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

GUATEMALA, OCTUBRE DE 1985

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

D.L.
01
T(52)
C.3

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA

RECTOR

DR. EDUARDO MEYER MALDONADO

JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO
VOCAL I
VOCAL II
VOCAL III
VOCAL IV
VOCAL V
SECRETARIO

Ing. Agr. César Castañeda
Ing. Agr. Oscar Leiva
Ing. Agr. Jorge Sandoval
Ing. Agr. Rolando Lara
P.A. Leopoldo Jordan
P.A. Axel Gómez
Ing. Agr. Rodolfo Albizúrez

TRIBUNAL QUE PRACTICO
EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO
EXAMINADOR
EXAMINADOR
EXAMINADOR
SECRETARIO

Ing. Agr. César Castañeda
Ing. Agr. Gustavo Méndez
Ing. Agr. Oscar Flohr
Ing. Agr. Edíl Rodríguez
Ing. Agr. Rodolfo Albizúrez



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia	
Asunto	
	

2 de octubre de 1985

Ingeniero Agrónomo
César Castañeda
Decano Fac. Agronomía

Señor Decano:

Atentamente me dirijo a usted para hacer de su conocimiento que en esta fecha he finalizado la asesoría del trabajo de investigación que el estudiante Walter Soel García Castro, con carnet No. 79-10044, presentará como tesis de grado para su graduación como Ingeniero Agrónomo, el trabajo se titula: "COLECCION Y OBSERVACION PRELIMINAR DE CEPAS NATIVAS DE Rhizobium spp. AISLADAS DE PLANTAS DE MANI (A-rachis hypogaea) DESARROLLADAS EN DIFERENTES SUELOS DE GUATEMALA".

Considero que la misma llena la calidad técnica y científica que la Facultad exige, por lo anterior estimo que el estudiante García Castro ha cumplido con la obligación adquirida y sugiero que el trabajo sea aprobado como tesis de grado, en consecuencia solicito a usted su consentimiento para su publicación como tal.

Sin otro particular me suscribo de usted,

Deferentemente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"


Ing. Agr. Rolando G. Aguilera M.
ASESOR

cc. archivo

RA/nlzm

Guatemala, Octubre de 1985.

Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador

De conformidad a lo que establece la ley orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de Tesis, titulado:

"COLECCION Y OBSERVACION PRELIMINAR DE CEPAS NATIVAS DE *Rhizobium spp.* AISLADAS DE PLANTAS DE MANI (*Arachis hypogaea*) DESARROLLADAS EN DIFERENTES SUELOS DE GUATEMALA".

Presentándolo como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en el grado académico de Licenciado en Ciencias Agrícolas.

Deferentemente,


Prof. Walter Joel García Castro

ACTO Y TESIS QUE DEDICO

A DIOS

A MI PADRE:

Coronel de Infantería
Santiago Ernesto García Lima.

En su memoria . . . aunque no veas el fruto
de tu siembra . . . llevo la savia de tus
consejos . . . para ser tan íntegro como tú.

A MI MADRE:

Berta Augusta Castro viuda de García.

A MIS HERMANOS:

Nery Humberto
Cristóbal Ronaldo
Irma Violeta
Héctor Santiago
Bairo René Francisco
William Waldemar
Flor de María

A MIS ABUELITOS:

Celestino Castro en memoria.
Augustina González viuda de Castro.
Francisco García en memoria.
Angela Lima en memoria.

A MIS CUÑADAS Y CUÑADOS EN ESPECIAL A:

Zoraida Yasmín Bosch de García en memoria.

A MIS SOBRINOS:

Brenda Lorena
Estuardo René
Edgar Javier
Zoraida Zvesda Yasmín

A

Edna Lorena Zamora Mazariegos

A MIS FAMILIARES

AL

Ing. Agr. Mario Roberto Fuentes López
y familia.
Lic. Alfredo Esaú Juárez Arellano
y familia.

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS:

Ing. Agr. Inf. Francisco Waldemar Salguero
Folgar en memoria.
Ing. Agr. Inf. José Guillermo Maldonado Vera.
Ing. Agr. Inf. Edgar Milton González Figueroa.
Ing. Agr. Inf. Fredy Alberto Ibañez Camey.
Ing. Agr. Inf. Pedro Angel León Pérez.
Ing. Agr. Inf. Carlos Enrique López Gódínez.
Ing. Agr. Inf. Juan Gabriel Chalí.
Ing. Agr. Inf. Luis Fernando Zelaya Pineda.
Ing. Agr. Inf. Gustavo Adolfo Madrid Herrera.
Ing. Agr. Inf. Sergio Leonel Cardona Barrios
Ing. Agr. Inf. Rudy Geovanni Del Cid Asturias.
Ing. Agr. Virgilio César Godínez Godínez.
Ing. Agr. Víctor Manuel Monroy Escobar.
Ing. Agr. Jorge Alberto Dubón García.

A MI AMIGO:

Víctor Manuel Coronado Eguizabal.

TESIS QUE DEDICO

- A JUTIAPA
- A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
- A LA FACULTAD DE AGRONOMIA
- A LA GLORIOSA, CENTENARIA E INMORTAL ESCUELA NORMAL CENTRAL PARA VARONES.
- A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE HAYAN COLABORADO PARA LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

AGRADECIMIENTO

A cada uno de los miembros de mi familia por el incalculable apoyo brindado en todo momento en especial a mi madre: Berta Augusta Castro viuda de García.

A mi asesor Ing. Agr. Rolando Gustavo Aguilera Mejía por su interés y dedicación en la asesoría y colaboración para el desarrollo de ésta tesis.

Al personal de bodega de campo, invernadero, laboratorio de Microbiología de la Facultad de Agronomía por su desinteresada colaboración en especial al laboratorista Señor Juan José Silva.

A mis amigos: Ing. Agr. Inf. Sergio Leonel Cardona Barrios, Ing. Agr. Inf. Rudy Geovanni Del Cid Asturias, Ing. Agr. Mario Roberto Fuentes López, Lic. Alfredo Esaú Juárez Arellano por su colaboración.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	3
III. HIPOTESIS PRELIMINAR	5
IV. REVISION DE LITERATURA	7
A. Generalidades	7
B. Fijación biológica del nitrógeno atmosférico	7
C. Nodulación	7
D. Selectividad — especificidad	8
E. Algunos estudios de selectividad y eficiencia realizados en maní.	10
V. MATERIALES Y METODOLOGIA	13
A. Materiales	13
1. De campo	13
2. De invernadero	13
3. De laboratorio	13
B. Metodología	14
1. Selección de suelos, su recolección y análisis	14
2. Método de siembra del maní	16
3. Método de observación preliminar del comportamiento de las cepas colectadas en cada suelo	17
4. Método de aislamiento y purificación del Rhizobium	17
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	19
VII. CONCLUSIONES	27
VIII. RECOMENDACIONES	29
IX. BIBLIOGRAFIA	31
X. APENDICE	35

INDICE DE CUADROS

	Página
En Resultados y Discusión:	
Cuadro No. 1: Número de Orden, Lugar e Identificación futura de las cepas nativas colectadas	19
Cuadro No. 2: Promedio de valores para 2 plantas de maní de las variables: peso de materia seca de plantas; número, tamaño $\phi > 2$ mm., peso de materia verde de nódulos	22
Cuadro No. 3: Porcentajes de los valores promedio de las variables: peso de materia seca de plantas; número, tamaño $\phi > 2$ mm., peso de materia verde de nódulos	23
Cuadro No. 4: Cuadro de Agrupación de frecuencias de comportamiento de los datos tomados al maní dentro de una calificación porcentual de rendimiento de deficiente a bueno.	25
En Apéndice:	
Cuadro No. 1: Descripción de características relevantes de manejo de las áreas muestreadas.	37
Cuadro No. 2: Resultados de los análisis físicos y químicos del suelo	38
Cuadro No. 3: Peso de materia seca de plantas (PMS) (g.)	39
Cuadro No. 4: Número de Nódulos (No.)	39
Cuadro No. 5: Tamaño de Nódulos de diámetro mayor que 2 mm. (No.)	39
Cuadro No. 6: Peso de materia verde de los nódulos (g.)	40
Cuadro No. 7: Altura de Plantas (Cms.)	40
Cuadro No. 8: Peso de materia verde de plantas (PMV) (g.)	40
Cuadro No. 9: Tamaño de Nódulos de diámetro menor e igual que 2 mm. (No.)	41
Cuadro No. 10: Localización de los Nódulos en la raíz principal (No.)	41
Cuadro No. 11: Promedio de valores de las variables: altura, peso de materia verde de plantas; tamaño de diámetro menor e igual que 2 mm., localización en la raíz principal de Nódulos.	52

RESUMEN

De la gran diversidad de plantas que existen en la superficie terrestre las que pertenecen a la familia Leguminosa entre otras, conllevan inherentes el aspecto denominado "Fijación de nitrógeno atmosférico" llevado a cabo por las bacterias del género *Rhizobium* que liberan a éstas plantas del consumo artificial de nitrógeno facilitando que éste producto pueda ser utilizado por plantas que no son factibles de obtenerlo por simbiosis.

El cultivo de maní (*Arachis hypogaea*) está entre tal grupo, su importancia estriba entre otras características no menos relevantes, que es una oleaginosa utilizable como materia prima para la producción de aceites y grasas comestibles como complemento a la obtenida de la semilla de algodón.

Por ello este trabajo de investigación fue orientado a dos objetivos: uno de "Iniciar un cepario de *Rhizobium spp.* nativo para el cultivo de maní (*Arachis hypogaea*) en Guatemala", llevando consigo cierta información con el segundo objetivo: "Efectuar una observación preliminar del comportamiento de las cepas colectadas en cada suelo" en la variedad criolla: Negra Amatlán.

La obtención de las cepas nativas se llevó a cabo en cuatro fases: Gabinete, campo, invernadero y laboratorio.

En la fase de gabinete se estableció cuales son las regiones productoras de maní en el país.

En la fase de campo se recolectaron muestras de suelo de los lugares establecidos, las cuales fueron sometidas a análisis de suelo (Físico: pH, textura, densidad aparente. Y Químico: P, K, Ca, Mg), previo a la tercera fase, que la constituyó la observación preliminar del comportamiento de las cepas de *Rhizobium spp.*, llevado a cabo en el invernadero de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Las variables principales tomadas a floración fueron: peso de materia seca de plantas; número, tamaño y peso de materia verde de los nódulos.

Finalmente la última fase se desarrolló en los laboratorios de Microbiología de esa misma casa de estudios, en donde se aislaron las cepas de *Rhizobium spp.*, a partir de la nodulación que se dio en las plantas sembradas en cada suelo.

Los suelos colectados fueron 14 y de cada uno de ellos se efectuó un aislamiento, en consecuencia fueron 14 el número de cepas aisladas y purificadas, las

que se identificaron con las siglas A — GAAG y su respectivo número de orden (de 1 a 14) antes de las siglas.

La observación preliminar del comportamiento de las cepas colectadas en cada suelo, se efectuó a la floración (60 días de la siembra) considerando para tal fin el peso de materia seca de plantas; número, tamaño y peso de materia verde de nódulos.

Las plantas sembradas en el suelo procedente del municipio de San Pedro Sacatépquez del departamento de San Marcos mostró altos valores de cada una de las variables mencionadas, aspecto que se puede atribuir a una buena simbiosis entre la variedad de maní: Negra Amatitlán y el *Rhizobium spp.*, de éste suelo. Mientras que las plantas sembradas en suelos provenientes de los municipios de Catarina, San Miguel Ixtahuacan y Asunción Mita; correspondientes a los departamentos de San Marcos y Jutiapa respectivamente, manifestaron resultados totalmente contrarios; es decir bajo peso de materia seca de plantas, pocos nódulos y bajo peso de materia verde de los mismos. Siete de los suelos restantes mostraron plantas con una nodulación de, regular —bajo a regular— alto. En tres suelos provenientes del municipio de la Gomera, en el departamento de Escuintla y de San Miguel Chicaj y Rabinal en el departamento de Baja Verapaz, se presentaron buenos rendimientos de materia seca de plantas pero un peso de materia verde deficiente de nódulos, comportamiento que se supone fue causado por incorporaciones de nitrógeno inorgánico y orgánico en el cultivo anterior al maní.

Se concluye que los diferentes suelos recolectados muestran la existencia de cepas nativas de *Rhizobium spp.*, para maní y que la cepa con mayor potencial futuro podría ser la colectada de los suelos de San Pedro Sacatépquez e identificada como 6 A — GAAG.

I. INTRODUCCION

En Guatemala existen diversidad de ambientes ecológicos lo que favorece el cultivo y desarrollo natural de muchas plantas entre ellas las de la familia Leguminosae que denotan importancia ya que pueden ser aprovechadas en forma eficiente en diferentes renglones tales como: abono verde, cultivos de cobertura, rotación con otros cultivos, alimentación humana y/o animal. Dicho grupo de plantas principalmente, conllevan inherente, el aspecto denominado "Fijación de nitrógeno atmosférico" llevando a cabo por las bacterias del género *Rhizobium* y que libera a éstas plantas del consumo artificial de nitrógeno facilitando que éste producto pueda ser utilizado por plantas que no son factibles de obtenerlo pro simbiosis.

Existen casi 13,000 especies de Leguminosas capaces de establecer una asociación simbiótica con bacterias, muchas de ellas se cultivan en diversos lugares de Guatemala, el caso del cultivo de maní (*Arachis hypogaea*) que se consume en diferentes formas y es además una oleaginosa que puede utilizarse como materia prima para la producción de aceites y grasas comestibles como complemento de la obtenida de la semilla de algodón; especialmente si se toma en cuenta que a partir de 1985, el área de algodón requerida para satisfacer las necesidades de semilla de esa industria serán de alrededor de 161 miles de hectáreas, que difícilmente se podrán cultivar en el país, para satisfacer la necesidad de 30.437 miles de kilogramos de aceite y grasas vegetales. Cultivar el maní con fines de fuente de aceite comestible es una alternativa, ya que mientras una hectárea de algodón produce alrededor de 1224.72 kilogramos de semilla de los cuales se extraen 130.6 kilogramos de aceite (4.81 kilogramos de aceite por 45.36 kilogramos de semilla) una hectárea de terreno cultivada de maní produce hasta 3,497.2 kilogramos de semilla con una producción de 2,218.1 kilogramos de aceite. Demostrándose que en términos de superficie la utilización de semilla de algodón como materia prima para la producción de aceite y grasas comestibles requiere una superficie 6.6 veces mayor a la que se necesitaría si se utilizara maní. En 1974 se sembraba 560 hectáreas de maní en Guatemala con rendimiento de 1,101.6 kg./Ha. y en 1978 7,000 hectáreas con rendimiento de 3,499.2 Kg./Ha. lo cual implica no sólo un incremento grande del área sino de la tecnología de producción, dados los rendimientos unitarios por área obtenidos cuatro años después. Antes y hasta el año de 1976 el maní era consumido como golosina, pero en 1977 el maní comenzó a ser utilizado como materia prima por la industria de aceites comestibles, aunque por muy poco tiempo pues en 1978 la producción comercial se destinó a la exportación por problemas básicamente de política económica de costo, fijado por el Ministerio de Economía.

El maní comparado con el algodón, puede atenderse con un programa de fumigaciones menos riguroso que este cultivo, siendo además una leguminosa que en la

rotación con cultivos tiende a mejorar el suelo, ocupa menos mano de obra y se puede mecanizar (13).

Uno de los aspectos relevantes de su cultivo y del cual se citó al principio de ésta introducción es la capacidad de simbiosis con *Rhizobium*, lo que ofrece a los agricultores que cultivan ésta planta, una disminución en los costos de nitrógeno químico y el beneficio de evitar alterar las condiciones de suelo y fuentes de agua cercanas a sus áreas de trabajo (20). Para que tal simbiosis sea lo óptimo se requiere la utilización de cepas de *Rhizobium* selectivas, específicas y eficientes, aún mejor si éstas se pueden encontrar en un cepario nacional, aunque ésto último implica la necesidad de un trabajo coordinado entre productores y centros de investigación que apoyen programas de estudio de efecto práctico y rápido y que indudablemente apoyen al país en la urgente necesidad de incrementar las producciones.

Finalmente es de subrayar la importancia que por ser una relación simbiótica debe ponerse atención con los estudios referidos a ambos socios para que el aprovechamiento sea óptimo.

II. OBJETIVOS

1. Iniciar un cepario de Rhizobium spp., nativo para el cultivo de maní en Guatemala.
2. Efectuar una observación preliminar del comportamiento de las cepas colectadas en cada suelo.

III. HIPOTESIS PRELIMINAR

1. Las cepas nativas de Rhizobium spp., colectadas fijarán igual cantidad de N_2 en los suelos sembrados con maní de la variedad Negra Amatlán.

IV. REVISION DE LITERATURA

A. Generalidades:

Ha pasado casi un siglo desde que HELLRIEGEL Y Wilfarth (5) demostraron que en los nódulos de las raíces de las leguminosas tienen lugar la fijación biológica de nitrógeno atmosférico. Hoy ese proceso está considerado como el segundo en importancia, después de la fotosíntesis; entre los procesos bioquímicos de las plantas. La fijación biológica del nitrógeno atmosférico de la forma simbiótica se define: como la conversión del nitrógeno atmosférico por acción de organismos vivos (bacterias del género *Rhizobium* entre otros) en compuestos nitrogenados que las plantas (leguminosas entre otras) pueden utilizar como fuentes de nitrógeno (1, 24). Es importante citar que existen varias formas de fijación biológica de nitrógeno atmosférico empero la simbiosis de los nódulos bacterianos de las raíces de las leguminosas es probablemente la forma más conocida.

B. Fijación biológica del nitrógeno atmosférico:

El nitrógeno solamente forma compuestos (generalmente amoníaco) bajo la influencia de fuertes descargas eléctricas como los rayos solares o requiriendo altos niveles de energía en presencia de un catalizador de platino como el método industrial que hoy es básico para la manufactura de los fertilizantes nitrogenados (17). Pues bien los bacteroides presentes en los nódulos toman el nitrógeno atmosférico y por acción de la nitrogenasa, en una cadena de reacción enzimática de transporte de electrones lo fija en forma de amoníaco, forma en la cual puede ser utilizado por la planta (24). La nitrogenasa es una enzima compuesta por proteínas: —Componente I: Hierro y Molibdeno con peso molecular de 220,000 —Componente II: Hierro con peso molecular de 55,000; ambos componentes Hierro y Molibdeno son sensibles al oxígeno; el microorganismo produce sustancias que desencadenan reacciones especiales que protegen a la enzima del oxígeno; si éstos son de naturaleza aerobia (6). El género *Rhizobium* es aerobio y las bacterias de éste género producen una sustancia de naturaleza proteínica para evitar que el oxígeno llegue a la nitrogenasa y la desnaturalice, ésta sustancia es la Laeghmoglobina y funciona como transportadora de electrones y almacenadora de oxígeno. La nitrogenasa es una enzima reductora: reduce el nitrógeno elemental a amoníaco, el 2H a H_2 y el acetileno a etileno.

C. Nodulación:

El huésped o planta es una factor que determina las características de la nodulación y por lo tanto afecta la fijación simbiótica del nitrógeno en las leguminosas (11). En el nódulo se diferencian áreas, entre ellas: —corteza externa —área

meristemática— tejido vascular —área de bacteroide central o zona interna que fija el nitrógeno (24). La zona del bacteroide central tiene un color rosado cuando es activa, coloración proporcionada por la Laeghmoglobina, proteína intercambiadora de gases muy importante en el proceso de fijación del nitrógeno atmosférico.

Algunos huéspedes controlan y afectan con sus factores (sustancias tóxicas de semillas, temperatura, selección de cepa, especificidad de cepa) la iniciación de la nodulación en ellas (11). Ahora bien ya dada la nodulación se puede observar su desarrollo y función; y ésta es eficiente si: los nódulos se localizan en las raíces primarias, si son grandes, de color rojo o rosado y de superficie áspera; deficiente si los nódulos se localizan en las raíces secundarias, son pequeños, de color rosado claro o blanco y superficie lisa (2, 16, 19, 25).

Otros factores que pueden afectar a la nodulación están estrechamente vinculados a los aspectos químicos y físicos del suelo tales como: pH, humedad, temperatura y nivel de elementos presentes. Algunos no son fácilmente controlables por el hombre pero otros sí; tal es el caso de la humedad y el nivel de elementos químicos, observándose que pueden ser dados por éste a la planta. Esto último tiene mucha importancia en lo que se relaciona a la presencia o ausencia de nitrógeno así Graham, Scott y Aldrich (11, 22) mencionan que la presencia de éste elemento en el suelo hace perder la actividad de formación de los nódulos en la zona de formación de los mismos antes de la siembra.

D. Selectividad - especificidad:

Muchas de las bacterias de leguminosas que se encuentran presentes en forma natural en los suelos cultivados no producen una fijación de nitrógeno elevada en ciertas leguminosas pero en otras sí; existen razas con diferencias en su eficiencia fijadora, empero la planta también es un factor que determina la actividad especialmente en cuanto a la nodulación a través de su genes que seleccionan la raza de bacteria en la rizósfera y el grado de fijación de la simbiosis (1, 9). De allí que se denotan los términos: —Selectividad —Especificidad. Selectividad se refiere a la interrelación entre bacteria y planta (leguminosa) en donde la planta, selecciona una raza dada de bacteria y la raza selecciona una leguminosa. Así pues se han establecido grupos de leguminosas asociadas con bacterias del género *Rhizobium* de especie selecta, siendo éstas (7, 8, 9):

1.	Grupo de la Alfalfa	<u>Rhizobium</u> <u>meliloti</u>
2.	Grupo del Trébol Rojo	<u>Rhizobium</u> <u>trifolii</u>
3.	Grupo del Frijol	<u>Rhizobium</u> <u>phaseoli</u>
4.	Grupo de los Lupinos	<u>Rhizobium</u> <u>lupini</u>
5.	Grupo de la Arveja	<u>Rhizobium</u> <u>leguminosarum</u>
6.	Grupo de la Soya	<u>Rhizobium</u> <u>japonicum</u>
7.	Grupo de los Chícharos	<u>Rhizobium</u> <u>spp.</u>

Los rizobiólogos han estudiado que existe cierta capacidad de cada especie de *Rhizobium* en nodular a uno o varios géneros de leguminosas, de ello resulta el término Especificidad que conlleva aspectos genéticos, pues una raza de *Rhizobium* puede nodular eficientemente a una especie X variedad Z determinada de un grupo, pero no a otra variedad Y de esa misma especie X y de ese mismo grupo (1). O sea que el juego que se establezca entre el genotipo del huésped y las cepas de *Rhizobium* debe ser reconocido como acordes.

Ya como conjunto Selectividad — Especificidad podemos establecer su coherencia primeramente en la habilidad de las leguminosas de seleccionar particularmente la cepa de *Rhizobium* de la población de la rizósfera y la respuesta de ésta cepa al huésped es debido a factores característicos de ambos para luego ser eficiente la fijación del nitrógeno atmosférico como producto de la especificidad de tal simbiosis (11). La mayoría de las leguminosas tropicales nodulan con las especies nativas de *Rhizobium* del suelo (selectividad) pero la actividad de fijación biológica del nitrógeno atmosférico subsecuente podría ser demasiado baja (especificidad). Así pues la nodulación por sí sola no quiere decir que el nitrógeno se fije a una tasa aprovechable por las plantas, pues se ha observado por Graham nodulación sin actividad fijadora (11). Entonces podemos observar que uno de los aspectos de la simbiosis leguminosa x *Rhizobio* que más discusión ha hecho surgir en los últimos años es el de la especificidad de tales combinaciones.

Wilson (1940) (10) presentó evidencia de que la planta patrón determina de un modo importante la eficiencia del sistema simbiótico, Robinson (1969) tras obtener aislamientos de nódulos del trébol rojo y subterráneo probó su compatibilidad con ambas plantas, encontrando que cada especie — patrón nodulaba más rápido y eficientemente cuando se les inoculaba con un aislamiento de las raíces de esa misma especie.

Del mismo modo, Caldwell y Vest (1968) (10) trabajando con soya, demostraron la influencia que los genotipos ejercen sobre la selección-especificidad de razas de R. japonicum en la población de un suelo. Seetin y Barnes (1977) al probar 76 clones de

alfalfa en cuanto a morfología radicular, nodulación y fijación del nitrógeno atmosférico evidenciaron que los factores genéticos en la planta-patrón determinaban que raza de bacteria fijadora sería efectiva.

En otros estudios se ha demostrado que no es solo la planta patrón la que determina la eficiencia de la relación, y hay que hacer notar que por ser una simbiosis el socio microorganismo también juega papel importante; así la competitividad de las razas para producir nodulación es también un hecho controvertido; Brockwell y Katznelson (1976) (10) probaron las propiedades simbióticas de 25 aislamientos de *R. trifolii* frente a 10 especies de trifolium; todas las combinaciones planta x *R. trifolii* formaban nódulos pero la efectividad simbiótica variaba considerablemente ya que existía un cierto grado de especificidad en la eficiencia de la fijación en todas las especies excepto en *T. repens*. Los autores concluyen que en presencia de una población heterogénea en el suelo de *R. trifolii*, los tréboles tienden a ser nodulados por las razas más eficientes. Por el contrario en otros casos razas de *Rhizobium* con tiempos de generación similares, competían mejor entre ellas en la colonización de la superficie radicular, una raza de crecimiento rápido en asociación con una de crecimiento lento, por consiguiente la capacidad para dominar a un competidor semejante por la colonización de la raíz era una característica de la raza y no venía afectada por la planta (27). Ningún rizobio parece capaz de funcionar con total eficiencia en todos los patrones que puede nodular, y desde luego, ningún patrón es completamente compatible en todas las razas de rizobio. Por tanto hay siempre un cierto grado de especificidad entre el rizobio en la planta, lo que determina el número de pelos radiculares invadidos y la proporción de éstas infecciones que dan lugar a nódulos.

E. Algunos estudios de selectividad y eficiencia realizados en maní:

El maní (*Arachis hypogaea*) es una leguminosa que puede ser nodulada por un rango amplio de cepas de *Rhizobium*, bajo un gran número de condiciones de campo, y según Döbereiner y Campelo (1977) (8) sugieren que un 30o/o de *Rhizobium* del grupo mencionado (*Rhizobium spp.*; grupo de los Chicharos) nodulan efectivamente y el resto es inefectivo (7, 8, 9, 11).

En experimentos reportados por Burton (8) solo dos de diez legumbres tropicales establecidas con aislamiento forzado tienen una simbiosis eficiente como el maní. López y otros observaron que 3 de 10 *Rhizobium* nodularon con el maní en las jarras de Leonard y demostraron la utilidad de dichas jarras para denotar la capacidad del *Rhizobium spp.*, en fijar nitrógeno (15, 26).

Dadarwal y otros demostraron (8) que la rizobia aislada de cinco especies

espontáneas del género Arachis (A. duranensis, A. prustrata, A. villosa, A. glaberata, A. marginata) nodularon a la especie bypogaea y además se observó que la gran mayoría de plantas tienen buena nodulación natural y abundante (8). La producción de maní reportada en Nigeria es de 5,600 Kg./Ha. en terrenos ligeros aunque el promedio brasileño es de 1,308 Kg./Ha, y en la India 652 Kg./Ha.; ésto sugiere que el maní nodulado efectivamente puede fijar una cantidad apreciable de nitrógeno estimado de 240 Kg./Ha. Ratner y otros (1979) (18) mencionan que se alcanza hasta 222 Kg./Ha.; aunque la cantidad promedio de nitrógeno fijado según Erdman (9) es de 42 Kg./Ha. Dichos resultados están relacionados sin duda alguna a la formación de nódulos, observándose que los datos más altos de fijación de nitrógeno corresponden a suelos aptos para el cultivo (características físicas: textura, pH, densidad; características químicas: P,K,Ca,Mg; acordes al cultivo) en donde se forman un promedio de 84 nódulos/planta y en áreas no aptas conlleva la formación de 22 nódulos/planta como promedio para los valores más bajos de fijación de nitrógeno atmosférico (8). Döbereiner (8) denota una resistencia genética de las plantas a nodular, y ésta resistencia de las plantas a la infección por Rhizobium específicos es gobernada por genes recesivos, llamados "Genes recesivos que controlan la no nodulación", lo que controlan la no nodulación", lo que conlleva que diferentes juegos cromosómicos afectan la nodulación en diferentes cultivares y en diferentes direcciones (11). La significativa variación en nodulación, actividad de la nitrogenasa, crecimiento, producción entre los diferentes cultivares de maní; se debe principalmente a la relación genotípica del cultivo con Rhizobium spp. (11). Así pues cultivares de maní del tipo Virginia (sp. bypogaea variedad bypogaea) son mejor noduladas, fijan más N₂, la producción es mayor que las del tipo Valencia (sp. fastigiata variedad fastigiata) y el tipo Español (sp. fastigiata variedad vulgaris) y esto es debido a que los cultivares del Arachis hypogaea variedad bypogaea forman más nódulos en la región del hipocotilo que las variedades fastigiata y vulgaris. Los nódulos en el hipocotilo de la variedad bypogaea representan un 13.40/o del total del número de nódulos formados por la planta, mientras que los otros cultivares (variedad fastigiata y variedad vulgaris) representan de 0.50/o a 1.00/o. Este hipocotilo nodula a los 40 ó 60 días después de germinadas las semillas y solamente se desarrollan cuando el suelo alrededor del hipocotilo es húmedo.

En evaluaciones de cepas de Rhizobium por maní hechas por Wynne y otros (28) en Carolina del Norte (E.U.) (1980) usando cultivares Argentina (genotipo español) y NC 4 (genotipo Virginia) y 18 cepas de Rhizobium spp.; se pudo denotar que dichas cepas varían en su habilidad de fijar nitrógeno atmosférico, y evaluando: nodulación, actividad de la nitrogenasa, color de la planta y peso, contenido de N₂. Se concluyó que las plantas NC 4 son grandes y tienen alto contenido de N que las plantas de Argentina. En otro experimento de Ayala, en Venezuela (1974, 1978) (3, 4) se estableció la eficacia de ocho cepas de Rhizobium evaluadas en una variedad de

maní, denotando la actividad de la nitrogenasa en formar nódulos y el contenido de nitrógeno en la planta; estableciendo que las cepas de *Rhizobium* tienen efectos significativos diferentes en actividad específica de la nitrogenasa y el contenido de nitrógeno en la planta. La actividad de la nitrogenasa y el nitrógeno en la planta presentan poca correlación; ahora bien el total de la actividad de la nitrogenasa y el contenido de Laeghmoglobina en el nódulo tiene significancia y positiva correlación. El nitrato reducido es una actividad innata de los nódulos de las raíces, y parece tener un prometedor examen de comparación para evaluar la eficacia de maní-*Rhizobium*. Por otro lado en un análisis de regresión por Wynne y otros. (11) demostraron que con una simple medición del peso de hojas secas de maní se puede hacer una relación con la nodulación y fijación de nitrógeno y denotar la importancia de la fotosíntesis como aparato asimilador de fijación de maní.

Finalmente se debe subrayar que las ventajas de la inoculación de la semilla en frijoles secos y maní no están claramente establecidas y la práctica de inoculación en éstas legumbres no es usual pues no hay aumento en rendimientos (8). Diatloff y Langoford (8) en observaciones realizadas al igual que López (15) determinaron que el uso de cepas locales de *Rhizobium* por inoculación dan resultados bajos de nitrógeno fijado. Dichos resultados se debe a que la nodulación natural observadas en plantas de maní, y la fijación de nitrógeno dada por la población nativa de *Rhizobium* es eficiente, lo que contribuye en gran parte a que no haya demanda de la inoculación con cepas (8). Frecuentemente las cepas nativas tienen un aumento en la formación del nódulo y efectividad, simplemente por el aumento del pH del suelo (19). Pero es importante también establecer que cepas eficientes pueden no formar nódulos o no fijar nitrógeno atmosférico si las condiciones ambientales adversas están presentes (26).

V. MATERIALES Y METODOLOGIA

A. Materiales:

1. De campo:

- Costales
- Piochas
- Palas
- Mapa de clasificación de suelos de Simmons
- Bolsas plásticas
- Cartón y marcadores
- Vehículo

2. De invernadero:

- Semilla de maní de la variedad Negra Amatlán cosechada el 24/Diciembre/1983 en el municipio de Amatlán del departamento de Guatemala.
- Suelo recolectado (conlleva las cepas nativas)
- Bolsas plásticas de polietileno negro dimensiones 6"x 10")
- Platos de plástico
- Paletas de madera
- Pintura de aceite

3. De laboratorio:

- Medio de cultivo para Rhizobium
- Pinzas
- Azas bacteriológicas
- Tubos de ensayo
- Vidrios de reloj
- Alcohol etílico al 99o/o
- Bicloruro de mercurio al 0.1o/o acidificado
- Agua estéril
- Algodón
- Malla de gasa
- Mechero
- Bolsas de papel kraf
- Erlenmeyer
- Beakers
- Pipetas
- Autoclave
- Horno pasteur
- Cajas de petrí

- Balanza analítica
- Regla graduada

B. Metodología:

La obtención de las cepas nativas se llevó cabo en cuatro fases. El trabajo se inició con la fase de gabinete en donde se establecieron las regiones productoras de maní en el país, catorce en total.

La segunda fase fue la de campo, en ésta etapa se recolectaron muestras de suelo de los lugares seleccionados como productores de maní, las que fueron sometidas a análisis físico y químico.

Dentro de los análisis físicos se hizo: textura, pH, densidad aparente y dentro de los análisis químicos: P, K, Ca y Mg.

La tercera fase la constituyó la observación preliminar del comportamiento de las cepas de Rhizobium spp. llevada a cabo en el invernadero experimental de la Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala, Ciudad Universitaria, zona 12, Ciudad Capital; ubicada en la latitud 14°53'11", longitud 90°31'58" (16) y finalmente la última fase se desarrolló en los laboratorios de Microbiología de esa misma casa de estudios, ésta fase la constituyó el aislamiento y purificación de la bacteria del género Rhizobium spp. a partir de las plantas cultivadas en cada suelo.

1. Selección de suelos, su recolección y análisis:

Para la selección de los suelos se investigó cuales son las zonas de importancia económica del cultivo de maní efectuando una revisión de literatura al respecto.

En función de esto se mapearon los suelos existentes en cada región seleccionada con el fin de establecer el lugar de toma de la muestra (12, 13, 14, 23).

Los suelos seleccionados de la investigación, se consignan a continuación:

SUELOS SELECCIONADOS

Area	Departamento	Municipio (Punto de muestreo)	Serie de suelo	Grupo de Suelo
I Occi-	Huehuetenango	1. San Idelfonso Ixtahuacan	Sacapulas (Sa)	IIC
		2. Malacatanci	Salamá (Sl)	IIB
		3. Cuilco	Toquía (Tq)	IIIB
	San Marcos	4. Catarina	Suelos aluviales no diferenciados (SA)	V
		5. San Miguel Ixtahuacan	Ostuncalco (Ox)	I
		6. San Pedro Sacatepéquez	Ostuncalco (Ox)	
II Sur	Retalhuleu	7. Nuevo San Carlos	Mazatenango (Mz)	IB
	Escuintla	8. Tiquisate	Tiquisate Franco Arenoso Fino (Ti)	IIB
		9. Gomera	Paxinamá (Px)	IIB
III Oriente	Chiquimula	10. San Juan Ermita	Talquesal (Tl)	IIB
	Jutiapa	11. Asunción Mita	Suchitán (Sui)	IB
IV Norte	Baja Verapaz	12. San Miguel Chicaj	Salamá (Sl)	IA
		13. Rabinal	Chol (Chg)	IE
V Centro	Guatemala	14. Amatitlán	Areas Fragosas (AF)	III

De cada suelo seleccionado se recolectó una muestra de 25 libras de tierra de los primeros 20 centímetros de la superficie, dicha muestra se formó de otras submuestras tomadas dentro del área observada de siembra de maní. Las submuestras se mezclaron y se colocaron en un costal previamente identificado con datos del lugar en donde se efectuó el muestreo. De los suelos recolectados se enviaron al laboratorio muestras para análisis de P, K, C_a , Mg, textura, densidad aparente y pH. El análisis químico fue efectuado en el Instituto de Ciencias y Tecnología Agrícolas, Disciplina de Manejo de Suelos, Laboratorio de Análisis de Suelos y el análisis físico en el laboratorio de Suelos y Aguas de la Dirección Técnica de Riego y Avenamiento.

2. Método de siembra del maní:

El trabajo se inició con la selección de semillas limpias y de tamaño uniforme, las que antes de la siembra se desinfectaron para evitar la nodulación de Rhizobios procedentes del lugar de cosecha del maní. Dicha desinfección se hizo colocando las semillas con cáscara en un erlenmeyer con alcohol etílico al 99o/o por un minuto, luego se sacaron del alcohol y se sumergieron en bicloruro de mercurio al 0.1o/o acidificado durante otro minuto, después se lavaron en forma sucesiva seis veces, con agua estéril, para eliminar el bicloruro de mercurio (27).

Antes de sembrar el maní se llenaron tres bolsas de polietileno negro de dimensiones 6" x 10" con tierra de cada uno de los catorce suelos recolectados, lo que hizo un total de 42 bolsas, las que se identificaron con paletas de madera numeradas de 1 a 14 con sus tres repeticiones respectivamente; luego las bolsas con tierra se colocaron encima de platos plásticos para evitar pérdidas de agua con el riego.

Posteriormente se distribuyeron al completo azar en un lote dentro del invernadero.

Efectuado el paso anterior se sembraron cuatro semillas en cada bolsa previa eliminación de la cáscara o cubierta protectora dura. Al germinar las semillas se esperó que tuvieran tres pares de hojas y se eliminaron las plántulas menos vigorosas que se presentaron en cada bolsa dejando dos plántulas únicamente.

Durante el tiempo de permanencia de las plantas en las bolsas se regó el suelo cada vez que se notara inicio de sequedad en cada uno, ésto por

las diferencias físicas existentes entre ellos. Las plantas se fumigaron con una solución 0.1250/o del insecticida sistémico y de contacto: Tamaron 600 SL; y para evitar hongos al follaje se aplicó una suspensión de 0.450/o del fungicida cúprico: Cupravit Verde 85 WP.

3. Método de observación preliminar del comportamiento de las cepas colectadas en cada suelo:

Para el efecto se tomaron datos de la planta que incluyen:

- De la parte aérea: peso de materia seca, peso de materia verde, altura.
- De las raíces: Número, tamaño, localización en raíz principal y peso de materia verde de nódulos.

Todos los datos fueron tomados a la floración de las plantas (60 días de la siembra) y según varios autores (1, 3, 8, 11, 16, 24, 25, 28) con dichos datos puede estimarse si existe o no fijación de nitrógeno; ya que éstos se relacionan íntimamente y puede denotar ausencia o presencia de nitrógeno en la planta sin importar el suelo, siguiendo únicamente los criterios siguientes:

A. Para buena fijación:

- Peso alto de materia seca de plantas con peso alto de materia verde de nódulos.
- Peso alto de materia seca de plantas con número alto de nódulos y buen tamaño de los mismos.

B. Para deficiente o mala fijación:

- Peso bajo de materia seca de plantas con peso bajo de materia verde de nódulos.
- Peso bajo de materia seca de plantas con peso bajo de materia verde de nódulos y tamaño pequeño.
- Peso alto de materia seca de plantas con peso bajo de materia verde de nódulos y tamaño pequeño de los mismos, denota existencia de nitrógeno inorgánico y orgánico en el suelo.

4. Método de aislamiento y purificación del Rhizobium:

El aislamiento del Rhizobium partió de la selección de nódulos jóvenes

recién separados de la raíz, los que se lavaron sobre una malla; luego se desinfestaron sumergiéndolos en una solución de bicloruro de mercurio al 0.10/o por dos minutos y por último se lavaron sucesivamente seis veces con agua estéril.

Un nódulo de los más grandes ya desinfestado seleccionado de las plantas crecidas en cada suelo, se colocó en un tubo de ensayo con agua estéril, donde con una pinza estéril se aplastó para extraer la bacteria. Luego, se procedió a tomar una azada para efectuar la siembra (estriando) en las cajas de petrí con medio de cultivo a base de extracto de levadura con manitol.

Se incubaron dichas cajas a 26°C para esperar el crecimiento de las colonias de bacterias de *Rhizobium* (24).

A los 10 días se procedió a su purificación la cual se efectuó de la siguiente manera: del crecimiento dado en las cajas de petrí de las bacterias se seleccionó una colonia característica del *Rhizobium spp.* (24, 28). Luego por medio de una aza bacteriológica se estrió en tubos de ensayo con medio de cultivo para *Rhizobium*. Dejándose incubar los tubos a la misma temperatura mencionada anteriormente. A los diez días se observó el crecimiento de colonias de bacterias de *Rhizobium spp.*, y se volvió a efectuar otra purificación siguiendo la técnica ya descrita.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

El trabajo del presente estudio fue básicamente orientado a buscar dos objetivos: uno "Iniciar un cepario de *Rhizobium spp.*, nativo para el cultivo de maní en Guatemala" y el otro, "Efectuar una observación preliminar del comportamiento de las cepas colectadas en cada suelo"; los resultados del trabajo satisfacen el fin establecido y para ello en el Cuadro No. 1 se presentan los lugares muestreados y la identificación dada a cada cepa obtenida de cada suelo, la cual después de ser aislada fue purificada, para futuros estudios.

El proceso de aislamiento y purificación se desarrolló en un período de aproximadamente 20 días, ya que siendo el *Rhizobium spp.*, una bacteria con período de generación de 7 a 8 horas, las colonias se manifestaron entre los 7 y 10 días después de cada siembra efectuada (aislamiento y purificación); las colonias fueron de color cremoso, de un diámetro de 1 a 2 mm., forma circular y bordes lisos (3, 27). Alcanzándose el primer objetivo: "Iniciar un cepario de *Rhizobium spp.*, nativo para el cultivo de maní en Guatemala".

Cuadro No. 1

Número de Orden, Lugar e Identificación futura
de las cepas nativas colectadas

No. Suelo	Localidad: Municipio, Departamento.	Clave de Identificación dada
1	San Idelfonso Ixtahuacán, Huehuetenango	1A — GAAG
2	Malacatancito, Huehuetenango	2A — GAAG
3	Cuilco, Huehuetenango	3A — GAAG
4	Catarina, San Marcos	4A — GAAG
5	San Miguel Ixtahuacán, San Marcos	5A — GAAG
6	San Pedro Sacatepéquez, San Marcos	6A — GAAG
7	Nuevo San Carlos, Retalhuleu.	7A — GAAG
8	Tiquisate, Escuintla	8A — GAAG
9	Gomera, Escuintla	9A — GAAG
10	San Juan Ermita, Chiquimula	10A — GAAG
11	Asunción Mita, Jutiapa.	11A — GAAG
12	San Miguel Chicaj, Baja Verapaz	12A — GAAG
13	Rabinal, Baja Verapaz	13A — GAAG
14	Amatitlán, Guatemala	14A — GAAG

El segundo objetivo del trabajo, o sea: Efectuar una observación "preliminar"

del comportamiento de las cepas colectadas en cada suelo, en función de que estadísticamente para ésta colección no se pueden estandarizar en cada suelo las variables físicas y químicas, así como las variables biológicas que presentan en estado natural la flora Rhizobiana, sólo permite tal como fue planteado "observar preliminarmente" el comportamiento de las mismas. Una comparación de eficiencia entre las cepas con carácter de mayor confiabilidad se puede efectuar con las variables suelo y planta controlados. La hipótesis en su defecto es preliminar, pero se enmarca en observaciones de comportamiento esperado cuando se trabaja con Rhizobium.

Los valores tomados como comparadores de una deficiente, buena o eficiente nodulación son y han sido indiscutiblemente valorados para evaluar la fijación de nitrógeno de una manera indirecta pero muy acertada (1, 3, 8, 11, 16, 24, 25, 28). Los valores son: el peso de materia seca de plantas; número, tamaño y peso de materia verde de nódulos a la floración. En el apéndice de éste trabajo se presentan dichos datos en forma detallada así como otros más que fueron tomados; Cuadros del No. 3 al No. 11.

Para fines de interpretación los Cuadros No. 2 y No. 3 presentan respectivamente, los valores sintetizados y promediados; así como transformados a valores de porcentaje en función del mayor valor observado en cada variable.

Así pues cuando el rendimiento en peso de materia seca de plantas es alto generalmente la nodulación (número, tamaño y peso de materia verde de nódulos) es alta también; lo que nos indica que la planta está utilizando el nitrógeno fijado por la bacteria. Un ejemplo de dicho aspecto se presenta claramente con las plantas sembradas en el suelo proveniente del municipio de San Pedro Sacatepéquez del departamento de San Marcos identificado en los cuadros como tratamiento No. 6; ésta cepa nativa se supone que fue muy eficiente en la fijación del nitrógeno. Mientras que los tratamientos identificados en los cuadros, como No. 4, No. 5 y No. 11 provenientes de los municipios de Catarina, San Miguel Ixtahuacan y Asunción Mita correspondientes a los departamentos de San Marcos y Jutiapa manifestaron resultados totalmente contrarios. Es decir bajo peso de materia seca de plantas, pocos nódulos y bajo peso de materia verde de los mismos. El efecto no puede atribuirse definitivamente al suelo ya que si vemos el Cuadro No. 2 del apéndice (Resultados de los análisis físicos y químicos del suelo) dichos suelos poseen características físicas y químicas que los hacen muy parecidos. Por lo que un alto ó bajo peso de materia seca de plantas sería más atribuible a una mayor o menor tasa de fijación respectivamente. La comparación anterior manifiesta claramente que el desarrollo nodular en las plantas es el producto del establecimiento de Rhizobios diferentes en cada suelo. Ya que la variedad de planta (Variedad criolla Negra Amatitlán) sembrada fue la misma. Con excepción de las comparaciones drásticas que el peso de materia verde de nódulos muestra en el Cuadro

No. 2 entre los suelos No. 6 versus los suelos No. 4, No. 5 y No. 11, el resto de plantas mostraron un peso de materia verde nodular de regular bajo a regular alto, es decir; diferencias, pero no tan notorias entre el comportamiento de una cepa y otra, aunque vale decir que fisiológicamente todas las cepas son diferentes hasta que no se compruebe lo contrario serológicamente.

La eficiencia o no de las bacterias ya ha sido ampliamente discutida y Döbereiner, Campelo, Dadarwal y otros (8, 9, 11, 18) en numerosos estudios desarrollados. En el presente trabajo se observó que el comportamiento del Rhizobium spp., en maní, fue similar al observado por los anteriores autores.

Los análisis físicos y químicos del suelos no pueden en este estudio relacionarse estrechamente con el comportamiento de las cepas de Rhizobium spp. aisladas y purificadas, posiblemente se necesitaría tener un detalle ecológico muy específico para establecer la relación del habitat con el comportamiento manifestado individual de las diferentes cepas obtenidas (ver Cuadro de análisis físicos y químicos del suelo) debido a que como se manifestó anteriormente los suelos física y químicamente no presentan mucha variación.

CUADRO No. 2

Promedio de valores para 2 plantas de maní de las variables: peso de materia seca de plantas; número, tamaño (diámetro mayor de 2 mm.), peso de materia verde de nódulos.

Tratamiento		Variable $\bar{X}$			
No.	Localidad: Municipio, Departamento	Peso de materia seca de planta (g.)	Número de nódulos	Tamaño (ϕ) > 2 mm.	Peso de materia verde de nódulos (g.)
1.	San Idelfonso Ixtahuacán, Huehuetenango.	6.47	356	40	1.454667
2.	Malacatancito Huehuetenango	13.43	500	50	1.666733
3.	Chilco Huehuetenango	11.00	503	45	1.857067
4.	Catarina San Marcos	7.10	125	9	0.191167
5.	San Miguel Ixtahuacán San Marcos	6.27	64	19	0.398767
6.	San Pedro Sacatepequez San Marcos	16.27	726	100	3.200367
7.	Nuevo San Carlos Retalhuleu	7.87	260	33	0.317467
8.	Tiquisate Escuintla	14.80	525	121	1.080600
9.	Gomera Escuintla	14.80	478	73	1.037733
10.	San Juan Ermita Chiquimula	12.27	585	95	1.521267
11.	Asunción Mita Jutiapa	9.80	217	51	0.144267
12.	San Miguel Chicaj Baja Verapaz	13.08	122	58	0.627467
13.	Abinal Baja Verapaz	12.20	490	46	0.644433
14.	Amatitlán Guatemala	10.60	339	59	1.756600

CUADRO No. 3

Porcentajes de los valores promedio de las variables: peso de materia seca de plantas; número, tamaño (diámetro mayor de 2 mm), peso de materia verde de nódulos.

Tratamiento No. Localidad: Municipio, Suelo Departamento	Variable %			
	Peso de materia seca de plantas	Número de Nódulos	Tamaño (ϕ) > 2 mm.	Peso de materia verde de nódulos
1. San Idelfonso Ixtahuacan, Huehuetenango	40	49	33	45
2. Malacatencito Huehuetenango	83	69	41	52
3. Cuilco Huehuetenango	68	69	57	58
4. Catarina San Marcos	44	17	7	6
5. San Miguel Ixtahuacan San Marcos	39	9	16	13
6. San Pedro Sacatepequez San Marcos	100	100	83	100
7. Nuevo San Carlos Retalhuleu	48	36	27	10
8. Tiquisote Sacuintla	91	72	100	34
9. Gomera Sacuintla	91	66	60	32
10. San Juan Ermita Chicuintla	75	81	78	48
11. Asunción Mita Jutiapa	60	30	42	4
12. San Miguel Chicaj Baja Verapaz	80	17	48	19
13. Rabinal Baja Verapaz	75	67	38	20
14. Amatitlán Guatemala	65	47	49	55

NOTA: El porcentaje es una transformación en función del mayor valor observado en cada variable.

Otra forma aproximada de observar el comportamiento de las cepas de *Rhizobium* aisladas y purificadas, en los diferentes suelos de donde fueron extraídas y con un fin básico de plantear una visión del posible comportamiento futuro de cada una, se muestra en el Cuadro No. 4 en el que arbitrariamente se estableció para cada variable una calificación dentro de tres rangos: Deficiente de 0 — 33o/o, regular de 34 — 66o/o y bueno de 67 — 100o/o del rendimiento de las variables: peso de materia seca de planta; número, tamaño y peso de materia verde de nódulos.

En una forma más definida que el análisis anteriormente planteado se observa que en su mayoría los rendimientos buenos de materia seca de planta correspondieron al rango bueno de número de nódulos y al rango regular y bueno de tamaño y peso de materia verde de nódulos, aunque existen tres excepciones y son ellas los rendimientos de materia seca de plantas identificados como los tratamientos provenientes de los suelos No. 9, No. 12 y No. 13 que presentan un peso de materia verde de nódulos deficiente; la respuesta a lo anterior podría estar en el historial de manejo del suelo el cual se presenta en el Cuadro No. 1 del apéndice, que muestra que además de maní se ha sembrado algodón y maíz, y si bien no han sido fertilizados los campos de maní se han efectuado aplicaciones anteriores de nitrógeno inorgánico con el algodón (Suelo No. 9 proveniente del municipio de la Gomera, departamento de Escuintla) y aplicaciones de Materia Orgánica que sabemos es fuente de nitrógeno (Suelos No. 12 proveniente del municipio de San Miguel Chicaj y el Suelo No. 13 proveniente del municipio de Rabinal, ambos del departamento de Baja Verapaz).

Se sabe que el nitrógeno disminuye o elimina el poder de asociación y formación de nódulos, Graham, Scott y Aldrich (11, 22) así como otros investigadores han manifestado el mencionado problema y ésta podría ser la respuesta a la baja nodulación y buena producción de materia seca de plantas observada en los suelos No. 9, No. 12 y No. 13 ya mencionados.

CUADRO No. 4

CUADRO DE AGRUPACION DE FRECUENCIAS DE COMPORTAMIENTO DE LOS DATOS TOMADOS AL MANI DENTRO DE UNA CALIFICACION PORCENTUAL DE RENDIMIENTO DE DEFICIENTE A BUENO.

Calificación de comportamiento de la variable	Rendimiento expresado en rango de porcentaje (%)	Variable			
		Peso de materia seca de planta (g.)	Número de nódulos	Tamaño ϕ > 2 mm.	Peso de materia verde de nódulos (g.)
Deficiente	0 — 33		4,5, 11,12	1,4,5,7,11, 12,13,14	4,5,7,9,11,12,13
Regular	34 — 66	1,4,5, 7,11, 14.	1, 7,9, 14	2,3, 9.	1,2,3,8, 10, 14.
Bueno	67 — 100	2,3,6, 8,9,10, 12,13.	2,3,6, 8,10, 13.	6, 8,10.	6.

1 a 14 = Tratamiento o suelo de donde fue seleccionada cada cepa.

VII. CONCLUSIONES

1. Los diferentes suelos recolectados muestran la existencia de cepas nativas de *Rhizobium spp.*, para maní.
2. De las 14 cepas nativas de *Rhizobium spp.*, coleccionadas la cepa 6A — GAAG de los suelos serie Ostuncalco (Ox) grupo I del municipio de San Pedro Sacatepéquez del departamento de San Marcos manifiesta buena nodulación y eficiencia en la fijación de nitrógeno por lo que en una prueba controlada en el futuro podría manifestar un comportamiento destacado de fijación, dicha cepa.
3. Sin considerar la superioridad mostrada por la cepa 6A — GAAG, las cepas colectadas en los suelos identificados como número de tratamiento 2, 3, 8, 9, 10, y 14 formaron más de 84 nódulos/planta y el rendimiento de materia seca de la planta estuvo muy arriba de otras cepas que nodularon pero fueron ineficientes para fijar nitrógeno.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Deberá evaluarse, bajo condiciones homogéneas y controladas la eficiencia de fijación de nitrógeno atmosférico de las cepas nativas de Rbizobium spp., obtenidas.
2. Incorporar más cepas nativas de Rbizobium spp., de otras zonas potenciales del país para incrementar el cepario nacional.

IX. BIBLIOGRAFIA

1. AGUILERA MEJIA, R. G. La fijación de N_2 atmosférico por *Rhizobium*, su importancia y alternativas para Guatemala. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Agronomía, s.f. 16p.
2. _____. Evaluación del efecto simbiótico de 14 cepas de *Rhizobium phaseoli* en 3 variedades mejoradas de frijol negro de Guatemala. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Agronomía, 1974. 45p.
3. AYALA BRICEÑO, L. B. Study of some aspects of symbiotic nitrogen fixation by peanut (*Arachis hypogaea*); 1. Characterization of *Rhizobium spp.* Abstracts on Tropical Agriculture (Amsterdam) 4(3):80-81. 1978.
4. _____. Study of some aspects of symbiotic nitrogen fixation by groundnuts (*Arachis hypogaea*); 2. Biochemical evaluation of fixation and related factors on the groundnut-*Rhizobium spp.* system. Abstracts on Tropical Agriculture (Amsterdam) 4(12):112. 1978.
5. BOWEN, J. E. y KRATKY, B. Nitrógeno; fijación biológica en leguminosas tropical. Agricultura de las Américas (E.U.) 31(12):12-13,16,18,20. (Cont.). 1982.
6. BRILL, W. J. Fijación biológica del nitrógeno atmosférico. s.d.e. 40p.
7. CATALOGUE OF the *Rhizobium* strains in the general collection and list of efficient strains for legume inoculation. Porto Alegre, Brasil, Microbiological Resources Center, s.f. 21p.
8. DÖBEREINER, J. *et al.* Limitations and potentials for biological nitrogen fixation in the tropics. New York, Plenum Press, 1978. 398p.
9. ERDMAN, L. W. Para aprovechar el nitrógeno inocule sus leguminosas. Agricultura de las Américas (E.U.) 17(6):45-48. 1968.
10. ESPAÑA. INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGRARIAS. Especificidad en la simbiosis entre tres variedades de soya (*Glycine max* L. Merrill) y cuatro razas de *Rhizobium japonicum*. Producción Vegetal (España) no. 12:269-277. 1980.
11. GRAHAM, P. y HARRIS, S. Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture. Cali-Colombia, s.e., 1981. 726p.

12. GUATEMALA. BANCO DE GUATEMALA. Breve informe sobre la situación del maní. Guatemala, 1967. 27p.
13. _____. El maní; situación nacional e internacional. Informe Económico (Guatemala) 26(1):39-79. 1979.
14. _____. DIRECCION GENERAL DE SERVICIOS AGRICOLAS. Algunos datos sobre producción agrícolas y factores ecológicos de los departamentos de la República de Guatemala. Guatemala, 1973. 38p.
15. LOPES, E. S. et al. Nitrogen fixation capacity of indigenous Rhizobium associated with perennial soya and siratro in 2 soils of the state of Sao Paulo. Abstracts on Tropical Agriculture (Amsterdam) 1(1):136-137. 1975.
16. MENDEZ BARRIOS, J. C. Evaluación en Guatemala de nueve cepas de Rhizobium phaseoli, seleccionadas para pruebas internacionales de fijación de nitrógeno atmosférico en frijol, probadas en la variedad ICTA-81. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Agronomía. 1982. 42p.
17. MILLER, P. E. Alfalfa super nitrificante. Agricultura de las Américas (E.U.) 26(3):24-25,30,34. (Cont.). 1977.
18. RATNER, E. et al. Some characteristics of symbiotic nitrogen fixation, yield, protein an soil accumulation in irrigated peanuts (Arachis hypogaea). Abstracts on Tropical Agriculture (Amsterdam) 6(1):81. 1980.
19. RHIZOBIUM MIRCEN Informativo. Porto Alegre, Brasil, Microbiological Resources Center, 1978. 15p.
20. _____. No. 1. Porto Alegre, Brasil, Microbiological Resources Center, 1978. 19p.
21. RODRIGUEZ E., C. A. Copias del curso de agrostología, Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Agronomía, 1982. 116p.
22. SCOTT, W. y ALDRICH, S. Producción moderna de la soja. Buenos Aires, Argentina, Hemisferio Sur, 1975. 192p.

23. SIMMONS, CH. S., TARANO, J. M. y PINTO, J. H. Clasificación de reconocimiento de los suelos de la República de Guatemala, Trad. por Pedro Tirado-Sulsona. Guatemala, José de Pineda Ibarra, 1959. 1000p.
24. SOLIS PELLECEER, A. P. Evaluación de la efectividad de inoculación de cepas mixtas de Rhizobium phaseoli en dos variedades de frijol común. Tesis Quim. Biol. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1980. 55p.
25. VELASQUEZ GODINEZ, P. E. Estudio en frijol del daño causado a la nodulación por insectos rhizobiofagos y del efecto de la inoculación de Rhizobium phaseoli con dos niveles de encalado al suelo. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Agronomía, 1983. 55p.
26. VILLEGAS, G. Camote, maní, soya en America Latina. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas (Costa Rica) Documentación e Información Agrícola no. 54. 1977. 90p.
27. VICENT, J. M. Manual práctico de rhizobiología. Buenos Aires, Argentina, Hemisferio Sur, 1975. 200p.
28. WYNNE, J. C. et al. Greenhouse evaluations of strains of Rhizobium for peanuts. Abstracts on Tropical Agriculture (Amsterdam) 6(12):89. 1980.

[Handwritten signature]



X. APENDICE

CUADRO No. 1

Descripción de características relevantes de manejo de las áreas muestreadas.

		M a n e j o				
No.	Localidad: Municipio, Suelo Departamento.	Siembra anterior	Siembra actual	Tipo de Fertilización		Observaciones
				Siembra anterior	Siembra actual	
1.	San Idelfonso Ixtahuacen Huehuetenango	Maíz	Maíz y Frijol	Ninguna	Ninguna	Terreno ubicado en ladera de río
2.	Malacatancito Huehuetenango	Maíz	Maíz	Ninguna	Ninguna	Terreno ubicado orilla de camino
3.	Cuilco Huehuetenango	Maíz	Maíz	N-P-K (15-15-15)	Ninguna	- - - - -
4.	Catarina San Marcos	Maíz	Maíz	Ninguna	Ninguna	- - - - -
5.	San Miguel Ixtahuacen San Marcos	Maíz	Maíz	Ninguna	Ninguna	- - - - -
6.	San Pedro Sacatepequez San Marcos	Maíz	Maíz	Ninguna	Ninguna	Suelo montañoso
7.	Nuevo San Carlos Retalhuleu	Maíz	Maíz	Ninguna	Ninguna	- - - - -
8.	Tiquisate Escuintla	Maíz	Maíz	Ninguna	Ninguna	- - - - -
9.	Gomera Escuintla	Maíz, Algodón	Maíz	N-P-K (15-15-15)	Ninguna	- - - - -
10.	San Juan Ermita Chiquimula	Cebolla	Cebolla Maíz	Ninguna	Ninguna	- - - - -
11.	Asunción Mita Jutiapa	Maíz	Cebolla Maíz	N-P-K (15-15-15)	Ninguna	- - - - -
12.	San Miguel Chicaj Baja Verapaz	Maíz	Maíz	Abono orgánico(estiercol)	Ninguna	El abono es estiercol.
13.	Rabinal Baja Verapaz	Maíz	Maíz	Abono orgánico(estiercol)	Ninguna	El abono es estiercol.
14.	Amatitlán Guatemala	Maíz	Maíz	N-P-K (15-15-15)	Ninguna	- - - - -

CUADRO No. 2

PROCEDENCIA DE LA MUESTRA	ANALISIS QUIMICOS				ANALISIS FISICO					
	<u>Microgram.</u> ml		<u>Meg</u> 100 ml.suel.							
	P	K	Ca	Mg	Textura	Arci- lla%	Limo %	Arena %	Da gr/cc	pH
1. San Idelfonso Ixtahuacan Huehuetenango	> 50	145	22.2	2.28	Franco Arenoso	19.8	26.4	53.8	1.3	7.65
2. Malacatancito Huehuetenango	42.5	185	3.75	0.99	Franco Arenoso	7.8	34.0	58.2	1.2	5.69
3. Cuilco Huehuetenango	4.0	215	30.0	5.64	Arcilla	45.2	33.6	21.2	1.1	7.62
4. Catarina San Marcos	36.0	138	6.6	1.47	Franco Arenoso	14.8	47.1	58.1	1.2	5.36
5. San Miguel Ixtahuacan San Marcos	19.5	130	2.73	2.37	Franco Arenoso	6.6	29.0	64.4	1.1	4.97
6. San Pedro Sacatepequez San Marcos	> 50	130	3.75	1.23	Franco Arenoso	5.0	11.9	83.1	1.2	5.74
7. Nuevo San Carlos Retalhuleu	6.0	295	10.98	3.04	Franco	22.2	31.8	46.0	1.0	5.60
8. Tiquisate Escuintla	> 50	360	16.32	1.38	Franco Arenoso	7.2	30.2	62.6	1.3	6.60
9. Gomera Escuintla	> 50	> 600	23.58	3.78	Franco	21.8	42.5	35.8	1.0	6.98
10. San Juan Ermita Chiquimula	> 50	68	12.09	3.69	Franco-ar cillo-areno so.	26.6	23.7	49.7	1.4	7.41
11. Asunción Mita Jutiapa	42.5	143	11.22	2.16	Franco Arenoso	16.0	32.6	51.4	1.3	6.28
12. San Miguel Chicaj Baja Verapaz	> 50	> 600	21.20	3.78	Franco	19.5	33.4	47.1	1.1	7.17
13. Rabinal Baja Verapaz	14.5	190	6.30	1.59	Franco Arenoso	15.1	24.1	60.8	1.1	6.29
14. Amatitlán Guatemala	> 50	395	19.95	3.78	Franco Arenoso	10.3	25.2	64.5	1.2	7.40

CUADRO No. 3

Peso de Materia Seca de Plantas (PMS) (g.)

R \ T	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	7.8	14.8	13.5	8.4	3.7	16.2	8.0	16.4	16.1	12.0	8.5	8.5	8.5	12.5
2	8.1	14.4	9.6	7.5	5.8	14.9	7.1	12.5	13.4	12.2	13.4	14.9	14.7	10.6
3	3.5	11.1	9.9	5.4	9.3	17.7	8.5	15.5	15.0	12.6	7.5	15.8	13.4	8.7
$\bar{X}$	6.47	13.43	11.0	7.1	6.27	16.27	7.87	14.8	14.80	12.27	9.8	13.08	12.2	10.6

CUADRO No. 4

Número de Nódulos (No.)

R \ T	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	467	528	483	191	68	712	314	548	503	521	265	133	459	243
2	536	491	464	98	69	672	241	472	427	557	299	135	506	391
3	65	480	561	87	56	794	225	554	505	678	88	99	504	383
$\bar{X}$	356	500	503	125	64	726	260	525	478	585	217	122	490	339

CUADRO No. 5

Tamaño de Nódulos de diámetro mayor que 2 mm. (No.)

R \ T	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	61	77	34	12	18	142	45	209	50	87	56	61	40	55
2	43	42	33	14	26	38	23	98	86	74	69	58	44	63
3	17	31	69	2	13	121	31	57	84	123	29	54	54	58
$\bar{X}$	40	50	45	9	19	100	33	121	73	95	51	58	46	59

CUADRO No. 6

Peso de Materiales Verde de los Nódulos (g.)

R \ T	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	1.97	1.73	1.96	0.22	0.26	3.70	0.41	1.10	1.17	1.47	0.18	0.53	0.51	1.55
2	2.13	1.86	1.48	0.25	0.41	2.94	0.30	0.87	1.06	1.73	0.20	0.93	0.88	1.73
3	0.26	1.41	2.13	0.10	0.53	2.96	0.24	1.27	0.89	1.36	0.06	0.42	0.54	1.99
$\bar{X}$	1.45	1.67	1.86	0.19	0.40	3.20	0.32	1.08	1.04	1.52	0.14	0.63	0.64	1.76

CUADRO No. 7

Altura de Plantas (Cms.)

R \ T	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	13.5	16.5	14.5	14.5	17.7	17.2	15.5	20.0	18.0	17.0	16.0	17.5	19.0	21.5
2	14.5	18.5	16.0	16.5	22.0	17.5	13.0	20.2	19.0	19.0	16.5	20.6	22.0	18.3
3	8.5	17.5	17.0	15.5	16.8	20.5	16.5	21.5	18.0	17.0	14.5	19.5	22.5	16.5
$\bar{X}$	12.17	17.5	15.83	15.5	18.83	18.4	15.0	20.57	18.33	17.67	15.67	19.2	21.17	18.77

CUADRO No. 8

Peso de Materia Verde de Plantas (PMV) (g)

R \ T	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	28.2	61.9	51.3	33.5	16.4	58.1	31.6	58.5	66.8	43.3	36.3	35.4	35.4	40.0
2	35.4	62.4	44.3	33.0	28.5	59.7	28.2	48.5	42.2	46.0	56.3	53.6	58.9	35.4
3	18.8	42.5	39.9	18.6	41.4	65.7	34.1	62.1	56.5	52.8	36.6	58.5	49.3	36.0
$\bar{X}$	27.47	56.6	45.17	28.37	28.77	61.17	31.3	56.37	55.17	47.37	43.07	49.17	47.87	37.13

CUADRO No. 9

Tamaño de Nódulos de diámetro menor e igual que 2 mm. (No.)

R \ T	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	406	451	449	179	50	570	269	339	453	434	209	72	419	188
2	493	449	431	84	43	634	218	374	341	483	230	77	462	328
3	48	449	492	87	43	673	194	497	421	555	59	45	450	325
$\bar{X}$	316	450	457	117	45	626	227	403	405	491	166	65	444	280

CUADRO No. 10

Localización de los Nódulos en la raíz principal (No.)

R \ T	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	19	21	23	35	9	37	25	93	60	96	94	25	61	29
2	14	18	17	24	12	39	37	85	84	61	56	26	40	34
3	1	22	43	21	11	27	36	123	31	52	35	17	93	42
$\bar{X}$	11	20	28	27	11	34	33	100	58	70	62	23	65	35

T = Tratamiento: Suelos recolectado, de 1 a 14 .

R = Repetición: de 1 a 3 .

 $\bar{X}$ = Promedio general.

Promedio de valores de las variables : altura, peso de materia verde de plantas; tamaño $\phi \leq 2$ mm. , localización en raíz Principal de nódulos.

Tratamiento		V a r i a b l e $\bar{x}$		
No. Suelo Localidad	Altura Cms.	Peso de materia Verde (g.).	Tamaño $\phi \leq 2$ mm.	Localización en raíz principal. No.
1. San Idelfonso Ixtahuacen Huehuetenango	12.17	27.47	316	11
2. Malacatencito Huehuetenango	17.50	56.60	450	20
3. Cuilco Huehuetenango	15.83	47.17	457	28
4. Caterina San Marcos	15.50	28.37	117	27
5. San Miguel Ixtahuacen San Marcos	18.83	28.77	45	11
6. San Pedro Sacatepequez San Marcos	18.40	61.17	626	34
7. Nuevo San Carlos Ata Ahuleu	15.00	31.30	227	33
8. Tiquisate Escuintla	20.57	56.37	403	100
9. Gomera Escuintla	18.33	55.17	405	58
10. San Juan Armita Chiquimula	17.67	47.37	491	70
11. Asunción Mita Jutiapa	15.67	43.07	166	62
12. San Miguel Chicaj Baja Verapaz	19.20	49.17	65	23
13. Rabinal Baja Verapaz	21.17	47.87	444	65
14. Amatitlán Guatemala	18.77	37.13	280	35



FACULTAD DE AGRONOMIA

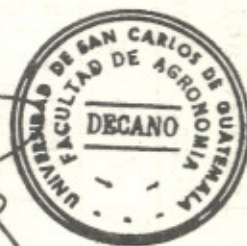
Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia	
Asunto	

"IMPRIMASE"



ING. AGR. CESAR A. CASTAÑEDA S.
D E C A N O

BIBLIOTECA CENTRAL
PROHIBIDO EL PRESTAMO EXTERNO