

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMIA

RECOLECCION DE CEPAS NATIVAS DE RHIZOBIUM  
LEGUMINOSARUM EN SUELOS DE GUATEMALA Y EVALUACION  
PRELIMINAR DE LA FIJACION DE NITROGENO  
EN ARVEJA (PISUM SATIVUM)



TESIS

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA  
DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

POR

JUAN ANTONIO LONGO ARCIA

EN EL ACTO DE INVESTIDURA DE

INGENIERO AGRONOMO

EN EL GRADO DE LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

GUATEMALA, JULIO DE 1987

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA

JUNTA DIRECTIVA DE LA

FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO	ING. AGR. ANIBAL MARTINEZ M.
SECRETARIO	ING. AGR. ROLANDO LARA ALECIO
VOCAL I	ING. AGR. GUSTAVO MENDEZ GOMEZ
VOCAL II	ING. AGR. JORGE SANDOVAL I.
VOCAL III	ING. AGR. MARIO MELGAR MORALES
VOCAL IV	BR. LUIS MOLINA MOTERROSO
VOCAL V	T.U. CARLOS MENDEZ MIJANGOS

TRIBUNAL QUE PRACTICO

EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	DR. ANTONIO SANDOVAL S.
SECRETARIO	ING. AGR. CARLOS FERNANDEZ P.
EXAMINADOR	ING. AGR. LUIS REYES
EXAMINADOR	ING. AGR. JOSE MIGUEL LEIVA
EXAMINADOR	ING. AGR. GUSTAVO MENDEZ GOMEZ



Referencia .....  
Asunto .....  
.....

FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

3 de agosto de 1987

Ingeniero  
Aníbal B. Martínez  
Decano Facultad de Agronomía  
Presente

Señor Decano:

Por este medio informo a usted, que he revisado la tesis de grado del estudiante JUAN ANTONIO LONGO ARCIA, quien se identifica con el carnet No. 37412; titulada: "RECOLECCION DE CEPAS NATIVAS DE Rhizobium leguminosarum EN SUELOS DE GUATEMALA Y EVALUACION PRELIMINAR DE LA FIJACION DE NITROGENO EN ARVEJA (Pisum sativum)", la cual se ajusta a las normas establecidas por la Facultad de Agronomía para estos trabajos.

Sin otro particular, me es grato suscribirme de usted,

Atentamente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS

Ing. Agr. Hugo A. Tobias  
Director



HATV/tdev.



Referencia PP-069-87
Asunto

FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

4 de junio de 1987

Ingeniero Agrónomo  
César Castañeda  
Decano,  
Facultad de Agronomía.

Señor Decano:

De manera atenta me dirijo a usted para hacer de su conocimiento que en esta fecha he finalizado la asesoría del trabajo de investigación de tesis del estudiante JUAN ANTONIO LONGO ARCIA con carnet No. 37412, quien efectuó el trabajo titulado "RECOLECCION DE CEPAS NATIVAS DE Rhizobium leguminosarum EN SUELOS DE GUATEMALA Y EVALUACION PRELIMINAR DE LA FIJACION DE NITROGENO EN ARVEJA (Pisum sativum)".

El presente trabajo considero que llena los requisitos científicos obligatorios y constituye además un aporte importante al parque tecnológico nacional e internacional, que contribuirá a la investigación de la fijación biológica del nitrógeno, por lo que sugiero su aprobación.

Deferentemente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

  
Ing. Agr. Rolando G. Aguilera M.  
A S E S O R

RGAM/eqded.

Guatemala, junio de 1987.


Honorable Junta Directiva  
Honorable Tribunal Examinador

De acuerdo con 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: RECOLECCION DE CEPAS NATIVAS DE RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM EN SUELOS DE GUATEMALA Y EVALUACION PRELIMINAR DE LA FIJACION DE NITROGENO EN ARVEJA (PISUM SATIVUM).

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

Esperando contar con la aprobación del mismo, me suscribo de ustedes.

Respetuosamente,

  
M.E.P.U. Juan Antonio Longo Arcia

TESIS QUE DEDICO

A DIOS

A MI PADRE

J. Antonio Longo Ch.  
Con amor y respeto

A MI MADRE

Lucy Arcia de Longo  
Con amor y agradecimiento  
a su memoria, y que sea  
esta el mejor reconocimiento  
a sus constantes esfuerzos.

A MIS HERMANOS  
Y SOBRINOS

Mario, Rosa María, Any, So  
nia, Juan Francisco, María  
de la Luz, Gaby, Lucy, Car  
los, María Mercedes, Carlos  
Rodrigo, Manuel Ricardo y  
María Mercedes.  
Con cariño.

A

Sigrid Mireya Lobos de H.  
Con gratitud por su ayuda.

A MIS AMIGOS

José Luis Castillo, Raúl  
Archila y Víctor Manuel  
López.  
Con aprecio.

## AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Ingeniero Agrónomo Rolando Aguilera Mejía por su desinteresada colaboración en el asesoramiento del presente trabajo.

## CONTENIDO

	Páginas
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	3
III. REVISION BIBLIOGRAFICA	4
3.1 Fijación de nitrógeno	4
3.2 Características generales del <u>Rhizobium</u>	5
3.3 Clasificación del <u>Rhizobium</u>	6
3.4 Requerimientos nutricionales del <u>Rhizobium</u>	6
3.5 Simbiosis entre leguminosa y <u>Rhizobium</u>	7
3.6 Factores que afectan la nodulación y fijación de nitrógeno	8
3.7 Metodología para la conservación de ceparios	17
3.8 Métodos ordinariamente empleados para la recolección de nódulos	21
3.9 Importancia de la colección de Cepas Nacionales	22
IV. LISTA DE LABORATORIOS QUE CUENTAN CON COLECCION DE CEPAS DE <u>RHIZOBIUM</u>	24
V. MATERIALES Y METODOLOGIA	26
VI. FASE DE GABINETE	27
VII. FASE DE INVERNADERO	28
VIII. FASE DE LABORATORIO	29
IX. DATOS DE LA DIRECCION GENERAL DE ESTADISTICA SOBRE LA SUPERFICIE Y PRODUCCION DE ARVEJA ( <u>PISUM SATIVUM</u> ) EN GUATEMALA	30
X. SERIE Y GRUPOS DE SUELOS MUESTREADOS	31
XI. MAPAS DE LAS REGIONES MUESTREADAS	33
XII. RESULTADOS Y DISCUSION	36
XIII. CONCLUSIONES	48
XIV. RECOMENDACIONES	49
XV. BIBLIOGRAFIA	50

## RESUMEN

Para llevar a cabo el presente trabajo se orientó el mismo a 2 objetivos fundamentales:

- a) Aislar cepas de Rhizobium leguminosarum de diferentes áreas del país.
- b) Observar en forma preliminar el comportamiento de las cepas coleccionadas.

Para el estudio se seleccionaron las zonas de mayor producción de arveja en el país, se elaboraron mapas con la clasificación de los suelos existentes en esas áreas y a continuación se procedió al muestreo de las mismas. Cada suelo fué analizado física y químicamente, colocando en bolsas de polietileno en cuadruplicado y luego se sembró arveja de la variedad Morses Progress.

Cuando las plantas florecieron, se cosecharon y se tomaron datos de: Peso seco de la parte aérea, peso y número de nódulos de cada planta; luego se seleccionaron los mejores nódulos y de allí fueron aislados las cepas de Rhizobium leguminosarum. Se observó que de los 24 suelos solamente en 5 habían plantas noduladas y que solamente las plantas crecidas en el suelo Morán presentaban nódulos grandes. Las causas que las plantas no nodularan y/o la misma fuera deficiente, puede deberse a las serias deficiencias de elementos mayores y menores que en la mayoría de los suelos estudiados fué detectado con el análisis químico o bién a la posible inexistencia de Rhizobium nativo en los mismos.

## I. INTRODUCCION

A consecuencia del alza en el precio del petróleo como fuente nitrógeno y de las limitaciones ecológicas y económicas del uso excesivo de fertilizantes químicos, se ha venido incrementando aún más el interés por el estudio de la fijación de nitrógeno por microorganismos. La crisis de energéticos ha puesto en evidencia el peligro de la sobredependencia en la utilización de petróleo recurso no renovable y fuente de muchísimos productos dentro de los cuales está la urea la cual ha fluctuado caprichosamente en el precio, afectando así el precio de los productos agrícolas y en casos más severos los rendimientos por unidad de área al dejar de ser adquiridos por agricultores de escasos recursos.

Un grupo de plantas relativamente grande, el de las leguminosas, es capaz de fijar nitrógeno del suelo pertenecientes al género Rhizobium. El lugar donde se localiza la fijación de nitrógeno corresponde a los nódulos formados sobre las raíces de las leguminosas como resultado de la penetración del Rhizobium.

La fijación de nitrógeno por los Rhizobium en las leguminosas reviste un carácter de suma importancia ya que libera a estas plantas del consumo artificial de nitrógeno.

La incorporación de Rhizobium a las semillas de leguminosas es decir la técnica de inoculación de cepas eficientes es una alternativa de importancia en Guatemala para reducir un poco los costos de producción.

El trabajo que ha continuación se presenta se realiza con el propósito de obtener cepas de Rhizobium leguminosarum para el culti

vo de la arveja (pisum sativum) y contar entonces con material genético disponible para pruebas de especificidad, infectividad y efectividad con las variedades de arveja sembradas en Guatemala.

## II. OBJETIVOS

1. Aislar cepas de Rhizobium leguminosarum procedentes de diferentes áreas del país.
2. Contribuir a la formación del cepario nacional de Rhizobium leguminosarum.
3. Observar en forma preliminar el comportamiento de las cepas coleccionadas en su suelo natal, en la variedad Psium sativum, Morses Progres.

### III. REVISION BIBLIOGRAFICA

#### 3.1 Fijación de nitrógeno:

Las plantas superiores como los animales y la mayoría de los microorganismos requieren nitrógeno en cantidades considerables, pero solamente pueden asimilarlo a partir de compuestos orgánico e inorgánicos.

Las enormes cantidades de nitrógeno elemental gaseoso contenido en el aire, no son aprovechados por ellos. La aplicación de fertilizantes artificiales o abonos, lo más que hacen es satisfacer las necesidades inmediatas de las plantas en crecimiento. De aquí la importancia de ciertas bacterias que pueden asimilar y fijar el nitrógeno gaseoso ya sea de la atmósfera o del aire del suelo. (9).

Se ha llegado a determinar dos sistemas de fijación de nitrógeno atmosférico:

- En forma libre
- En forma simbiótica

En forma libre:

Se refieren a la fijación que ejercen las bacterias que no necesitan de ningún otro organismo para fijar el nitrógeno. Siendo estas: Azobacter y Clostridium (1), de estas dos la de mayor importancia lo representa la Azotobacter, aunque las investigaciones realizadas hasta la fecha demuestran que su actividad en las tierras de labor es de importancia relativa, dado que la cantidad de nitrógeno que aportan es pequeña ascendiendo aproximadamente a 11 kg/Ha. anuales de nitrógeno, si

el pH está entre 6 y 8 (9).

En forma simbiótica:

Aquí están todas aquellas formas de vida que necesitan del concurso de otros organismos para fijar nitrógeno o viven en simbiosis con las plantas superiores, en este caso encontramos al Rhizobium que necesita a la leguminosa para poder cumplir su función (18).

El lugar donde se localiza la fijación de nitrógeno corresponde a los nódulos formados sobre las raíces de las leguminosas como resultado de la penetración del Rhizobium.

### 3.2 Características geneales del Rhzobium:

Las bacterias del género Rhizobium según el manual de BERgey las define como: Bacilos Gram negativos, con dimensiones de 0.5 - 0.9 Um por 1.2 - 3.0 m., generalmente móvil, cuando es joven posee de dos a seis flagelos peritricos o un flagelo polar o subpolar y no es formadora de esporas; es aerobia. Su temperatura óptima de crecimiento es de 18-30 grados centígrados y su rango de pH es de 5.5 a 7.5, según Date, Fortuna, Rougley (14).

Los compuestos inorgánicos de nitrógeno ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ) son suficientes para su desarrollo (19). Es capaz de crecer en tensiones de oxígeno menores que 0.0001 Atm. crece muy poco en leche Litmus, ocasionalmente provoca reacción alcalina o ácida y reacciona positivamente en la proteólisis, hidrólisis de la caseína, algunos estirpes comunmente poseen gránulos metacrométricos, (14). Son capaces de formar nódulos morfológi

camente distintos en las raíces de las plantas de la familia leguminosaceae.

### 3.3 Clasificación del Rhizobium:

El género Rhizobium pertenece a la familia Rhizobaiceae, orden Spirochaetales, dentro del género Rhizobium, existen especies identificadas las cuales son diferenciadas por las características de crecimiento en medios de extractos de levadura; estas especies se reúnen en dos grupos: Las de crecimiento rápido o productoras de ácido, contienen de dos a seis flagelos peritricos, aquí se pueden mencionar las siguientes especies: R. leguminosarum, R. phaseoli y R. trifoli y R. meliloti.

Estas forman colonias relativamente grandes de dos a cuatro milímetros de diámetro y tienen un poder formador de gomas abundantes.

Las especies de crecimiento lento, estas solo poseen un flagelo polar o subpolar, entre estas están: R. japonicum, R. lumpini. (19).

### 3.4 Requerimientos nutricionales el Rhizobium: (19)

<u>Elemento</u>	<u>Requerimientos</u>
Fe	0.005- 0.1
Mg	0.1
Ca	0.025
Ca+Mg	0.5
CO	0.00001

<u>Elemento</u>	<u>Requerimientos</u>
Zn	0.0001-0.001
Mn	0.0001-0.01

Los elementos que generalmente requieren los Rhizobios para crecer generalmente son fuentes de carbono que pueden variar de acuerdo a la especie. De tal manera que los que crecen rápidamente pueden usar varios azúcares, polímeros y ácidos orgánicos, como por ejemplo la glucosa, galactosa, fructuosa, manitol, rafinosa, etc. Pueden decirse también que en las diferentes especies que existen, algunas requieren de vitaminas las cuales son factores indispensables de crecimiento como por ejemplo biotina, tiamina y pantotenato de calcio. (1).

### 3.5 Simbiosis entre leguminosa y Rhizobium (Selectividad y Especificidad):

Hace talvez 20 años la tendencia era pensar en las leguminosas como socios pasivos en la fijación de nitrógeno y atribuir al Rhizobium, todas las cualidades importantes para tal actividad. Aunque ya es conocido que el Rhizobium contiene la nitrogenasa y que la cepa puede influir en varios aspectos de la simbiosis, como el tiempo que demora en formar los nódulos y la eficiencia con que funcionan la tendencia ya es pensar en la leguminosa como factor dominante en la simbiosis. Holl y La Rue en 1975 sugirieron que por lo menos los genes del hospedero, controlando factores tan importantes con el tiempo hasta la nodulación, selección de ciertas cepas de la rizosfe

ra y no otras, y los niveles de fijación que alcanza la simbiosis, afectan la simbiosis (1).

Los factores antes mencionados han dado lugar a establecer el término "selectividad y especificidad". La selectividad se puede enfocar en dirección, bacteria planta y planta bacteria, o sea que no solo son las características fisiológicas propias de cada especie y/o cepa de Rhizobium las que definen la selección de la planta a nodular sino también el género, especie o variedad de leguminosa puede seleccionar el tipo de Rhizobium que la puede infectar.

Los rizobiólogos han estudiado que existe cierta capacidad en cada especie de Rhizobium clasificada de nodular a uno o varios géneros de leguminosas (no debe de entenderse la capacidad de nodulación como sinónimo de capacidad de fijación de  $N_2$  en forma efectiva) dentro de esta última situación puede explicarse la definición de "especificidad" ya que en muchos casos una especie y/o cepa de Rhizobium que nodula eficientemente a una determinada especie de leguminosa no puede hacerlo si se cambia la especie y/o variedad de la planta esto es debido indudablemente a factores genéticos específicos. (1).

### 3.6 Factores que afectan la nodulación y fijación del Nitrógeno:

La respuesta de simbiosis al medio ambiente primordialmente depende de la constitución genética y fisiológica de la planta hospedera. En la última década hay evidencias que confirman que los resultados pueden ser modificados y gran variación puede ser obtenida de acuerdo a la cepa usada (13).

Todos los aspectos del medio físico en el cual las leguminosas crecen afectan la fijación de nitrógeno, ya sea de una forma directa o a través de efectos sobre la formación y desenvolvimiento de nódulos. Las interacciones entre los varios factores físicos son muy comunes.

No quedan a fuera los efectos del medio ambiente sobre la simbiosis leguminosa Rhizobium, es esencial distinguir a cada uno de estos factores sobre la formación de nódulos y su influencia sobre la fijación de nitrógeno y funciones asociados de los nódulos.

#### Temperatura:

El efecto de la temperatura sobre el sistema simbiótico se manifiesta prácticamente en todos los estados de formación y funcionamiento de nódulos.

El límite para las plantas de clima templado se puede considerar de 7-10°C. (nodulación y fijación de nitrógeno), y para plantas de clima tropical son muy adversamente afectadas con temperaturas abajo de 20 grados y mayores de 30°C. (13), observandose un retardamiento en la nodulación y bajas tasas de fijación de nitrógeno.

La temperatura máxima para el inicio de formación de nódulos tienden a ser mayores que para el desenvolvimiento de nódulos. Para las leguminosas de clima templado la temperatura máxima para una fijación razonable está en torno a 30°C. Para especies tropicales y subtropicales incluyendo la soya, la temperatura máxima para la fijación varía de 27 - 40°C.

El efecto de temperaturas elevadas, además de resultar una menor actividad fijadora ocasiona una acelerada senescencia de nódulos y un consecuente acortamiento del período de fijación de nitrógeno (13).

#### Humedad del suelo:

Para que halla un buen desarrollo de la planta el suelo necesita tener un abastecimiento adecuado de agua. En general se considera que la humedad en el suelo para la nodulación y fijación de Nitrógeno está entre 60% y 70% de capacidad de retención de agua (4), (9).

Cuando la humedad aumenta hay limitación de oxígeno dañando los nódulos; en condiciones de mayor sequedad ocurre una degeneración o muerte prematura de nódulos. Esto es relativo a la especie de la planta y su bacteria simbiótica pues existe diferencia en cuanto al requerimiento de agua (13).

#### Atmósfera del suelo:

La composición de la atmósfera del suelo puede diferir bastante de la atmósfera libre (4).

Aumentos de 10 a 100 veces en concentraciones de dióxido de carbono y una disminución sensible en tensión de oxígeno se ha observado con frecuencia. Cuando el oxígeno está abajo de 20% se observa una deficiencia en nodulación y también en la fijación de Nitrógeno. En suelos inundados difícilmente va a ocurrir una buena nodulación.

En relación al  $\text{CO}_2$  en los experimentos que efectuaron resultó un efecto favorable en el aumento hasta 3 ó 4%, esto se

puede encontrar en el suelo. (4), (15).

#### Luz:

El mayor efecto de la luz sobre fijación simbiótica de Nitrógeno está relacionado con el efecto sobre fotosíntesis en cuanto a la formación de carbohidratos los cuales son indispensables para el crecimiento y funcionamiento de nódulo (4).

Con ciertos límites puede ser obtenida una relación directa entre intensidad de luz, nodulación y fijación de Nitrógeno (4).

La nodulación puede ser alcanzada en completa ausencia de la luz desde que haya disponibilidad de productos fotosintéticos (carbohidratos) en las raíces (13).

La formación de nódulos es más dependiente de luz en el proceso de infección (13).

En años recientes se observó otros efectos de la luz sobre la nodulación correlacionado con un pigmento fitocromo. La luz roja estimula la nodulación en cuanto el azul principalmente la infraroja inhibe, sin embargo no se ha dado una explicación perfecta para este fenómeno (4).

#### pH del suelo:

Es uno de los factores limitantes en la fijación de Nitrógeno en las leguminosas, debido al retardamiento o supresión de formación de nódulos (13, (19).

Sus efectos pueden ser directos a través de la influencia sobre la sobrevivencia de la bacteria o indirectamente por la mayor o menor disponibilidad de nutrientes y presencia de ele

mentos tóxicos. En el estado inicial de infección nodular, cuando el pH tiene valores bajos 3.5 - 5.3, no ocurre nodulación. Para climas templados es mayor que los tropicales, el nivel crítico superior varía de pH 8.5 - 9.0 (13), (9).

El encalado modifica el pH, favoreciendo más el establecimiento de la simbiosis de la bacteria y la planta (Haley 1964), citado por Alaidés (2), declara que el encalado aumenta la concentración de  $\text{CO}_2$  en el sistema radicular aumentando la fijación de Nitrógeno.

Factores nutricionales: pH-Calcio, Magnesio, Aluminio, Magnesio

Muchos trabajos realizados han fallado al separar la influencia de la acidez referente al suministro de calcio o entre la reacción de planta-bacteria(9). Según algunos en la solución nutritiva o efecto de pH en el crecimiento y nodulación de las leguminosas y esencialmente una función de nutrición de calcio. Abajo de los niveles mínimos la nutrición de calcio es perjudicada y la nodulación inhibida.

En el suelo la situación es más compleja por la interacción con otros factores como la liberación de iones  $\text{Al}^{+++}$  y  $\text{Mn}^{++}$ , además de  $\text{H}^+$ .

El calcio es importante en el proceso de infección por las raíces siendo una exigencia mayor para las leguminosas de clima templado que para las de clima tropical. No es bien conocida la acción específica del calcio en la nodulación, parece estar en una exigencia para la división celular de raíces, necesaria para la formación de nódulos (13). Los efectos de

exceso de aluminio en el suelo sobre la disponibilidad de nitrógeno simbiótico para las leguminosas puede ser dividido en:

- a. Efecto inhibitorio sobre la formación de nódulos debido a los perjuicios físicos sobre el sistema radicular.
- b. Efecto inhibitorio sobre la formación y funcionamiento de los nódulos debido a restricción en absorción o traslocación de nutrientes(9).

Macronutrientes: El fósforo, potasio y cobre desempeñan una función importante en la simbiosis.

El fósforo es el nutriente más importante para la fijación de nitrógeno, aunque una deficiencia de cualquier elemento afecta el crecimiento finalmente afectará la asociación simbiótica (10).

La función que desempeña la producción de proteínas y el desenvolvimiento de las raíces y de la parte aérea, esto no explica sus efectos sobre la deficiencia sobre la nodulación y producción de los compuestos nitrogenados. Además participa de varios procesos de almacenamiento y transferencia de energía para la producción de  $\text{NH}_3$  a  $\text{NH}_4$  (10). Debido a que el fósforo se fija en suelos ácidos, es bueno aplicar material calcaéreo para la liberación del fósforo que no está disponible para las plantas (9), (13).

Las respuestas a la aplicación de potasio no son muy frecuentes a pesar de las tensiones y reservas relativamente altas que hay en el suelo de este elemento.

Solamente con la sucesión de cultivos y la reposición de

las cantidades extraídas se puede esperar efectos positivos sobre la producción y lo mismo en la nodulación (13).

El azufre es importante en el metabolismo de nitrógeno como un componente de proteínas, en la nodulación presenta función en el proceso de iniciación nodular y con sus efectos consecuentes (13).

#### Micronutrientes:

El molibdeno es esencial para el correcto funcionamiento del sistema enzimático de fijación de Nitrógeno, como constituyente de la nitrogenasa, siendo su disponibilidad regulada por el pH del suelo. Puede darse una mayor fijación al corregir la acidez y en casos de deficiencia son generalmente verificados en suelos ácidos con altas tensiones de hierro, siendo posible también interacciones con manganeso. El hierro es parte de la nitrogenasa y de la lehemoglobina (13).

El boro es esencial para el sistema vascular de los nódulos, siendo su deficiencia más comunmente observada en alfalfa (13).

El cobre es importante para el crecimiento y actividad de la bacteria (13).

El cobalto es parte de la enzima cianocobalamina que aparece en grandes cantidades en los nódulos y cuya función no está definida (13).

#### Factores biológicos:

Factores que afectan al Rhizobium en el suelo y la Rizosfera:

La sobrevivencia de esta bacteria en el suelo y su multi

plicación en la rizosfera de la leguminosas pueden ser afectadas por la presencia de otros microorganismos del suelo, algunos promoviendo su desarrollo y otros perjudicándolo. Según Cardoso (4), siempre es posible aislar de la rizosfera, un cierto número de bacterias y hongos y principalmente actinomicetos que se muestran antagónicos al Rhizobium ya por competencia en nutrientes, modificando el ambiente, como acidificando el suelo o produciendo antibióticos.

La presencia de microorganismos parásitos del Rhizobium pueden afectar la población en la rizósfera; como los bacteriófagos se pueden tornar destructivos. También bacterias lisogénicas pueden servir como trasmisoras de fagos, induciendo transformaciones genéticas, sin embargo en ocasiones conforme aumenta la cantidad de Rhizobium se puede llegar a controlar la población de los otros microorganismos hasta regresarlo a un nivel bajo (4).

Factores que afectan los nódulos y sus actividades:

Insectos y nemátodos pueden tener un efecto perjudicial sobre los nódulos. Las larvas de cierto gorgojo que se desarrolla en torno a la raíz se alimentan de preferencia de pelos absorbentes de raíz y de nódulos, destruyendo grandes cantidades por la ingestión de su contenido causando efectos secundarios en la nodulación.

Según Cardoso (4), los nemátodos pueden también afectar la eficiencia de fijación simbiótica de las plantas por la reducción en la nodulación y se basan en las siguientes hipótesis:

- a. Provocan deficiencia nutricional de la planta.
- b. Ocorre competición entre larvas de nemátodos y bacterias fijadoras.
- c. Efecto antagónico de microorganismos que penetran por las heridas provocadas por los nemátodos sobre bacterias del género Rhizobium.

Los virus fitopatogénicos que infectan a las leguminosas acarrearán un menor desarrollo de nódulos y también menor eficiencia en la fijación de nitrógeno; existe la posibilidad que haya otros agentes patógenos que provoquen efectos sobre la fijación, ya sea por interferencia directa o por lo menos a través del desvío de material energético (4).

#### Efectos de pesticidas:

Con el aumento intensivo de leguminosas en grandes áreas, también aumentan los problemas fitosanitarios lo que implica el uso de pesticidas. Los insecticidas y fungicidas aplicados en aspersiones aéreas se depositan en el suelo. Ante esto muchos autores se han dedicado al estudio de los efectos de pesticidas sobre el Rhizobium y las posibles implicaciones que pueden ocurrir en función de los productos aplicados (4).

Cualquier fungicida a base de mercurio, como Semesan o Neantina es altamente tóxico a todos los tipos de Rhizobium, impidiendo la nodulación de las plantas. Productos a base de cobre y antibióticos son inhibitorios con frecuencia (4).

Los insecticidas Lindane, Endrín, Dieldrín y los fungicidas Chloranil, Thiram, Captán y Ceresán; aplicados a las semi

llas de leguminosas no demostraron un efecto perjudicial sobre la nodulación. (4).

Los herbicidas Trifluralina y Carbetamida fueron perjudiciales a la nodulación y al crecimiento de varias leguminosas en concentración de 1 a 2 Kg/Ha. Parece que la reacción de cada planta y tal vez también de cada estirpe de Rhizobium difiere en relación a la mayoría de productos probados. La introducción de nuevos pesticidas, debería de hacerse en base a un estudio sistemático de la acción sobre la nodulación, también sobre el desarrollo de las plantas. (4).

### 3.7 Metodología para la conservación de Ceparios:

El mantenimiento de cepas de bacterias para estudio posterior, generalmente presenta el problema de que la mayoría de ellas pierden fácilmente sus características genéticas o su viabilidad. Por otro lado el valor de cualquier información obtenida sobre un determinado cultivo aumenta si se puede disponer continuamente de este en forma estable. Es por ello que se justifica plenamente el máximo esfuerzo para lograr el mantenimiento de importantes cultivos en condiciones viables y biológicamente estables. Debido a ello se han desarrollado muchos métodos de mantenimiento que varían según las características de los organismos. Para los fines de la investigación presente se describen los siguientes:

Cultivos en agar:

Los cultivos en agar inclinado son los más convenientes por su simplicidad y porque no presentan dificultades para la

conservación de cepas. (19).

El método consiste en el trasplante o transferencia periódica de un cultivo, el cual previamente se ha hecho crecer en cultivos de agar inclinados y cuando se juzgue que las condiciones del cultivo ponen en peligro su viabilidad, debe hacerse una transferencia de una porción a un tubo inclinado con medio fresco. El momento es por lo general cuando el desecamiento del medio reduce su volumen a una tercera parte. Cuando se mantienen estos cultivos a temperaturas ambiente generalmente se requieren transferencias a intervalos que oscilan entre 1 y 6 meses, almacenando a temperaturas de menos o igual a 5° C., se puede alargar considerablemente el período, alcanzando hasta dos años. (8).

Cultivos en suelos desecados:

Muchos microorganismos especialmente del suelo se mantienen bien por años si se agrega una suspensión de propágulos al suelo estéril en tubos. El suelo debe de ser franco o se le agrega arena fina. Se coloca el suelo con poca humedad, y se esteriliza a 121°C. por una hora, o en dos días consecutivos por 20 minutos. Se agregan los propágulos suspendidos en suficiente agua para humedecer el suelo a 25% de capacidad. Se almacenan los tubos a medio ambiente o refrigerados. Para recuperar el Rhizobium se inoculan terroncitos de suelo en un medio apropiado. El suelo sirve principalmente como un medio de sostén a los propágulos en estado de conservación y como fuente de escasa nutrición. (8).



Método de las perlas de porcelana:

Consiste en la utilización de un pequeño recipiente, similar a una botellita provista de una tapa de rosca revestida de goma. A esta se le agrega 3-4 g de silicagel impregnado, el cual se mantiene en el fondo del recipiente con una capa de lana de escorias, el cual se utiliza como aislante, de aproximadamente 10mm de espesor, apretada en forma de una pelotita consistente. Sobre la lana se colocan 20-30 perlas de porcelana no vitrificadas. Una vez, preparadas las unidades se colocan en un recipiente adecuado y se esterilizan en un horno de aire caliente (1-2 horas a 160-170°C. (19).

El cultivo que se desea conservar se siembra en 1 cc de caldo de extracto de levadura con manitol, en tubos de ensayo comunes tapados con algodón e incubados a 26°C. Se retiran las tapas de los frascos preparados para almacenamiento, se hechan las perlas de porcelana en el centímetro cúbico de la suspensión bacteriana y se le agita bien. Se invierte el tubo para que el exceso de líquido pase al tapón de algodón y se vuelven a almacenamiento cerrado fuertemente las tapas de rosca. (19).

Cuando se necesita un cultivo, se extrae una perla mediante un alambre esterilizado y se le introduce en un tubo con caldo o se hace rodar sobre la superficie de un agar húmedo. (19).

Loifilización (desechado en frío):

Por este método se puede llegar a obtener una viabilidad

del Rhizobium durante 17 años.

Los procesos de liofilización desecan las células (generalmente de un estado de congelación) en tubos que son sellados al vacío, y almacenados a 4°C. Este método es el más usado para el mantenimiento de cultivos tipo. (8).

El desarrollo de un cultivo en agar se suspende en agua con 10% de sacarosa y 5% de peptona. El cultivo se distribuye a razón de 0.1 cc por unidad de ampollas apropiadas tapadas ligeramente con algodón. La aplicación de alto vacío con un desecante, por ejemplo pentóxido de fósforo asegura una congelación rápida. Luego se introduce el tapón de algodón hasta la mitad de la ampolla y se aprieta esta parcialmente para facilitar el cierre final al vacío. Se completa el secado manteniendo el vacío y la exposición a  $P_2O_5$  durante una noche. Se cierran cuidadosamente las ampollas con ayuda de un mechero de doble quemador. Una descarga de color azul en la ampolla indica que ésta se hala en condiciones satisfactorias. (19).

Para abrir una ampolla se hace una marca con una lima a la altura de la mitad del tapón del algodón. Se deja entrar lentamente el aire en el tubo a través de la hendidura antes de romper o separar el extremo de la ampolla. Para reconstruir el cultivo se saca y elimina el tapón de algodón, se flama la boca del tubo y se agrega con una pipeta estéril 0.1 cc de caldo de extracto de levadura con manitol y se desparama la suspensión bacteriana con un anza estéril. La placa de

be de incubarse a  $26^{\circ}\text{C}$  en posición invertida y se le debe de observar para registrar la formación de colonias características de la cepa almacenada. (19).

### 3.8 Métodos ordinariamente empleados para la recolección de nódulos:

Esencialmente se presentan dos métodos de colección de nódulos de esos se puede utilizar uno u otro de acuerdo al tiempo de iniciación de trabajo con los nódulos. (12).

Estas formas de colección de nódulos consiste en:

- a. Para utilización de nódulos a corto plazo: Se debe excavar los alrededores de las plantas asignadas para recolectar sus nódulos ello con el fin de poder obtener estas plantas con su sistema radicular, ésta se deposita en bolsas de polietileno y se lleva al laboratorio, para ser utilizados los nódulos en un lapso de 24 horas. (12).
- b. Para utilización de nódulos a un plazo de 1-14 días: Para ser protegidos de descomposiciones e invasión de microorganismos del suelo y algunas interferencias debidas al aislamiento se puede proceder de la siguiente forma: Se localizan las plantas noduladas, se extraen y lavan las raíces con agua a manera de retirar la tierra. Una vez realizado este paso se procede a seleccionar los mejores nódulos y se cortan tratando de dejar parte del sistema radicular adheridos a ellos para poder manipularlos de una forma más fácil. Luego deben de depositarse en un envase que contenga un desecante. (12).

El envase debe de tener una capacidad de 5-10 ml. se coloca al fondo el desecante (Cloruro de calcio anhidro o Silica-gel). Este se debe ocupar un cuarto del volumen del envase. Sobre este se coloca algodón y luego se depositan los nódulos recolectados. El volumen de los nódulos no debe exceder un volumen igual al desecante. (12).

Para períodos mayores de utilización de los nódulos no se han establecido métodos seguros, aunque se utiliza el método de desecante pero este no da la confiabilidad deseada para la preservación de los nódulos. (12).

### 3.9 Importancia de la colección de Cepas Nacionales:

La importancia que conlleva un cepario podría resumirse de la manera siguiente: (12).

- a. Se puede contar con material adecuado el cual se encuentra genéticamente y geográficamente adaptado, con el cual se puede inocular a las leguminosas y así lograr una eficiente nodulación lo cual redundará en una eficiente fijación de Nitrógeno atmosférico.
- b. Debido a la especificidad que muestra el Rhizobium es necesario contar con ceparios, dentro de los cuales se pueden encontrar cepas de Rhizobium que en determinado momento se puedan utilizar en circunstancias adaptables a las características afines de suelo y leguminosas.
- c. El cepario viene a constituir un banco de ejemplares, los cuales debemos de evaluar de acuerdo a las necesidades de investigación que se presenten dentro del desarrollo agrí-

cola de la nación.

- d. Es una fuente de germoplasma nativo, que puede llegar a servir como medio de intercambio experimental con otras instituciones extranjeras afines.

IV. LISTA DE LABORATORIOS QUE CUENTAN CON  
COLECCION DE CEPAS DE RHIZOBIUM (9)

Argentina:

Elizabeth G. de Olivero  
Unidad Simbiosis I.N.T.A.  
Casilla de correo No. 25  
Castelar - Provincia de Buenos Aires

Australia:

Richard Date  
División Tropical Crops and Pasteurs  
OSIRO  
Cunningham Laboratory  
Mill Rd. St. Lucía  
Queensland 4067

Brazil:

Avilio A. Franco  
EMBRAPA, Km. 47  
23460 Seropédica  
Río de Janerio

Eli Sidnery López  
Instituto Agronómico de Campins  
Av. Barao de Itapura 1481  
C.P. 28 Campins  
Sao Paulo

Mitlon Vargas  
EMBRAPA, Centro de Pesquisa Agropecua  
ria Dos Cenados  
BR\_20, Km. 18 Brasília  
Planaltina, 70100

J.R. Jardim Freire  
Facultad de Agronomía  
Universidad FEderal do Rio Grande do  
Sul  
Caixa Postal 776  
Porte Alegre

Colombia:

Rosemary Bradley  
Centro Internacional de Agricultura  
Tropical (CIAT)  
Apartado Aéreo 67-13  
Cali

Chile:

Luis Bernardo Longeri  
Depto. de Microbiología  
Universidad Concepción  
Casilla de Correo 272  
Concepción

México:

María Valdez  
Departamento de Microbiología  
Instituto Politécnico Nacional  
Apartado Postal 4-870  
México 4, Distrito Federal

Antonio Moreno Quiroz  
Banco de México  
Apartado Postal No. 27  
Juitepec  
Morelos

Panamá:

Blanca de Fernández  
Escuela de Microbiología  
Facultad de Biología  
Universidad de Panamá

Perú:

Soré CaniÓN Gómez  
I.V.I.T.A.  
Universidad Mayor de San Marcos  
Museo de Historia Natural  
Avenida Arenales 1256  
Apartado 1256  
Lima

South Africa:

Ben W. Strijdon  
Plant Protection Reserach Institute  
Private Bag 134  
Pretoria

Venezuela:

Iván CASas  
Apartado 1664  
Maracaibo  
Estado Zulia

## V. MATERIALES Y METODOLOGIA

### Materiales de campo:

- Machete
- Piocha
- Pala
- Bolsas plásticas
- Mapa de suelos
- Vehículo

### Materiales de invernadero:

- Bolsas de polietileno de 2 kilogramos
- Platos de plástico
- Paletas
- Semillas de arveja de una variedad comercial (Moreses Progress)
- Suelo recolectado
- Regadera
- Fungicida Vrabo 500
- Atomizador manual
- Libreta de apuntes

### Materiales de laboratorio:

- Balanza
- Cajas de Petri
- Tubos de ensayo
- Algodón
- Mechero
- Erlen Meyer
- Vidrios de reloj
- Autoclave
- Horno Pasteur
- Materiales para preparar el BYMA

## VII. PRIMERA FASE: FASE DE GABINETE

El trabajo se dividió en tres fases.

Se investigó cuales eran las zonas productoras de arveja en nuestro país (Ver cuadro No. 1), datos que fueron proporcionados por la Dirección General de Estadística (11). De todos estos se seleccionaron los lugares en donde la producción era la más elevada.

Luego se determinaron las clases de suelos existentes en esos lugares (Ver cuadro No. 2), y se procedió a la elaboración de mapas con ayuda del libro Clasificación de reconocimiento de los suelos de la República de Guatemala de CH. Simmons, Tárano y Pinto. (16). (Gráficas No. 1, 2, 3

A continuación se procedió al muestreo de las zonas asignadas en donde se extrajeron aproximadamente 25 libras de tierra de los primeros 20 centímetros del suelo. Esta se colocó en una bolsa y se identificó convenientemente, este procedimiento fué el mismo para los 24 suelos.

De cada una de estas muestras se destinaron 3 libras para el laboratorio de suelos, con el objeto de determinar las características físicas y químicas de los mismos. El resto de la tierra sirvió para llenar las bolsas de polietileno de 7 x 12 pulgadas para la siembra de la arveja y luego que de esta forma nodularan las raíces y posteriormente se aislo el Rhizobium.

## VII. SEGUNDA FASE: FASE DE INVERNADERO

Esta parte del trabajo se realizó en el invernadero que está ubicado en los campos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Se procedió a tamizar la tierra de cada una de las bolsas de 25 libras haciendo esto con un tamiz de 1/4 de pulgadas.

Luego se apartaron 3 libras para el laboratorio de suelos y se procedió a llenar las bolsas de 7 x 12 pulgadas de polietileno que fueron 4 por cada suelo, haciendo un total de 96 bolsas.

Se efectuó la siembra, depositando 4 semillas por bolsa.

Luego que germinaron las semillas se procedió a eliminar las plantas menos vigorosas quedando únicamente 2 plantas por bolsa (raleo).

Periodicamente se efectuaron riegos de acuerdo a las necesidades de la planta y el estado del tiempo.

En este período la plantación presentó síntomas de ataque de Mildiu y se aplicó VRABO 500 a razón de 1/3 de medida Bayar por bomba manual.

La plantación duró hasta la floración, fecha en la cual se extrajeron todas las plantas cortando únicamente la parte aérea y colocándolas en bolsas de papel previamente identificadas. Se tomaron de cada una de estas bolsas el peso de materia verde y el peso de materia seca. Con estos datos se procedió a efectuar las observaciones preliminares del comportamiento de cada cepa en su respectivo suelo.

Luego de haber cortado la parte aérea se extrajeron las raíces y se apartaron todos los nódulos y se determinó el número y peso.

### VIII. TERCERA FASE: FASE DE LABORATORIO

Esta parte del trabajo se llevó a cabo en los laboratorios de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala y dió inicio con la selección de nódulos jóvenes y mejor desarrollados, recién separados de la raíz de las plantas crecidas en cada suelo para tal fin.

Se depositaron en pequeños frascos reviamente identificados que contenían sílica gel para la conservación de los nódulos y tapados con algodón. Se lavaron cada uno de ellos con agua estéril, posteriormente se procedió a la desinfectación de los mismos haciendo uso de bicloruro de mercurio al 0.1% por dos minutos y cinco lavados sucesivos con agua estéril (2). A continuación los nódulos desinfectados fueron colocados y macerados en las cajas petri que previamente se habían llenado con medio específico para Rhizobium BYMA (Browell Yeast Manitol Agar) (16).

Las cajas petri con bacteria se estriaron y fueron puestas en la incubadora a 26 grados centígrados. Cuando las colonias bacterianas habían concluído su establecimiento, se procedió a purificar el cultivo, utilizando para ello tubos de ensayo con el medio indicado (BYMA).

Cuadro No. 1

IX. CULTIVO DE AREVEJA (PISUM SATIVUM) EN GUATEMALA (11)

Superficie en manzanas	Producción en quintales	
<u>República</u>	<u>Superficie cosechada</u>	<u>Producción</u>
Total	136.85	6,766.07
<u>Depto. de Guatemala</u>	14.58	2,125.00
San José Pinula	2.00	35.00
Mixco	2.00	150.00
San Raymundo	5.00	1,500.00
Fraijanes	0.75	225.00
Villa Nueva	4.83	215.00
<u>Depto. Sacatepéquez</u>	15.55	607.00
Antigua Guatemala	2.00	2.40
Jocotenango	8.00	400.00
Sumpango	1.84	68.40
Santiago Sacatepéquez	2.26	95.21
San Bartolomé Milpas Altas	1.12	31.00
Santa María de Jesús	0.33	10.00
<u>Depto. de Chimaltenango</u>	68.06	3,679.92
Comalapa	0.34	8.00
Tecpán	4.73	169.31
Patzún	21.17	1,105.51
Patzicia	11.05	535.46
Santa Cruz Balanya	16.61	514.74
Acatenango	1.50	23.00
San Andrés Itzapa	8.32	194.80
Parramos	3.84	1,123.10
Zaragoza	0.17	5.00
<u>Depto. de Sololá</u>	0.57	15.00
Santa María Visitación	0.03	6.00
Santa Lucía Utatlán	0.10	1.00
San Andrés Semetabaj	0.31	6.00
Santa Catarina Palopó	0.13	2.00
<u>Depto. de Quetzaltenango</u>	1.44	20.50
Quetzaltenango	0.63	7.00
Zunil	0.81	13.50
<u>Depto. de San Marcos</u>	0.25	3.00
Sibinal	0.06	1.00
Río Blanco	0.19	2.00
<u>Depto. de Huehuetenango</u>	0.12	2.00
Chintla	0.06	1.00
San Mateo Ixtatán	0.06	1.00
<u>Depto. de Baja Verapaz</u>	34.91	296.64
Salamá	4.54	89.89
Purulha	30.37	206.75
<u>Depto. de Alta Verapaz</u>	0.14	2.00
Cobán	0.13	1.00
San Juan Chamelco	0.01	1.00
<u>Depto. de Petén</u>	1.00	10.00
La Libertad	1.00	10.00
<u>Depto. de Jalapa</u>	0.23	5.00
Jalapa	0.08	2.00
Mataquescuintla	0.15	3.00

Cuadro No. 2

X. MUNICIPIOS A MUESTREAR EN LOS DIFERENTES DEPARTAMENTOS  
QUE SIEMBRAN ARVEJA (PISUM SATIVUM) EN UN AREA SIGNIFICATIVA

Serie de suelos y grupo de suelos (16)

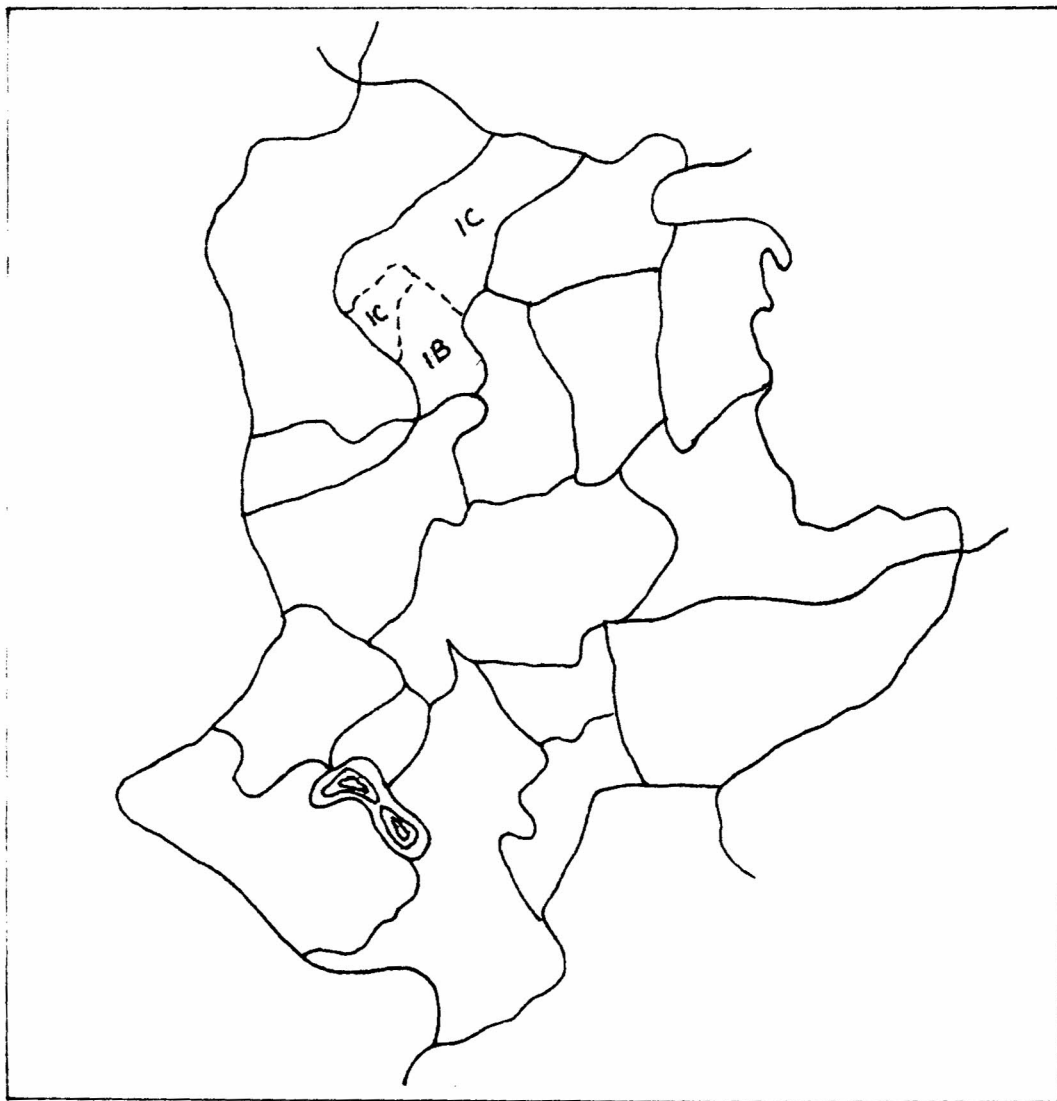
DEPARTAMENTO	MUNICIPIO	SERIE DE SUELO	GRUPO DE SUELO
1. Guatemala	Villa Nueva	Cauqué Guatemala Morán	IB
	San Raymundo	Acasagustlán Chinautla Chuarrancho Subinal	IE
2. Sacatepéquez	Jocotenango	Patzicía Patzité Poaquil Quiché Tecpán	IIA
		Areas Fragosas Cimas volcánicas Suelos de valles no diferenciados	IV
3. Chimaltenango	Patzún	Totonicapán Camanchá Balanjuyú	I
		Salamá Zacualpa Guatemala fase pendiente	IIB
	Patzicía		IIA
	Santa Cruz Balanyá		IIA
4. Baja Verapaz	Purulhá	Chuarrancho Sholanimá	
		Suelos poco profundos Carchá	IIA

DEPARTAMENTO	MUNICIPIO	SERIE DE SUELO	GRUPO DE SUELO
		Suelos poco profundos Tamahú	IIB
		Suelos de las tierras bajas del Petén Caribe Chacalté	III
		Suelos de los valles no diferenciados	IV

Gráfica No. 1

XI MAPA DEL DEPARTAMENTO DE GUATEMALA, SUS MUNICIPIOS  
Y EL GRUPO DE SUELOS EXISTENTES ( 16 )

Villa Nueva  
San Raymundo



## Gráfica No. 2

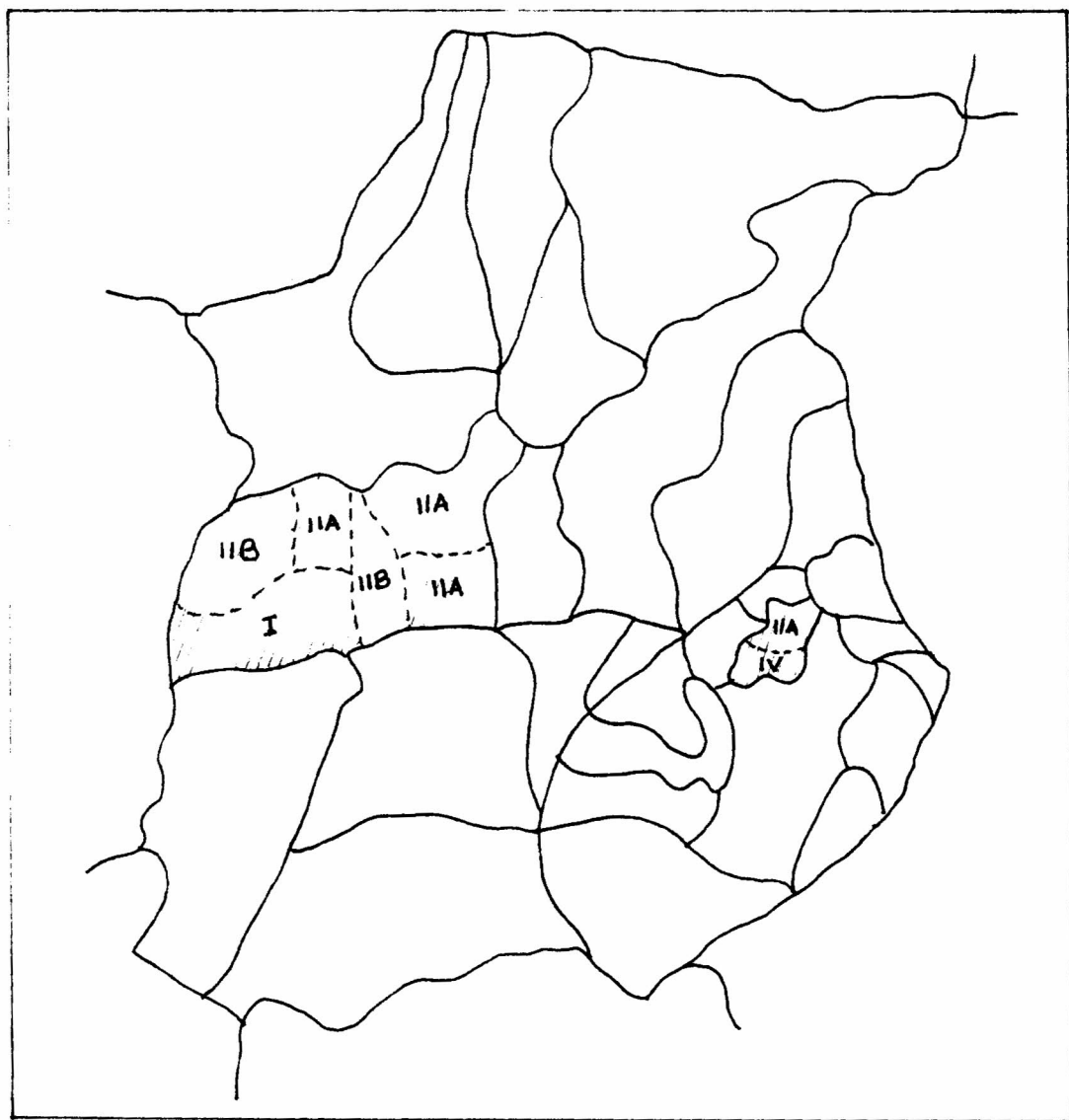
MAPA DE LOS DEPARTAMENTOS DE CHIMALTENANGO Y SACATEPEQUEZ,  
SUS MUNICIPIOS Y EL GRUPO DE SUELOS EXISTENTES

CHIMALTENANGO

Patzún  
Patzicía  
Santa Cruz Balanyá

SACATEPEQUEZ

Jocotenango



Gráfica No. 3

MAPA DEL DEPARTAMENTO DE BAJA VERAPAZ, SUS  
MUNICIPIOS Y EL GRUPO DE SUELOS EXISTENTES

Purulhá



## XII. RESULTADOS Y DISCUSION

En el cuadro No. 3 se presenta la lista de los suelos recolectados y a la par de ellos la identificación de orden, dada a cada cepa aislada de plantas huésped desarrolladas acá. Los suelos en los que no existe ninguna identificación de cepa, fueron suelos en los que no nodularon las plantas y por consiguiente no se aisló ninguna cepa. Solamente en los suelos Morán, Zacualpa, Cimas Volcánicas, Salamá y Guatemala Fase Pendiente se presentó el fenómeno de la nodulación. Las razones por las que la mayoría de suelos no presentó la nodulación pueden ser múltiples y su simple detección como en este caso, implica el montaje de estudios y análisis más profundos que podrían estar dirigidos en varios sentidos tales como: La investigación del manejo del suelo, el análisis más detallado de la situación de niveles de fertilidad, la presencia de antagonistas, la existencia de *Rhizobium* específico a la arveja y otros más que podrían considerarse. El nivel de fertilidad fue analizado para algunos elementos y más adelante se discutirá sobre el mismo en relación a lo observado.

Uno de los objetivos de este trabajo lo constituye observar en forma preliminar el comportamiento de cada cepa en el suelo colectado, nodulando a la variedad de arveja Morses Progress, que sirvió de planta huésped para aislar *Rhizobium*. La observación por ser preliminar no permite seleccionar en forma definitiva cual o cuales cepas son mejores que otras dado que el proceso de selección es lento y necesita varias etapas de verificación, aunque estas observaciones preliminares si pueden ser buen indicador del futuro

comportamiento en ensayos controlados, tomando en consideración que los valores relacionados de nodulación, con el rendimiento de plantas son buenos indicadores de una buena, baja o eficiente nodulación o fijación de nitrógeno atmosférico.

## Cuadro No. 3

Número de orden, Serie de suelos e identificación futura de las cepas nativas colectadas

Suelo No.	Serie de suelo	Clave de identificación asignada
1	Cauqué	
2	Guatemala	
3	Morán	LGAAG1
4	Acasagatlán	
5	Chinautla	
6	Chuarrancho	
7	Subinal	
8	Patzicía	
9	Ptzité	
10	Quiché	
11	Tecpán	
12	Tecpán	
13	Areas Fragasas	
14	Cimas Volcánicas	LGAAG2
15	Suelos de los valles no diferenciados	
16	Totonicapán	
17	Camanchá	
18	Balanjuyú	
19	Salamá	LGAAG3
20	Zacualpa	LGAAG4
21	Guatemala Fase Pendiente	LGAAG5
22	Sholanimá	
23	Suelos poco profundos, Carchá	
24	Suelos poco profundos, Tamahú	

Los valores de peso seco de plantas, peso de nódulos y número de nódulos, han sido tabulados en el cuadro No. 4, en el cuadro No. 5 los análisis físico químicos de los suelos estudiados y en el cuadro No. 6 se presenta una interpretación de los presentes niveles de fertilidad en función de los requerimientos en plantas de arveja.

Tal como se observa en el cuadro No. 4 no todos los suelos nodularon, las causas como se manifestó, pueden ser varias, pero vale la pena observar que una de las principales causas son las características naturales de los suelos en donde se siembra la arveja en Guatemala.

Observese en el reporte del cuadro No. 6 que de los 24 suelos solamente:

- a. Diez y seis reúnen pH adecuado
- b. Trece poseen fósforo adecuado
- c. Cinco poseen buen nivel de Calcio
- d. Siete buen nivel de Magnesio
- e. Uno presenta un nivel adecuado de Cobre
- f. Dos presentan un nivel adecuado de Hierro
- g. Seis presentan un nivel adecuado de Manganeso
- h. Ninguno presenta niveles adecuados de Zinc.

Esta observación hace recordar citas tales como las de Lein, Morales y Col, citados por Solis y Pellecer (17) que dicen que el pH es un elemento influyente en el grado de nodulación, así suelos con problemas de acidez generalmente se acompañan de toxicidad de Aluminio y Manganeso, y la absorción de Fósforo se dificulta. En

este trabajo el pH afecta a los suelos Guatemala (no. 2), Acasaguastlán (No. 4), Chinautla (No. 5), Patzicía (No. 8), Patzité (No. 9).

## Cuaro No. 4

Promedio de valores de las variables: Peso de plantas, Número de peso de nódulos, Índice de tamaño (para dos plantas/bolsa). Ascendentemente, con respecto al peso de materia seca de plantas

TRATAMIENTO			VARIABLE X		
No. Suelo	Serie de suelo	Peso de materia seca (gr)	No. de Nódulos	Peso de nódulos (mgs)	Índice de tamaño NN/PN
2	Guatemala	1.25	----	-----	----
1	Cauqué	1.475	----	-----	----
17	Camanchá	1.85	----	-----	----
3	Morán	1.95	35	0.251	7.17
4	Acasaguastlán	1.975	----	-----	----
15	Suelos de los valles no diferenciados	2.00	----	-----	----
6	Chuarrancho	2.05	----	-----	----
12	Tecpán	2.075	----	-----	----
20	Zacualpa	2.15	50	0.1444	2.88
13	Areas Fragosas	2.175	----	-----	----
22	Sholanimá	2.25	----	-----	----
23	Suelos poco profundos				
	Carchá	2.325	----	-----	----
9	Patzité	2.25	----	-----	----
11	Quiché	2.35	----	-----	----
14	Cimas Volcánicas	2.35	38	0.034	0.89
19	Salamá	2.4	108	0.0927	0.85
10	Poaquil	2.45	----	-----	----
18	Balanjuyú	2.475	----	-----	----
5	Chinautlá	2.55	----	-----	----
8	Patzicía	2.75	----	-----	----
24	Suelos poco profundos				
	Tamahú	2.75	----	-----	----
7	Subinal	2.825	----	-----	----
16	Totonicapán	2.975	----	-----	----
21	Guatemala Fase Pendiente	3.025	74	0.05505	0.74

Cuadro No. 5

## RESULTADOS DEL ANALISIS DEL LABORATORIO DE SUELOS

No. Suelo	SERIE DE SUELO	PH	ANALISIS QUIMICO						ANALISIS FISICO					
			Ug/ml de Suelo		Meq/100ml		Ug/ml de Suelo		%		D.A.	TEXTURA		
			P	K	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn			M.O	
1	Cauqué	6.65	56.48	200	12.10	2.34	3.00	10.50	13.95	7.00	2.43	1.2594	Franco Arenoso	
2	Guatemala	5.20	56.48	480	9.36	1.93	4.50	25.00	23.40	4.90	1.97	1.2433	Franco Arenoso	
3	Morán	6.60	3.46	172	56.90	2.46	1.50	1.25	8.70	2.50	8.15	0.7922	Franco Arenoso	
4	Acasaguatlán	5.70	6.37	176	6.61	2.17	4.00	18.75	60.00	5.00	3.74	1.1400	Franco Arcillo Arenoso	
5	Chinautla	5.65	2.28	184	7.61	2.05	4.00	16.00	60.00	5.90	0.79	1.1242	Franco Arcilloso	
6	Churranchó	5.90	30.99	368	8.73	1.72	3.25	15.75	13.05	3.25	3.48	1.2860	Franco Arenoso	
7	Subinal	5.80	7.69	180	5.99	2.38	3.50	21.25	45.00	4.00	1.77	1.1271	F. Ar. A. Tendencia F.A.	
8	Patzicía	5.20	56.48	240	4.99	0.74	3.25	31.50	14.10	2.15	2.04	1.1120	Franco Arenoso	
9	Patzité	5.65	26.90	320	7.49	1.97	2.75	25.00	29.40	1.90	3.88	0.9480	Franco Arcillo Arenoso	
10	Poaquil	5.75	13.08	340	8.74	1.60	2.25	14.50	10.20	2.00	2.36	0.9935	Franco Arenoso	
11	Quiché	6.35	11.48	220	7.61	1.35	3.50	14.50	6.90	1.70	1.77	1.4135	Franco Arenoso	
12	Tecpán	5.55	12.50	256	7.61	1.64	4.50	15.00	19.50	1.75	2.04	0.9353	Franco	
13	Areas													
	Fragosas	5.70	56.48	264	10.23	1.07	4.00	16.25	45.00	6.30	3.28	1.2194	Franco	
14	Cimas Volc.	5.65	56.48	240	10.61	1.52	2.50	11.25	12.75	3.75	1.38	1.2041	Franco Arenoso	
15	Suelos de													
	Valles no d.	5.95	22.55	128	6.74	1.03	4.00	17.75	6.00	1.50	2.50	1.4533	Franco Arenoso	
16	Totonicapán	6.25	2.57	464	3.37	1.88	2.25	5.25	19.20	2.10	7.55	1.0469	F. Tendencia F. Ar. A	
17	Camanchá	6.40	3.06	248	32.94	1.57	1.50	1.25	40.20	5.40	2.63	0.8903	F. Tendencia F.	
18	Balanjuyú	5.85	6.37	300	8.23	1.64	2.25	16.25	21.30	1.75	3.94	1.2450	Franco Arenoso	
19	Salamá	6.00	56.48	92	7.36	1.23	13.75	50.00	17.10	2.20	0.92	1.4110	Franco Arenoso	
20	Zacualpa	5.95	26.90	308	8.74	1.43	2.75	32.00	25.80	4.65	2.89	1.3325	Franco Arenoso	
21	Guatemala													
	Fase Pend.	5.45	30.99	208	7.49	1.60	2.75	27.50	34.50	2.50	3.94	1.1070	Franco Arenoso	
22	Sholanimá	6.25	10.99	240	12.23	3.44	1.50	4.75	27.00	4.65	18.61	0.8698	Franco	
23	Suelos poco													
	Profun. Carchá	6.65	1.14	80	33.94	3.89	1.25	0.50	19.80	6.40	15.66	0.6914	Franco	
24	Suelos poco													
	Profun. Tamahú	6.40	9.54	240	8.98	2.87	2.00	14.25	60.00	8.30	4.07	1.0338	Franco	

## CLASIFICACION DE NIVELES FISICOS Y QUIMICOS DE LOS REQUERIMIENTOS DE LAS PLANTAS DE ARVEJA (PISUM SATIVUM)\*\*

MUESTRA	PH	Ug/ml de Suelo		Meq/100ml		Cu	Ug/ml de Suelo			%	TEXTURA
		P	K	Ca	Mg		Fe	Mn	Zn		
1	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
2	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
3	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+
4	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-
5	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+
6	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
7	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+
8	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
9	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
10	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
11	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
12	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
13	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+
14	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
15	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
16	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
17	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+
18	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
19	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
20	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
21	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+
22	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+
23	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+
24	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

\*\* CONSULTA PERSONAL CON EL INGENIERO AGRONOMO SALVADOR CASTILLO. CATEDRATICO DE LOS CURSOS DE SUELOS Y FERTILIDAD, FACULTAD DE AGRONOMIA, UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.

RANGOS DE ACEPTACION

PH = 5.7 - 7  
 Ca = 12.18 Meq/100grs  
 K = Ug/ml Suelo 150-250  
 Mg = 2.3 Meq/100ml  
 P = 12-18 Ug/ml suelo

Cu = 7.2 Ug/ml suelo  
 Fe = 32 Ug/ml suelo  
 Mn = 34 Ug/ml suelo  
 Zn = 9.5 Ug/ml suelo

+ NIVELES ADECUADOS  
 - NIVELES INADECUADOS



MATERIA: Orgánica 7-5-8  
TEXTURA: Franco  
 Franco Arenosa  
 Franco Arcillosa

Tecpán (No. 12), Areas Fragasas (No. 13), Cimas Volcánicas (No. 14), Guatemala Fase Pendiente (No. 21), el cual establece un rango de 5.20 a 5.7, dando como consecuencia un mal desarrollo de plantas y una nula o baja nodulación. El pH no debe de considerarse aislado y debe de observarse que casi la mitad de los suelos carecen de un buen nivel de fósforo, elemento del que dependen procesos metabólicos vegetales importantes como la fotosíntesis, glucólisis, respiración y síntesis de ácidos grasos (5). Todo ello nos permite llegar a determinar que en algunos suelos deficientes de fósforo se presentan plantas con mal desarrollo así como un sistema radicular deficiente para poder llegar a establecer una simbiosis adecuada Rhizobium - Planta.

Sin considerar el Potasio que en los suelos de Guatemala es alto observamos que el Calcio y el Magnesio fueron muy bajos en casi todos los suelos, en relación a esto una de las citas de Kolling (13 dice: El Calcio es importante en el proceso de infección por las raíces siendo una exigencia mayor para las leguminosas de clima templado que para las de clima tropical. No es bien conocida la acción específica del Calcio en la nodulación, pero parece estar en una exigencia para la división celular de raíces necesaria para la formación de nódulos.

Por otro lado Devlin (5) indica que el Magnesio interviene fundamentalmente en la fotosíntesis, por ser parte de la molécula de clorofila, por lo que una deficiencia del mismo dará como síntomas un desarrollo vegetativo mediano y como consecuencia una baja fijación de nitrógeno atmosférico.

El análisis nutricional de los suelos en relación a la exigencia de las plantas es un elemento que en alguna medida puede explicar porqué un bajo número de plantas nodularon en los suelos estudiados.

Aún más una observación de los elementos menores presente en los suelos confirman la situación poco adecuada para el crecimiento de la arveja ya que ni el Cobre, Hierro, Manganeso y Zinc estuvieron presentes en la mayoría de los suelos.

Concluyendo esta parte de la discusión con una cita de Graham (10) podríamos decir que: La deficiencia de cualquier elemento afecta al crecimiento de la planta y la asociación simbiótica.

Analizada en los párrafos anteriores la posible causa de la baja nodulación encontrada en los 24 suelos colectados, y que trajo como consecuencia el aislamiento de solamente 5 cepas de Rhizobium, vale la pena hacer algunos comentarios sobre las plantas huéspedes.

En el cuadro No. 4 nos muestra que la nodulación solo se dió en los suelos Morán, Zacualpa, Cimas Volcánicas, Salamá y Guatemala Fase Pendiente. Cada uno de ellos con racterísticas diferentes tal como se resumen en el cuadro No. 7, características muy parecidas al resto de los suelos, en cuanto que poseen bajos niveles de Materia Orgánica, Calcio, Magnesio y los elementos menores Cobre, Hierro, Manganeso y Zinc.

Los indicadores de tamaño basados en la relación número de nódulos partido peso de nódulos de las plantas cosechadas nos muestran un bajo desarrollo nodular que como era de esperarse fué provo

cado por la falta de condiciones apropiadas de nutrición en la misma. Si consideramos el hecho de que una buena cepa se origina de un nódulo grande y rosado posiblemente tendríamos que descartar para futuras pruebas las cepas obtenidas en los suelos Zacualpa, Cimas Volcánicas, Salamá y Guatemala Fase Pendiente y darle oportunidad solo a la cepa obtenida en los suelos Morán en la que se observó un índice de tamaño nodular superior a las demás aunque debe de observarse que este suelo presentó buen nivel de Calcio y Magnesio así como de pH aunque bajo nivel de Fósforo lo cual fué la posible causa de un menor rendimiento de materia seca en relación a las otras plantas noduladas en los otros suelos.

El asunto de darle o no oportunidad futura de evaluación para fijación de nitrógeno a las cepas coleccionadas reviste un carácter de criterio variable, bajo las circunstancias en que se presenta la nodulación en las plantas huésped ya que podría ser posible obtener en condiciones no limitantes de nutrientes una buena respuesta así como una mala respuesta, lo cual se podría corroborar bajo un ambiente controlado de desarrollo vegetativo e inoculación de la bacteria en forma adecuada.

Cuadro No. 7

RESUMEN DE LOS VALORES DE RANGO DE ACEPTACION DE ELEMENTOS NUTRICIONALES PARA  
EL DESARROLLO DE LAS PLANTAS DE ARVEJA

No. Suelo	SERIE DE SUELO	PH	Ug/ml de Suelo		Meq/100ml			Ug/ml de Suelo			% M.O.	TEXTURA
			P	K	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn		
3	Morán	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+
14	Cimás Volcánicas	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
19	Salamá	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
20	Zacualpa	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
21	Guatemala Fase Pendiente	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+

### XIII. CONCLUSIONES

1. De los 24 suelos bajo estudio únicamente las plantas que crecieron en los suelos Moran (No. 3), Cimas Volcánicas (No. 14), Salamá (No. 19), Zacualpa (No. 20) y Guatemala Fase Pendiente (No. 21), nodularon.
2. De los 5 suelos anteriormente mencionados únicamente las plantas que crecieron en los suelos Morán (no. 3) presentaron nódulos grandes las demás tuvieron formación de nódulos pequeños.
3. La causa principal de que las plantas no nodularan puede suponerse fué la baja fertilidad de los suelos en donde se siembra arveja en Guatemala y/o la posible inexistencia de *Rhizobium* nativo.
4. Las condiciones nutricionales de las plantas noduladas que en su mayoría produjo nódulos de poco peso y tamaño, no permite inferir cual sería el comportamiento de las cepas aisladas, en plantas nutricionalmente equilibradas.

#### XIV. RECOMENDACIONES

1. Evaluar las cepas colectadas y aisladas, bajo condiciones controladas de nutrición de la planta, para determinar el potencial individual de cada una de ellas.
2. Se recomienda efectuar estudios de campo orientados a evaluar las relaciones suelo-planta de arveja-Rhizobium que permitan tener una situación más clara de lo detectado en este estudio.

## XV BIBLIOGRAFIA

1. AGUILERA MEJIA, R. s.f. La fijación de  $N_2$  atmosférico por Rhizobium su importancia y alternativa para Guatemala. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 14 p.
2. ALAIDES, P.R. 1980. Curso sobre leguminosas y Rhizobium. Brasil, Centro de Energía Nuclear de Agricultura. s.p.
3. BROSE, E. 1979. Importancia das leguminosas hospedeiras. Porto Alegre, Bra. s.n. 11 p.
4. CARDOSO, E.J. s.f. Efeito de fatores biológicos e ñao biológicos sobre a nodulcao e fixacao de  $N_2$ . Brasil, s.n. 26 p.
5. DEVLIN, R.M. 1980. Fisiología vegetal. 3 ed. Barcelona, Omega. 517 p.
6. DOBERAINER, J. 1965. Especificidad hospedeira, em variedades de soja, na simbiosis com Rhizobium. Brasil, Instituto de Pesquisas e Experimentacao Agropecuarias. Boletín no. 22. 210 p.
7. \_\_\_\_\_. 1978. Limitations and potential for biological nitrogen fixation in the tropics. New York, Plenum Press. 389 p.
8. FRENCH, E.R. ; HEBERT, T.T. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. 2 ed. Costa Rica, IICA. 289 p.
9. GRAHAM, P.H. s.f. Importancia en la nodulación y fijación del nitrógeno por leguminosas, con algunas sugerencias para mejorarlo. Cali, Col. , CIAT. 26 p.
10. \_\_\_\_\_. s.f. Problemas de la nodulación y fijación de nitrógeno en la simbiosis Rhizobium - Phaseolus vulgaris. Cali, Col. CIAT. 28 p.
11. GUATEMALA. DIRECCION GENERAL DE ESTADISTICA. 1979. Tercer censo nacional agropecuario. Guatemala, 382 p.
12. HALLIDAY, J. s.f. Collection isolation of the strain of Rhizobium phaseoli. s.n.t. 35 p.
13. KOLLING, s.f. Efeito de fatores ñao biológicos sobre na nodulcao. Porto Alegre, Bra. , Secretaría de Agricultura. s.p.
14. MENDEZ BARRIOS, J.C. 1982. 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 de Guatemala, Facultad de Agronomía. 42 p.
15. MICROBIOLOGICAL RESOURCES CENTER. 1978. Rhizobium. Porto Alegre, Bra. MIRCEN. Informativo no.2. s.p.

16. SIMMONS, Ch; TARANO, J.M; PINTO, J.H. 1959. Clasificación de reconocimiento de los suelos de la república de Guatemala. Trad. por Pedro Tirado Sulsona. Guatemala, José de Pineda Ibarra. 1000 p.
17. SOLIS PELLEGER, A.P. 1980. Evaluación de la efectividad de inoculación de cepas mixtas de Rhizobium phaseoli, en dos variedades de frijol común. Tesis Lic. C.C. Biológicas. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 96 p.
18. PEUSCHER, H. ; ADLER, R. 1982. El suelo y su fertilidad. México, CECSA. 509 p.
19. VINCENT, J. 1975. Manual práctico de rizobiología. Buenos Aires, Hemisferio Sur. 200 p.



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE AGRONOMIA

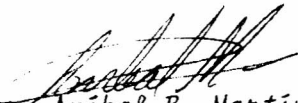
Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia
Asunto

" I M P R I M A S E "

  
Ing. Agr. Anibal B. Martinez M.  
DECANO

