



Organo oficial de
divulgación de la
Sociedad Mexicana de
la Ciencia del Suelo A.C.

ISSN 0187-5779

TERRA

Volumen 8

Número Especial

1990

DIVISION II

INDICE

- M**orfología y fisiología del frijol
(*Phaseolus vulgaris* L.).
JOSUE KOHASHI-SHIBATA 3
- Relaciones agua-planta en frijol.
ALFONSO LARQUE-SAAVEDRA y
CARLOS TREJO LOPEZ 18
- Composición química del frijol.
MARIA LUISA ORTEGA DELGADO 23
- Fijación simbiótica de nitrógeno en frijol.
RONALD FERRERA-CERRATO,
JUAN JOSE ALMARAZ SUAREZ,
MARIA DE LAS NIEVES RODRIGUEZ
MENDOZA y DAVID ESPINOSA VICTORIA 35
- Problemas de la nodulación y la fijación de
nitrógeno en *Phaseolus vulgaris* L.: Una
reevaluación
PETER H. GRAHAM 71
- Producción y estado actual de los inoculantes
para leguminosas en México.
GREGORIO TRUJILLO GONZALEZ 83

SOCIEDAD MEXICANA DE LA CIENCIA
DEL SUELO, A.C.

COMISION EDITORA

DR. JORGE D. ETCHEVERS B., Editor
DR. ANDRES AGUILAR SANTELISES
SRA. CARELINA C. AALMERS DE AGUILAR

EDITORES DE ESTE NUMERO ESPECIAL

DR. RONALD FERRERA-CERRATO
M.C. DAVID ESPINOSA VICTORIA

MESA DIRECTIVA 1988-1990

DR. ANDRES AGUILAR SANTELISES,
Presidente
DR. LUIS FERNANDO FLORES LUI,
Vicepresidente
M.C. JOSEFINA PAREDES GONZALEZ,
Tesorero
DR. GABRIEL ALCANTAR GONZALEZ,
Secretario Técnico
DR. RAMON FERNANDEZ GONZALEZ,
Secretario de Relaciones Públicas
M.C. JORGE L. TOVAR SALINAS,
Secretario de Eventos Nacionales e Internacionales
DR. JAIME XAVIER UVALLE BUENO,
Vocal
M.C. OCTAVIO RODRIGUEZ CUIEL,
Vocal

"TERRA", Registro en Trámite. Organó oficial de
divulgación de la Sociedad Mexicana de la Ciencia
del Suelo, A.C.

Volumen 8, Número Especial, 1990.

ISSN 0187-5779

Los artículos publicados son responsabilidad
absoluta de los autores. Se autoriza la
reproducción parcial o total del contenido de esta
revista, citándola como fuente de información.

Las contribuciones a esta revista deben enviarse, en
original y dos copias, redactadas conforme a las
Normas para Publicación en la Revista TERRA, al:
Editor de la Revista TERRA, Sociedad Mexicana de la
Ciencia del Suelo, A.C. Apartado Postal 45, 56230
Chapingo, Edo. de México, México.

INDICE

EDITORIAL	1
PROLOGO	2
Morfología y fisiología del frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.). JOSUE KOHASHI-SHIBATA.	3
Relaciones agua-planta en frijol. ALFONSO LARQUE-SAAVEDRA y CARLOS TREJO LOPEZ.	18
Composición química del frijol. MARIA LUISA ORTEGA DELGADO.	23
Fijación simbiótica de nitrógeno en frijol. RONALD FERRERA-CERRATO, JUAN JOSE ALMARAZ SUAREZ, MARIA DE LAS NIEVES RODRIGUEZ MENDOZA y DAVID ESPINOSA VICTORIA.	35
Problemas de la nodulación y la fijación de nitrógeno en <i>Phaseolus vulgaris</i> L.: Una reevaluación . PETER H. GRAHAM.	71
Producción y estado actual de los inoculantes para leguminosas en México. GREGORIO TRUJILLO GONZALEZ.	83

EDITORIAL

El presente número es el primero de la serie de números especiales que publicará TERRA. Contiene los trabajos presentados en el Simposio sobre La Fijación Biológica del Nitrógeno en Frijol Común (*Phaseolus vulgaris*) realizado en Zacatecas dentro del marco del XX Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo en 1986 y cuyo trabajo editorial fue realizado por el Dr. Ronald Ferrera-Cerrato y por el MC. David Espinosa Victoria.

De acuerdo con la política editorial establecida, en los números especiales tendrán cabida los trabajos presentados en eventos académicos que patrocine la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo y cuyo comité organizador asuma la responsabilidad del trabajo editorial. El crédito de la publicación es, en consecuencia, del grupo de personas responsables de preparar y pulir las contribuciones. La Comisión Editorial de la Sociedad sólo es el vehículo que facilita, a través de sus canales de acción, que esta valiosa información llegue a manos de los usuarios interesados. Se ha adoptado la modalidad de números especiales para no entorpecer el proceso regular de publicaciones de contribuciones que los socios envían a TERRA. De esta manera se respeta el orden cronológico de llegada de los trabajos y no se demora su publicación.

Esperamos que el contenido de este primer número especial contribuya a acrecentar los conocimientos sobre fijación biológica de nitrógeno en el grupo de personas interesados en ella. De esta manera la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo y TERRA cumplen con el imperativo de difundir la ciencia en México.

El Editor.

PROLOGO

El tema de la fijación biológica de nitrógeno atmosférico es apasionante porque ofrece la posibilidad de abastecer de ese nutrimento esencial a ciertas plantas y de restituir en buena medida la fertilidad del suelo sin la aplicación de fertilizantes nitrogenados. Aun antes de nuestra era, filósofos y científicos como Teofrasto, Columela, Catón y Virgilio hacen referencia a la bondad de las leguminosas para restituir al suelo su fertilidad cuando se incorporan como abonos verdes o simplemente se incluyen en la rotación de cultivos, aunque para ellos era desconocida la explicación de este comportamiento. No fue sino hasta fines del siglo pasado cuando Hellriegel, Wilfarth y Beijerinck demostraron la naturaleza microbiológica de la fijación de nitrógeno atmosférico en simbiosis con las leguminosas.

Cuando este fenómeno microbiológico se estudia aplicado al frijol, adquiere singular importancia por tratarse de un alimento básico de la población latinoamericana. Hace más de veinte años se encuentran en el mercado nacional, inoculantes para semilla de frijol; sin embargo, su utilización no se popularizó debido a la inconsistencia de los resultados, bien sea por problemas de viabilidad, de incompatibilidad de las cepas disponibles, o de incapacidad de las cepas introducidas para competir con las cepas nativas menos eficientes o con otros enemigos presentes en el suelo. Los cultivares de frijol de las zonas tropicales cálido-húmedas de México normalmente muestran un grado aceptable de nodulación efectiva; sin embargo, en altitudes superiores a los 1500 msnm y con clima semiárido, la nodulación espontánea es poco efectiva y para obtener rendimientos aceptables de frijol se recomiendan aplicaciones de 40 a 80 kg de nitrógeno por hectárea. La insuficiencia de la fijación biológica de nitrógeno en frijol, ha sido un tema de estudio en el Colegio de Postgraduados desde hace mucho tiempo. En 1975 se escribió la primera tesis de postgrado sobre este tema, en la que se presenta el efecto depresivo del nitrógeno y estimulante del fósforo sobre la nodulación; después siguieron otros estudios de competencia entre cepas nativas e introducidas; posteriormente, con el apoyo y coordinación del Organismo Internacional de Energía Atómica y mediante el uso de nitrógeno isotópico, se evaluó bajo condiciones de campo, la magnitud de la fijación de nitrógeno atmosférico en varios genotipos de frijol bajo diferentes prácticas de manejo y fertilización. Más recientemente, con el desarrollo de la Sección de Microbiología de Suelos del Centro de Edafología, ha sido posible entrar en el campo de selección, aislamiento y prueba de diferentes cepas de *Rhizobium leguminosarum* bv *phaseoli* en asociación con distintos genotipos de frijol.

La complejidad y diversidad de los factores que intervienen en la magnitud y eficiencia de la fijación de nitrógeno atmosférico por frijol, justifica el enfoque multidisciplinario de su estudio. Los trabajos presentados en este Simposium seguramente contribuirán al mejor conocimiento del tema, a fin de que cada día pueda aprovecharse más eficientemente esa capacidad de la simbiosis *Phaseolus-Rhizobium*, para beneficio de la agricultura y la alimentación.

DR. ROBERTO NUÑEZ ESCOBAR

MORFOLOGIA Y FISIOLOGIA DEL FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.)

Josué Kohashi-Shibata

Centro de Botánica, Colegio de Postgraduados,
56230 Chapingo, México.

RESUMEN

En el frijol existe una estrecha relación entre la morfología y fisiología, reflejada en la plasticidad fenotípica y el rendimiento biológico y agronómico. Asimismo, el estudio de los componentes del rendimiento, de la abscisión de los órganos reproductivos, del aborto de las semillas y de las relaciones fuente-demanda podrá contribuir a entender la operación de los factores que limitan el rendimiento.

INTRODUCCION

El fenotipo de una planta es la resultante de la interacción entre el genotipo ("patrimonio genético") y el medio o ambiente. Dicha interacción se realiza mediante los procesos fisiológicos cuyo estudio corresponde a la fisiología vegetal. Entre las características del fenotipo está la morfología, y el rendimiento, este último de naturaleza antropocéntrica. En las plantas cultivadas podemos considerar que a nivel de agricultor, el genotipo está representado por el patrimonio genético de la variedad, que en realidad es un conjunto de genotipos. El medio está representado por factores del clima, del suelo y bióticos.

En sus siembras, el agricultor pretende alcanzar uno o más de los siguientes objetivos: incremento en el rendimiento, mayor seguridad en la cosecha o mayor redituabilidad de su inversión. Para lograr dichos objetivos, puede manipular algunas características de la planta, por ejemplo, el patrimonio genético por medio de la selección de sus variedades; el fenotipo mediante la poda, el uso de espalderas, el injerto, etc. o finalmente puede manipular el medio. Los factores del clima (fotoperíodo, temperatura, humedad relativa atmosférica, radiación solar) son difícilmente manipulados a nivel de campo, y entonces se recurre a determinar la adaptación de un cultivo a una región con cierto clima, mediante experimentos con diferentes fechas de siembra. En ellos tomamos en cuenta que los factores del clima en una región van cambiando durante el año. Aquí es oportuno recalcar la importancia del conocimiento y caracterización del clima (temperatura máxima y mínima, precipitación, fotoperíodo y, de ser posible, nivel de energía solar global).

Es claro, por otro lado, como lo indican los trabajos presentados en este Congreso, que los factores del suelo (fertilidad, agua en el suelo, microbiología, materia orgánica, pH, etc.) son factibles de ser manipulados,

excepción hecha de la textura. De igual manera, los factores bióticos (la flora microbiana útil del suelo, las arvenses o malezas, los patógenos del suelo y de la porción aérea de la planta, insectos y otros animales) pueden ser también manipulados. A éstas y otras operaciones que realiza el hombre, tales como: elección de la densidad, método y profundidad de siembra, asociación de cultivos, etc. se les conoce como prácticas agrícolas. Todas ellas tienen por objeto modificar las condiciones del ambiente para favorecer el desarrollo de la planta, y que ésta exprese al máximo su potencial de rendimiento. ¿Cuál es la mejor combinación de genotipo, ambiente y prácticas agrícolas? Para determinar en forma lógica esta combinación, tenemos que conocer nuestro ambiente y la planta. De ésta última, hay que conocer la morfología, la anatomía y su funcionamiento o fisiología.

Frijol más maíz forman un "binomio" de gran importancia socioeconómica. En muchas regiones ambos cultivos se siembran asociados participando así en la alimentación de nuestro pueblo, en donde el maíz proporciona la mayor parte de los carbohidratos y el frijol la mayor parte de las proteínas y una cierta proporción de carbohidratos. El fruto o vaina inmadura del frijol (ejote) se consume como verdura y sus semillas frescas (por ejemplo, "tzamá" en Yucatán) o secas, se utilizan en diversos guisos.

La producción anual en México es alrededor de 1.5 millones de toneladas. El consumo nacional *per capita* es alrededor de 20 kg por año.

El empleo de la semilla seca del frijol para la alimentación constituye el uso más importante para lo cual se cultiva esta especie. Asimismo, la semilla es el medio de propagación. Las diversas variedades de frijol se caracterizan por el tamaño, color y brillantez de la testa y forma de las semillas, mismas que el público consumidor asocia a ciertas características de sabor, facilidad de cocción, etc. Es importante hacer notar que una variedad de frijol se denomina

por su nombre común. Por ejemplo, Flor de Mayo se asigna a un tipo de semilla que puede corresponder a variedades con diferentes fenotipos, por ejemplo de mata, de guía corta o de guía larga.

MORFOLOGIA

El conocimiento de la morfología es importante porque en el frijol, como en las demás especies vegetales, existe una relación muy estrecha entre la morfología de la planta y su fisiología.

La semilla consta de testa, que envuelve al embrión, el cual está formado por los cotiledones y por el eje embrional. Este, a su vez, está constituido por la plúmula, cuyo desarrollo dará origen al vástago, y de la radícula que dará origen a la raíz pivotante. La semilla es ex-albuminosa, es decir, a su madurez carece de endospermo. Según CIAT (sin fecha), calculando con base en la materia seca, la testa representa el 9%, los cotiledones el 90% y el 1% corresponde al resto del embrión.

Cuando a la semilla viable se le proporciona humedad, buena aireación y cierta temperatura, germina. Es decir, el embrión que estaba en reposo, reanuda su crecimiento. Lo primero que asoma de la testa es la radícula, y después la plúmula. Esta última tiene la forma de gancho y en un extremo lleva los cotiledones, los cuales emergen del suelo, por lo cual se le denomina planta epígea.

La radícula continúa creciendo y se convertirá en la raíz primaria que, a su vez, de la parte distal emite raíces secundarias. Las raíces secundarias dan origen a raíces terciarias, y éstas a cuaternarias y así sucesivamente. En la parte subapical de toda raíz en crecimiento se pueden apreciar los pelos radicales o absorbentes, los cuales en conjunto con la región subapical, juegan un papel importante en la absorción de agua y nutrimentos. El sistema radical, según CIAT (sin fecha), puede ser superficial, fibroso o

pivotante, incluso dentro de una misma variedad, aun cuando generalmente se distingue la raíz principal o primaria. Debido a la simbiosis que puede establecerse entre el frijol y bacterias del género *Rhizobium*, la raíz puede presentar nódulos distribuidos en la parte superior y media del sistema radical y, por lo tanto, el aspecto y tamaño que presente, dependen de características del suelo tales como la textura, estructura, porosidad, capacidad de retención de humedad, temperatura, contenido de nutrimentos, etc. (CIAT, sin fecha).

Vástago o porción aérea: el tallo principal, el cual se origina directamente del desarrollo de la plúmula, tiene los dos cotiledones en posición opuesta, los cuales al cabo de unos 10 días se desprenden. El sitio donde se insertan los cotiledones constituye el primer nudo. En el siguiente nudo, también en posición opuesta, se localizan las hojas primarias, que son simples. El resto de las hojas se encuentra en posición alterna y es compuesto trifoliolado. En las axilas de los cotiledones, de las hojas primarias o de las hojas compuestas, se encuentra un complejo de yemas llamadas axilares, las cuales pueden dar origen a un tallo secundario o en ciertos nudos, en la época reproductiva, a una inflorescencia. La porción de tallo comprendida entre dos nudos constituye un entrenudo. Diversos investigadores, entre ellos Harper (1977), han propugnado la idea de conceptuar al vástago o porción aérea de la planta como un conjunto de módulos, que tiene un sistema radical común. Cada unidad modular está constituida de un entrenudo, la hoja correspondiente en la parte superior, y las yemas que subtiende. A esta unidad se le da el nombre de fitómero. Esta concepción biológica es importante, porque considera a la planta como una población de fitómeros en diverso grado de desarrollo. De esta manera podemos hablar de una demografía o estudio poblacional de fitómeros, con fitómeros viejos, maduros y jóvenes, en diferentes proporciones, con características fisiológicas diferentes y que responden a los factores del medio de acuerdo a su edad. En el caso de un estrés o agobio, los fitómeros que están en

activo crecimiento serán los más afectados en su tamaño, y aquellos que hayan completado su desarrollo serán menos afectados.

El tallo puede seguir creciendo debido a la actividad de la yema apical. En el caso de plantas de hábito indeterminado, esta yema puede permanecer en estado vegetativo durante toda la vida de la planta. Estas plantas pueden ser arbustivas como los frijoles "mateados", tipo II, o tener una guía más larga y ser de "media guía", o de "guía larga", dando otros tipos de plantas (tipo III y IV), pudiendo ser trepadora la guía o no serlo. En contraste, en algunas variedades, la yema apical tanto del tallo principal como de las ramificaciones, durante la época reproductiva, se puede transformar en yema floral, con lo cual dicho eje cesa su crecimiento, exhibiendo un hábito determinado. Dentro de este hábito existe un solo tipo de planta que es el de mata, tipo I. El hábito, como veremos después, es muy importante, por sus implicaciones agronómicas y fisiológicas.

Las flores ocurren en inflorescencias en racimo, y se van desarrollando de la base de la inflorescencia hacia el ápice (Figura 1). Esta secuencia del desarrollo es importante porque las primeras en abrir o presentar la antesis son las que tienen mayor probabilidad de transformarse en vainas normales. El fruto es una vaina que consta de semillas y de pericarpio (la vaina sin las semillas). Una descripción de la anatomía y morfología ha sido hecha por Engleman (1979).

FISIOLOGIA

Se tratarán primero algunos conceptos generales que son necesarios para entender los resultados de las investigaciones que más adelante se exponen.

Fuente y Demanda

Todas aquellas regiones productoras o exportadoras de fotosintatos se consideran como "fuente" (fuente de fotosintatos). Estas

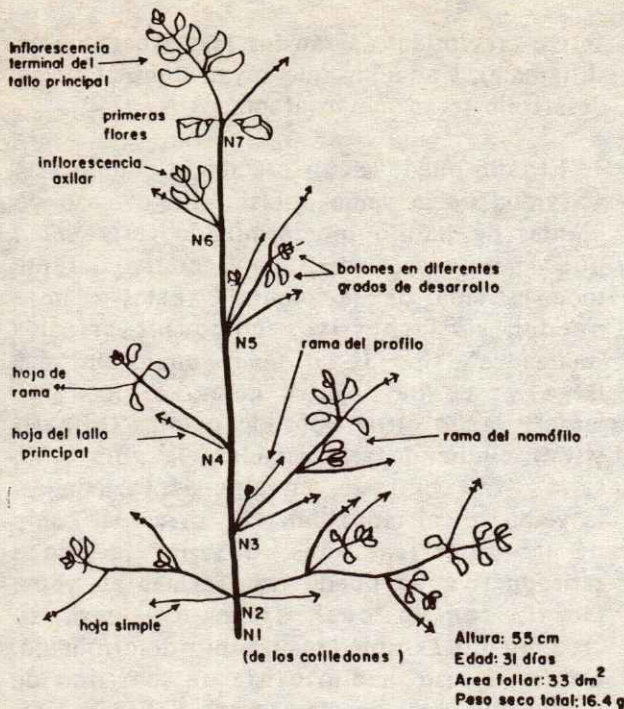


Figura 1. Diagrama de la planta del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv Cacahuete 72, al inicio de la floración.

son principalmente las hojas, pero pueden ser raíces carnosas o en cierto momento los tallos y raíces que están re-exportando fotosintatos que almacenaron en forma temporal. Por otro lado, todos aquellos órganos o parte de ellos que se encuentran en crecimiento activo y requieren o demandan fotosintatos se les considera "demanda" (demanda fisiológica). Estas pueden ser, por ejemplo, las raíces jóvenes, las hojas jóvenes que importan fotosintatos, tallos especialmente en sus porciones apicales, pero muy especialmente las vainas y semillas durante la época reproductiva, ya que representan alrededor del 40% de la biomasa de una planta, y además acumulan los fotosintatos en un lapso de alrededor de la mitad del periodo de desarrollo de la planta.

Tanto en el caso de la fuente como en el de la demanda se puede hablar del "tamaño" que puede ser el área foliar en el primer caso, o el número de botones y flores en el segundo, o de la "actividad", que puede ser la tasa de asimilación neta o la tasa fotosintética en el

caso de la fuente, y la tasa de crecimiento en el de la demanda. El producto de tamaño por actividad nos da la potencia de la fuente o de la demanda. Lo importante es que se establecen relaciones dinámicas entre ambas, de tal manera que la potencia de una puede ser mayor que la de la otra. Lo ideal es que en todo momento exista un equilibrio, y la potencia de la fuente sea igual a la de la demanda. En caso contrario, la fuente o la demanda pueden actuar como factores limitantes del crecimiento o del rendimiento mismo.

Rendimiento y sus Componentes

El rendimiento es la expresión fenotípica, resultante final de los procesos fisiológicos que se reflejan en la morfología y en la fisiología de la planta.

El rendimiento puede referirse a la cantidad total de materia seca producida por la planta (incluyendo la raíz y los órganos útiles al hombre) en cuyo caso se llama rendimiento biológico o biomasa, o puede referirse exclusivamente a aquellos órganos útiles al hombre en cuyo caso lo llamamos rendimiento agronómico (también llamado en inglés rendimiento económico). Hemos preferido no utilizar la expresión "rendimiento económico" porque ésta tiene un significado propio en el campo de la Economía.

Debido a razones operativas de orden práctico, tanto en el caso del rendimiento biológico como en el del agronómico, el peso seco se refiere al de la materia seca que aún contiene un remanente de alrededor de 6 a 10% de agua.

En el rendimiento está implícito el factor tiempo. Así pues, si queremos comparar dos variedades de frijol de diferente precocidad estrictamente tendremos que dividir el rendimiento biológico o el agronómico entre los días a la madurez. Con ello tendremos una estimación de la tasa fotosintética (g de peso seco total acumulado $m^{-2} día^{-1}$) o de la tasa de rendimiento de semilla (g de semilla producidos $m^{-2} día^{-1}$).

El rendimiento agronómico (referido en la mayor parte de los casos simplemente como "rendimiento"), por ejemplo de semilla en el frijol, es la resultante de eventos previos que conducen a la formación de tallos, hojas, flores, raíces, es decir, de una "infraestructura" sin la cual sería imposible lograr algún rendimiento.

Si deseamos saber en qué forma influyen en el rendimiento los diversos factores del medio, una práctica agrícola (irrigación, fertilización, por ejemplo) o la variedad misma, es importante conocer, mediante el análisis de crecimiento, la dinámica de dicho crecimiento; asimismo, desglosar el rendimiento en sus componentes.

Para esto último se procede, paso a paso, a considerar de qué elementos está constituido el rendimiento. Por ejemplo, si lo expresamos como peso de semilla m^{-2} , dicho peso sería equivalente al producto de los componentes: número de semillas m^{-2} y tamaño de semilla (peso medio de una semilla). A su vez, el número de semillas tendría como componentes el número de vainas normales a la cosecha y el número promedio de semillas por vaina, y así sucesivamente (Figura 2).

En las transformaciones de los órganos reproductivos, y cuya secuencia conduce a la formación de la semilla, ocurren diferentes fenómenos fisiológicos, tales como la polinización y la fertilización, la abscisión de órganos reproductivos y el aborto de algunas semillas, que contribuyen a abatir el rendimiento.

El análisis de los componentes del rendimiento nos permite saber cual de ellos es el que limita en mayor grado el rendimiento en una situación dada, para emprender estudios dirigidos a superar esta limitación.

Plasticidad Fenotípica

Plasticidad fenotípica o simplemente plasticidad, es la aptitud o grado en que un genotipo dado puede variar fenotípicamente

bajo diferentes ambientes. Esta variación consiste en cambios morfológicos, como grado de ramificación, tamaño y grosor de las hojas, número de flores; o fisiológicos, como velocidad de fotosíntesis y de transpiración, tasa de asimilación neta, etc.

Diferentes caracteres, órganos o estructuras, en una planta presentan distinto grado de plasticidad, y la respuesta conjunta es lo que conforma la plasticidad a nivel de la planta entera. Así, algunos caracteres son constantes, poco plásticos, y son los que se utilizan en taxonomía para la clasificación, por ejemplo, la forma de las hojas, de las flores. Otros caracteres, en cambio, son muy variables, muy plásticos (CIAT, sin fecha). Asimismo, en lo que toca a los componentes del rendimiento en el frijol, algunos como el tamaño de la semilla son poco plásticos; en cambio, otros como el número de vainas, son muy plásticos.

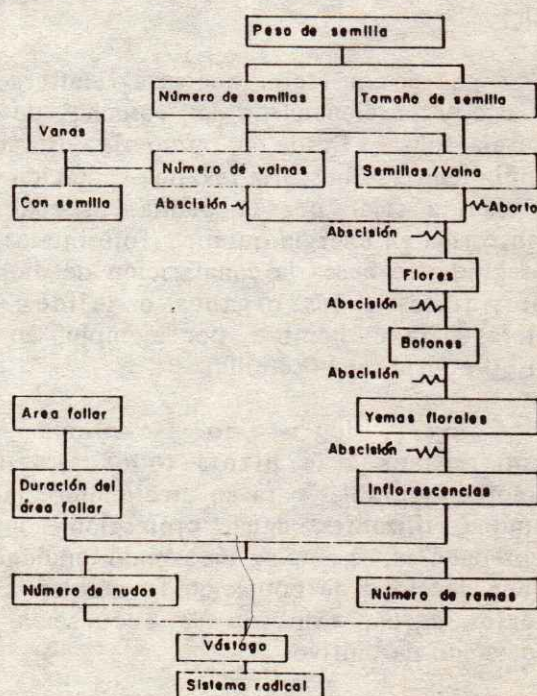


Figura 2. Componentes del rendimiento y abscisión de órganos reproductivos y aborto de semillas como factores que contribuyen a disminuir el rendimiento.

Una variedad de frijol muy plástica responderá con fuertes cambios morfológicos o fisiológicos a una variación en el ambiente, variación que puede causar en un caso extremo, condiciones de estrés o agobio en la planta. El frijol de hábito determinado en contraste con el de hábito indeterminado es poco plástico. La hipótesis es de que las variedades de hábito indeterminado tienen un menor grado de domesticación (entendiendo por tal, la intervención del hombre), y por ende, mayor grado de plasticidad que las de hábito determinado.

El grado de plasticidad puede medirse por el grado de cambio de un carácter cuando la planta está sujeta a diferentes intensidades de un factor ambiental bajo estudio, por ejemplo, la densidad de población, como se ejemplifica en la parte correspondiente a resultados.

La Eficiencia de la Conversión de la Energía Solar

Se podría considerar que la agricultura es el arte y la ciencia de la "cosecha" de la energía solar. Desde el punto de vista del rendimiento, se busca la máxima captación de la energía solar por la planta, la cual la transforma en energía química (fotosintatos) y enseguida, se busca la canalización de dichos fotosintatos a los órganos o tejidos de interés para el hombre, por ejemplo, en el frijol, podría ser la semilla.

¿Cómo se logra esto? Además de proporcionar a la planta todos aquellos factores favorables para su crecimiento, tales como fertilizantes, agua, protección contra depredadores, se emplea un arreglo topológico y una densidad de población favorables. En ciertos casos, también se recurre a la asociación de cultivos.

¿Cuánta energía solar se recibe? En un área de suelo se recibe diariamente una cierta cantidad de energía solar total, llamada energía solar global. Los datos del Observatorio de Radiación Solar del Instituto

de Geofísica de la Universidad Nacional Autónoma de México, indican para la Ciudad de México valores en días soleados de $20-25 \text{ MJ m}^{-2} \text{ día}^{-1}$ ($4,800-5,900 \text{ kcal m}^{-2} \text{ día}^{-1}$) y en días nublados alrededor de $6-10 \text{ MJ m}^{-2} \text{ día}^{-1}$ ($1,440-2,400 \text{ kcal m}^{-2} \text{ día}^{-1}$). Sin embargo, la radiación útil para la fotosíntesis (que está comprendida en longitudes de onda entre 400 y 700 nm) y que se conoce como radiación fotosintéticamente activa (RFA) representa tan solo alrededor de 45% de la radiación global.

Las plantas atrapan una porción de esta RFA y la transforman en energía química representada por los fotosintatos. Una parte de esta energía se utiliza en la respiración y la fotorespiración, y el resto se transforma en materia seca.

¿Cómo se Determina la Eficiencia de Conversión de la Energía Solar?

La eficiencia de conversión de la energía solar llamada eficiencia de conversión de la radiación fotosintéticamente activa en un cultivo, está dada por la relación entre la energía de la combustión de la materia seca producida en una unidad de área durante un período determinado, y el total de la radiación fotosintéticamente activa incidente sobre las plantas en dicha área durante el mismo período, multiplicado por 100, ya que se expresa en porcentaje.

Características Distintivas del Frijol

El frijol posee algunos caracteres que deben tenerse presentes y son los siguientes:

1) Es una planta C-3, esto es, realiza la fotosíntesis exclusivamente mediante el ciclo de Calvin, y tiene la capacidad como otras leguminosas, de presentar nódulos en las raíces, con bacterias del género *Rhizobium*. Es principalmente autógena, aunque presenta un cierto porcentaje de polinización cruzada.

2) El hábito de crecimiento mencionado anteriormente. Dicho hábito está controlado genéticamente, pero puede ser modificado por

el medio y es importante por que está relacionado con características agronómicas.

3) La floración y el desarrollo consecuente de los frutos son secuenciados o "escalonados". En el frijol la antesis o apertura de las flores de una planta ocurre en forma continua en un lapso de dos hasta cuatro semanas según la variedad, el hábito de crecimiento y las condiciones ambientales. Este ritmo de floración continua también ocurre a nivel de inflorescencia individual y de desarrollo de los frutos y es importante porque en estas condiciones se imbrica o traslapa el período de apertura de las flores con el de crecimiento de las vainas y llenado de las semillas. Esto permite que la planta ajuste la potencia de la demanda con la de la fuente. Por ejemplo, si la fuente, representada por las hojas, en un momento del período reproductivo no produce suficientes fotosintatos para llenar todas las vainas, la planta podría presentar la abscisión (caída controlada fisiológicamente, pero modulada por el ambiente) de botones, flores o vainas jóvenes, regulando de este modo el tamaño de la demanda. Así pues, la abscisión podría ser una "estrategema" de la planta para ajustar la potencia de la demanda, a la potencia de la fuente.

4) El frijol comparte con otras especies, como manzano, ciruelo y otros frutales, la característica de producir un número de botones y flores mucho mayor que el número de vainas que finalmente llegan a alcanzar la madurez. Los botones y flores que no llegan a transformarse en vainas maduras, sufren abscisión. Este mismo fenómeno se presenta en un gran número de vainas jóvenes, especialmente aquellas de longitud menor de 3 cm. Una vaina de mayor longitud generalmente ya no sufre abscisión. Así mismo, algunas vainas permanecen en la planta, pero tienen solamente semillas abortadas y/o rudimentos abortados. A estas vainas se les llama vainas vanas, y son importantes porque derivan fotosintatos para su desarrollo, pero no contribuyen al rendimiento.

5) Aborto de óvulos y semillas. El rendimiento de semilla depende del destino de los óvulos contenidos en los órganos reproductivos (botones, flores y vainas). Es evidente que la abscisión de estos órganos conlleva la pérdida de la totalidad de los óvulos contenidos en ellos y que son semillas potenciales y por tanto, la abscisión de órganos reproductivos ya discutida, es la fuente más importante de pérdida de rendimiento potencial. Por otra parte, con frecuencia en las vainas normales, o sea aquellas que tienen por lo menos una semilla normal, un cierto número de óvulos suspende su desarrollo en etapas tempranas del proceso de su transformación a semillas maduras, dando lugar a rudimentos abortados. Estos se caracterizan por su color crema o café claro y tamaño aproximado al de la cabeza de un alfiler o, en etapas más tardías, dando lugar a semillas abortadas que se caracterizan por tener un tamaño pequeño, son arrugadas y de color más oscuro que el de las semillas normales. Las pérdidas de rendimiento debido al aborto pueden ser de hasta 25% de los óvulos de vainas normales.

OBJETIVOS

En el Centro de Botánica, en la Línea de Investigación sobre Fisiología de Cultivos, se ha trabajado durante algún tiempo en el estudio del frijol, con los siguientes objetivos.

La determinación de:

- 1) La dinámica del crecimiento y de los procesos de floración y llenado del grano.
- 2) Las relaciones entre la morfología y el funcionamiento de la planta.
- 3) La eficiencia en el uso de la energía por el frijol, en los diferentes sistemas de cultivo.

RESULTADOS

Desarrollo de la Planta y su Relación con el Rendimiento

Las diversas investigaciones de nuestro grupo de trabajo han proporcionado evidencias de que el rendimiento de semilla de una planta está en relación directa con el número de nudos de la planta, ya que éstos son sitios donde se implantan las hojas y las inflorescencias y, por ende, donde se producen las vainas. El número de nudos a su vez depende del número y longitud de las ramificaciones.

El grado de ramificación está determinado por el hábito de crecimiento, y está modificado por la densidad de población mediante los factores ambientales, posiblemente de luz, de agua en el suelo y de disponibilidad de nutrimentos.

Costa *et al.* (1983), han proporcionado evidencias de que: (1) el grado de ramificación disminuye conforme se incrementa la densidad de población; (2) dentro de ciertos límites, el rendimiento de semilla

está en relación directa con el grado de ramificación. Así por ejemplo, si comparamos los rendimientos de la planta aislada con el de 10, 16 y 22 plantas m^{-2} , éstos fueron como sigue: para Canario 107 (hábito determinado), 62, 29, 20 y 20 y para Negro 150 (hábito indeterminado trepador), 1254, 36, 37 y 25 g de semilla por planta, respectivamente y (3) las variedades de hábito indeterminado presentan una mayor plasticidad en lo que respecta a éste y otros caracteres que las de hábito determinado (Figuras 3 y 4).

En el caso de la asignación de la materia seca a los diferentes órganos aéreos, Escalante y Kohashi-Shibata (1982) encontraron para la variedad Michoacán 12-A-3, de hábito indeterminado mateado (tipo II), los resultados que aparecen en la Figura 5.

Por otro lado, comparando dos variedades, una de hábito determinado (tipo I) y otra de hábito indeterminado, guía corta, mateado (tipo II), sembradas en surcos a dos densidades contrastantes (8,900 y 100,000 plantas ha^{-1}), se encontró que la cantidad y la distribución porcentual de la materia seca varían con el estadio de crecimiento de la planta.

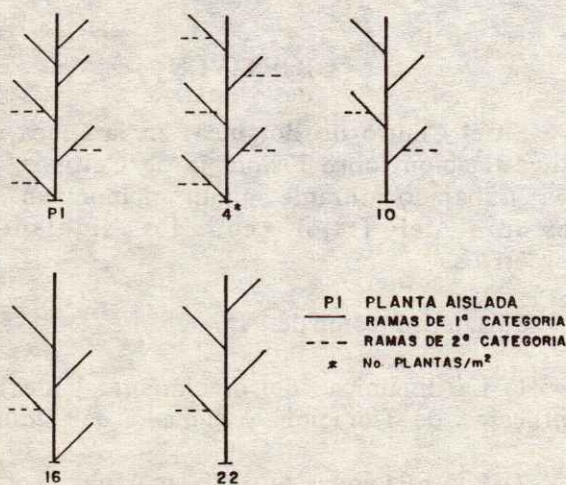


Figura 3. Ramificación del frijol de hábito determinado cv Canario 107 en varias densidades de población (Tomado de: Costa *et al.*, 1983).

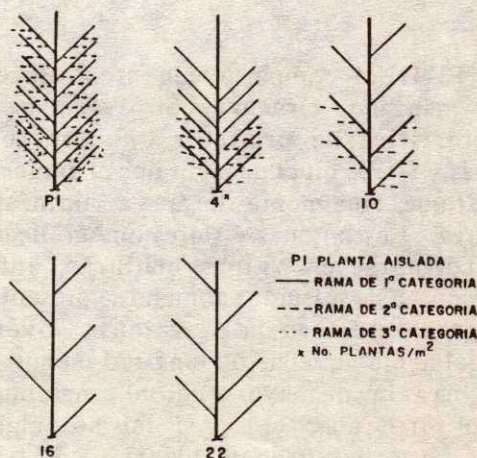


Figura 4. Ramificación del frijol de hábito indeterminado trepador cv Negro 150 en varias densidades de población (Tomado de: Costa *et al.*, 1983).

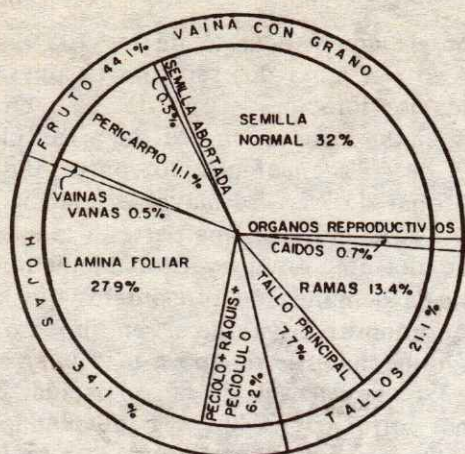


Figura 5. Producción total de materia seca hasta madurez fisiológica (incluyendo órganos caídos) y su asignación en la planta testigo del frijol cv. Michoacán 12-A-3 sembrada a la densidad de 13.3 plantas por m². Promedio de 40 plantas (Tomado de: Escalante y Kohashi-Shibata, 1982).

En la variedad de hábito de crecimiento determinado, en contraste con las de hábito indeterminado, la cantidad no es afectada notablemente por la densidad, probablemente debido a que la primera ha sido seleccionada para altas densidades y a que tiene menos plasticidad que la de hábito indeterminado.

El porcentaje de distribución de la materia seca, en ambos hábitos de crecimiento es poco afectado (Kohashi-Shibata, 1979; Díaz y Kohashi-Shibata, 1982) (Figuras 6 y 7).

El rendimiento y gran número de sus componentes (número de vainas planta⁻¹ y m⁻², número de semillas planta⁻¹ y m⁻² y número de semillas vaina⁻¹), son afectados en forma significativa por la densidad de población.

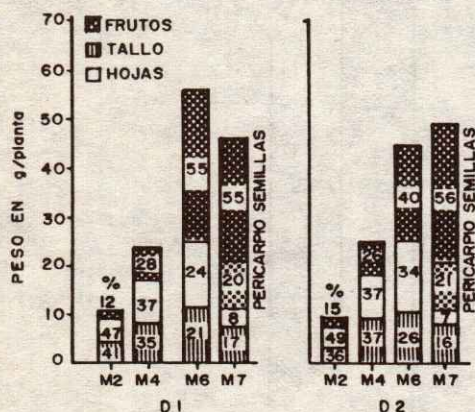


Figura 6. Distribución porcentual del peso seco en diferentes estructuras de frijol cv. Cacahuete, considerando dos densidades de siembra, en surcos a 0.75 m: D₁ = 8,900 plantas ha⁻¹, y D₂ = 100,000 plantas ha⁻¹ en varios estadios de desarrollo: M2 = estado de yema floral, M4 = máximo número de vainas planta⁻¹, M6 = cuando el 20% de las vainas tiene color paja, M7 = madurez fisiológica. Chapingo, México (Díaz, 1974) (Tomado de: Kohashi-Shibata, 1979).

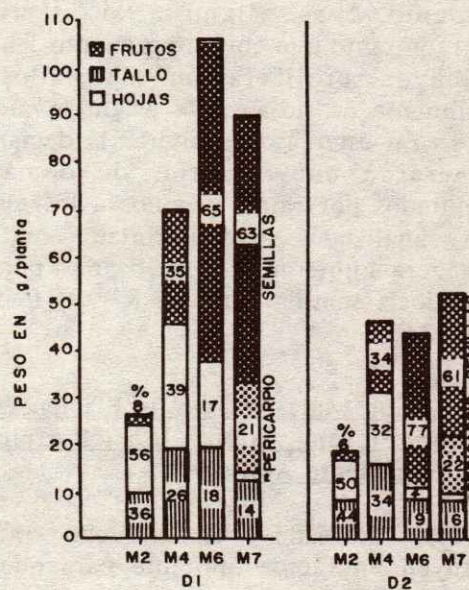


Figura 7. Distribución porcentual del peso seco en diferentes estructuras de frijol cv. Michoacán 12-A-3, considerando dos densidades de siembra en surcos a 0.75 m: D₁ = 8,900 plantas ha⁻¹, y D₂ = 100,000 plantas ha⁻¹ en varios estadios de desarrollo: M2 = estado de yema floral, M4 = máximo número de vainas planta⁻¹, M6 = cuando el 20% de las vainas tiene color paja, M7 = madurez fisiológica. Chapingo, México (Díaz, 1974) (Tomado de: Kohashi-Shibata, 1979).

El tamaño de la semilla no sufre cambios significativos. En resumen, la plasticidad es mayor en la variedad de hábito indeterminado que en la de hábito determinado.

Fuente y Demanda

En un estudio realizado con una variedad de frijol ejotero de hábito determinado, en el tratamiento (1), "con cortes", las vainas fueron cosechadas en estado de ejote (cuando las semillas son aún pequeñas) y en el tratamiento (2), "sin cortes" las vainas fueron cosechadas al alcanzar su madurez completa como cuando se utilizan para semilla.

No hubo una diferencia notable en la cantidad total de materia seca por planta debido a los tratamientos. Por otro lado, el mayor porcentaje de la materia seca en el tratamiento 2 se asignó a las semillas (42.9%), en tanto que en el tratamiento 1 hubo una mayor proliferación de tallos y especialmente de hojas y se asignó a dichos órganos. En este caso, al alterar la demanda, se generaron nuevos sitios de demanda representados por ramas y tallos a los cuales fueron canalizados los fotosintatos que de otra manera hubieran sido utilizados para el llenado de la semilla (Figuras 8 y 9) (Santos Vigil, 1984).

La Asociación Maíz-Frijol y la Eficiencia de la Conversión de la Radiación Fotosintéticamente Activa.

El autosombreado y el sombreado mutuo constituyen un factor limitante para que las hojas manifiesten al máximo su potencial fotosintético. Además, la eficiencia en la conversión de la energía está en función de la densidad de población y del estadio de desarrollo de la planta. En una variedad de guía, Negro 150, sembrada en unicultivo y en asociación con maíz, se determinó que la menor eficiencia ocurrió en el período comprendido entre la emergencia y 45 días de edad y fue de 0.17% y 0.29% en frijol asociado y en unicultivo, respectivamente, debido a que las plantas en la mayor parte de este período todavía no cubrían el terreno. Por otro lado,

la mayor eficiencia ocurrió de los 105 a los 125 días, o sea, unas dos semanas después de terminada la floración, y fue de 3.5% en el frijol asociado, con un índice de área foliar de 3.8, y de 4.3% en unicultivo con un índice de área foliar de 7.2. La mayor eficiencia en unicultivo se debió, por una parte, a la mayor magnitud del área foliar y probablemente al efecto de la demanda de fotosintatos que fue mayor en unicultivo, ya que el rendimiento (al 12% de humedad) fue de 595 g m^{-2} comparado con 396, en el caso de la asociación. Se sabe, por otra parte, que la demanda de fotosintatos por los frutos incrementa la tasa de fotosíntesis en las hojas que producen dichos fotosintatos. Si se considera todo el ciclo de la planta (160 días), la eficiencia fue de 0.5 en asociación y de 0.72% en unicultivo. Considerando conjuntamente los cultivos del maíz más frijol asociados en todo el ciclo fue de 2.73% (Acosta Díaz, 1985).

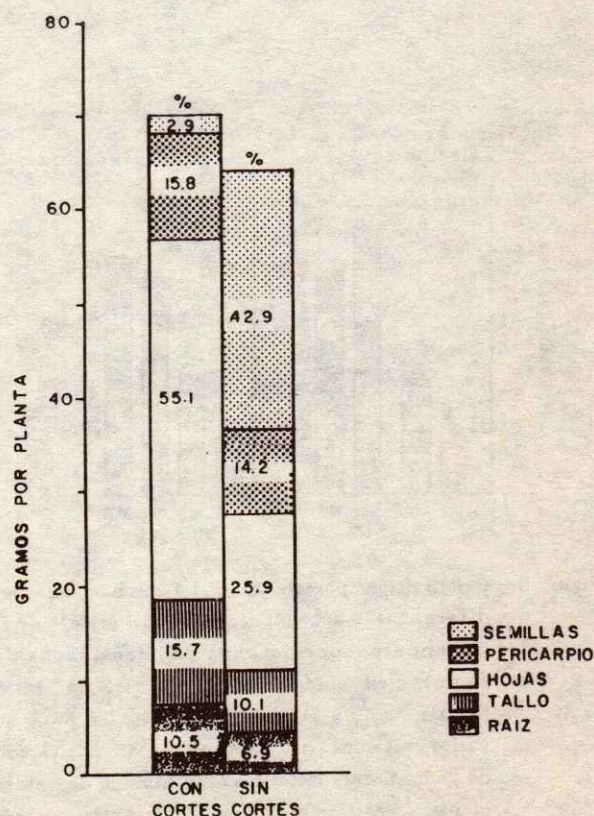


Figura 8. Asignación de la materia seca en el tratamiento con cortes (1) y sin cortes (2) en frijol ejotero (Tomado de: Santos, 1984).

Indicando que en la asociación la población de plantas hace un uso más eficiente de la energía solar recibida.

Abscisión de Organos Reproductivos y Aborto de Semillas

Estos fenómenos ya han sido mencionados bajo "características distintivas del frijol". El aborto es más frecuente en frutos que se forman hacia el final de la floración y existen tamaños críticos para el aborto (Engleman, 1979). En el caso de los botones, los trabajos de Yañez *et al.* (1984) han proporcionado evidencia de que en los botones localizados en posición con mayor probabilidad de abscisión, también se presenta, en relación con el testigo, un mayor porcentaje (96% vs. 31%) de anomalías e irregularidades en el desarrollo del saco embrionario tales como necrosis del saco embrionario y de la nucela, ausencia o desarrollo retardado del saco embrionario (Figuras 10 y 11). Esto indica una cierta probabilidad de "causa-efecto". La pérdida de botones puede ser bastante considerable.

A partir de botones que son retenidos en la planta, ésta produce diariamente un número variable de flores, siguiendo en general una tendencia semejante a la de una curva de campana durante todo el periodo de floración. Este periodo comprende desde la antesis o apertura de la primera flor hasta la de la última.

Las primeras flores en el periodo de floración tienen una probabilidad más alta de transformarse en vainas maduras, y dicha probabilidad va disminuyendo conforme avanza el periodo de floración, con el aumento consiguiente de vainas que se caen probablemente por abscisión y vainas vanas (Prieto y Kohashi-Shibata, 1981) (Figura 12). Asimismo, en una misma inflorescencia, las primeras flores que se desarrollan son las de la base de la inflorescencia, por lo cual éstas tienen una alta probabilidad de transformarse en vainas normales en comparación con las situadas hacia el ápice.

Un fenómeno semejante se presenta en las vainas normales en lo que toca al número de

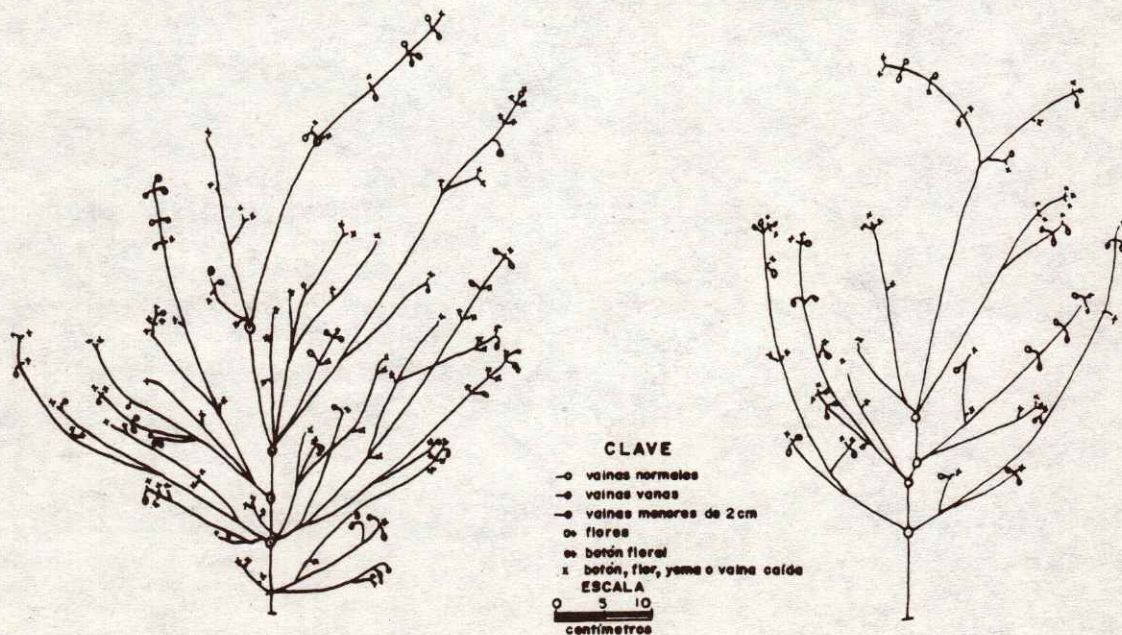


Figura 9. Arquitectura (ramificación) de plantas de frijol a los 87 días. Izquierda, tratamiento 1, con cortes, en el cual se cortaron las vainas en estado de ejote. Derecha, tratamiento 2, sin cortes, en las cuales se cosecharon las vainas secas (Tomado de: Santos, 1984).

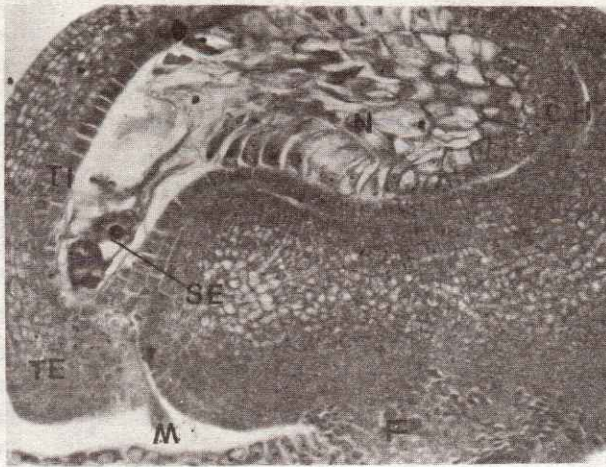


Figura 10. Sección longitudinal de un óvulo normal del testigo, M= micrópilo; TE = tegumento externo; TI = tegumento interno; SE= saco embrionario; NU = nucela; CH= Chalaza; F= funículo. X 373. (Tomado de: Yáñez, *et al.*, 1984).

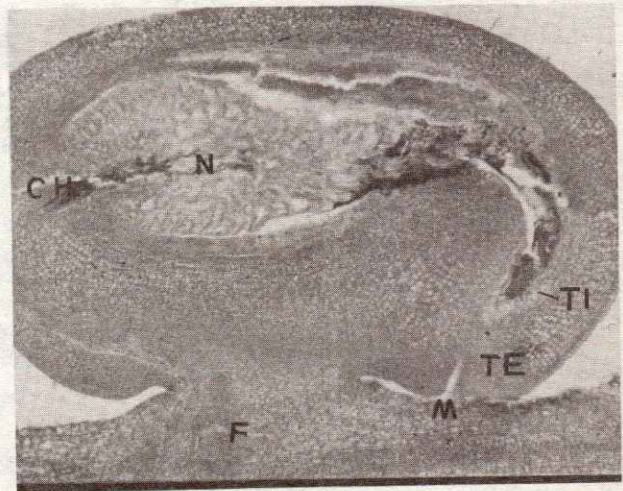


Figura 11. Sección longitudinal de un óvulo con anomalías (necrosis del saco embrionario, chalaza y nucela). X285 (Para la identificación de tejidos ver Fig. 10) (Tomado de: Yáñez, *et al.*, 1984).

semillas normales por vaina. Este número es mayor en las vainas correspondientes a los primeros días de floración y menor en la de los días posteriores, debido a que aumenta el número de semillas abortadas y rudimentos abortados (Prieto y Kohashi-Shibata, 1981).

Así pues, la prioridad en la floración confiere a una flor una mayor probabilidad de

desarrollarse hasta transformarse en vaina normal, y también de que dicha vaina contenga un alto número de semillas normales, lo cual es una consecuencia de la floración continua o escalonada que tiene gran importancia biológica y agronómica.

Es probable que, por lo menos, parcialmente lo anterior sea consecuencia del

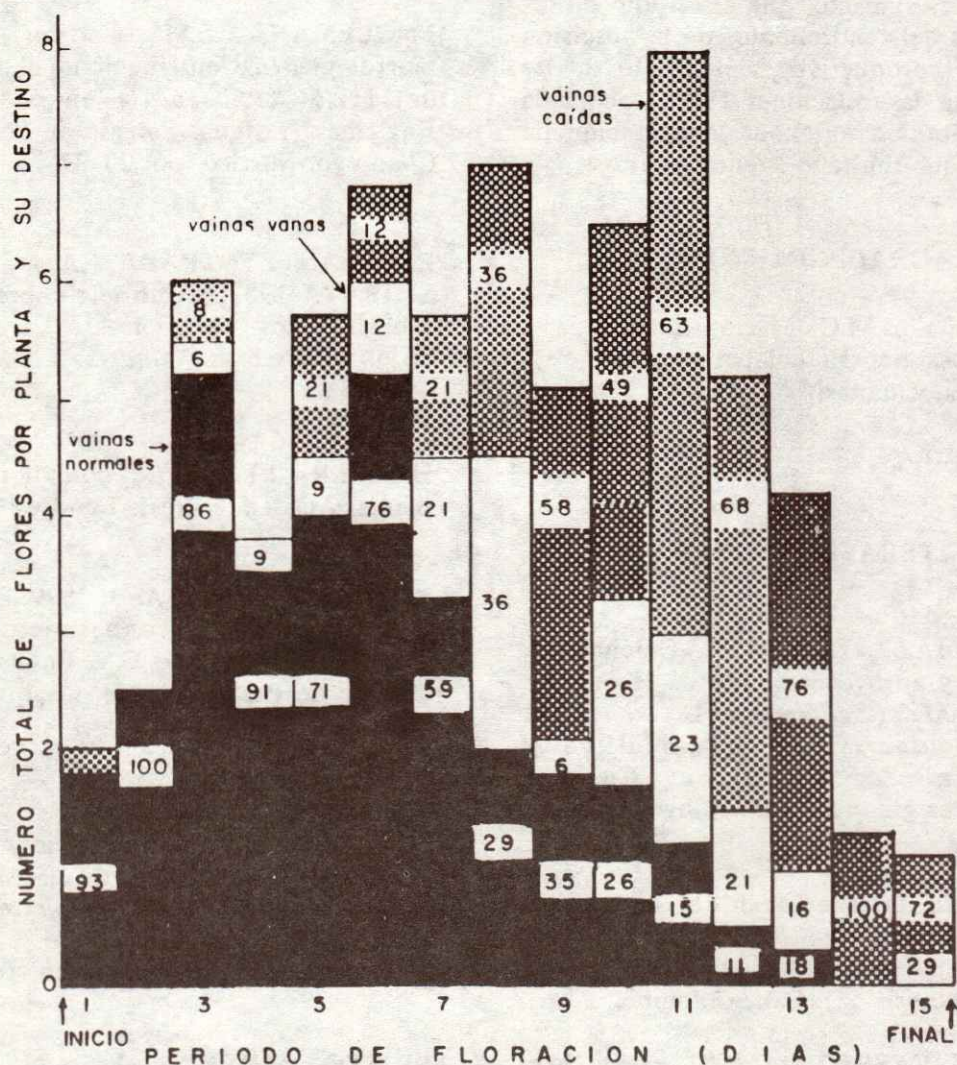


Figura 12. Número total de flores producidas por planta diariamente a través del periodo de floración y número de estas que se transforman en vainas normales, vanas y que sufren abscisión en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Cacahuete 72. Chapingo, México, 1980. (Los números de las barras indican el porcentaje para cada categoría de vainas, considerando como 100% el total de flores por un día, promedio de seis plantas) (Tomado de: Prieto y Kohashi-Shibata, 1981).

fenómeno fisiológico de la operación de la relación fuente-demanda, y por otro lado, la operación de un mecanismo hormonal que promueva la formación de la zona de abscisión en los frutos.

Con base en lo expuesto anteriormente, podemos concluir que en el frijol existe una estrecha relación entre la morfología y la fisiología reflejada en la plasticidad fenotípica y el rendimiento biológico y agronómico. Asimismo, que el estudio de los componentes del rendimiento, de la abscisión de órganos reproductivos, del aborto de las semillas y de las relaciones fuente-demanda podrá contribuir a entender la operación de los factores que limitan el rendimiento.

AGRADECIMIENTO

Se agradece a los M.C. Mario Bruner Cruz y Esther Sosa por su colaboración en el trabajo de calorimetría.

LITERATURA CITADA

- ACOSTA DIAZ, E. 1985. Crecimiento, rendimiento y aprovechamiento de la energía solar en maíz (*Zea mays* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en unicultivo y asociados. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 163 p.
- CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). Sin fecha. Guía de estudio: Morfología de la planta de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Cali, Colombia. 50 p.
- COSTA, J.G. CAPRIO DA. 1981. Efecto de la densidad de población en la morfología, asignación de la materia seca y de la energía, y eficiencia en la producción de semilla, en el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 221 p.
- COSTA, J.G. CAPRIO DA., J. KOHASHI-SHIBATA y S. MIRANDA COLIN. 1983. Plasticidade no feijoeiro comum. Pesq. Agropec. Bras. Brasília 18:159-167.
- DIAZ MANRIQUE, F. y J. KOHASHI-SHIBATA. 1982. Distribución de materia seca en el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) bajo condiciones de campo. Turrialba 32:19-27.
- ENGLEMAN, E.M. 1979. Anatomía y morfología. In: Contribuciones al conocimiento del frijol (*Phaseolus*) en México. E.M. Engleman (Editor). Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. pp. 23-37.
- ESCALANTE ESTRADA, J.A.S. y J. KOHASHI-SHIBATA. 1982. Efecto del sombreado artificial sobre algunos parámetros del crecimiento en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Agrociencia 48:29-38.
- HARPER, J.L. 1977. Population biology of plants. Academic Press. Londres. 892 p.
- KOHASHI-SHIBATA, J. 1979. Fisiología. In: Contribuciones al conocimiento del frijol (*Phaseolus*) en México. E.M. Engleman (Editor). Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. pp. 39-58.
- OBSERVATORIO DE RADIACION SOLAR. Instituto de Geofísica, Universidad Nacional Autónoma de México. 1986. Comunicaciones Técnicas. Boletín de Datos de Radiación Solar, Terrestre y Parámetros Meteorológicos (1985). México, D.F. 16 p.
- PRIETO BARRERA, V. y J. KOHASHI-SHIBATA. 1981. El orden de antesis y la ubicación de las flores: su relación con el rendimiento y sus componentes en frijol, (*Phaseolus vulgaris* L.) de hábito determinado Cv. Cacahuatate 72. Chapingo, Nueva Epoca Nos. 29-30 pp. 34-37.

SANTOS VIGIL, J.C. 1984. Efecto de cortes de ejotes y remoción de flores en un frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) ejotero de hábito determinado. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 104 p.

YAÑEZ-JIMENEZ, P., E. PIMIENTA, E. MARK ENGLEMAN y J. KOHASHI-SHIBATA. 1984. Comparative anatomy of flower buds with and without potential for abscission in *Phaseolus vulgaris*. Turrialba 34:431-435.

RELACIONES AGUA-PLANTA EN FRIJOL

Alfonso Larqué-Saavedra y Carlos Trejo López

Centro de Botánica, Colegio de Postgraduados,
56230 Chapingo, México.

RESUMEN

Se presentan resultados de las investigaciones desarrolladas durante varios años, de las relaciones hídricas de *Phaseolus vulgaris*.

Se reportan datos obtenidos con los cultivares Cacahuatate 72, Michoacán 12-A3, Negro 150 y Flor de Mayo. Se dan estimaciones sobre transpiración, acumulación de ácido abscísico, tasa fotosintética, concentración intercelular de bióxido de carbono y conductancia estomática. Se indica la posibilidad de mecanismos de resistencia a sequía, así como las determinaciones hechas de potencial de agua y sensibilidad estomática.

INTRODUCCION

El estudio de las relaciones agua-planta en frijol es fundamental para la ciencia agronómica mexicana, por la relevancia del cultivo para la alimentación del pueblo mexicano. La demanda del conocimiento es mayor, cuando se sabe que la producción de este grano se logra fundamentalmente en zonas temporales donde el recurso agua es limitante en mayor o menor grado.

Las investigaciones que ha llevado a cabo nuestro grupo de trabajo del Centro de Botánica en esta planta, pueden agruparse en dos: (1) La búsqueda de germoplasma sobresaliente contrastante en su resistencia a la sequía y la explicación biológica del porqué de dichas características. (2) La definición de parámetros y metodologías adecuadas para los estudios agua-planta.

RESPUESTAS AL DEFICIT HIDRICO

Ha sido ampliamente demostrado que un déficit de agua en alguna etapa de crecimiento de las plantas, afecta muchos procesos anatómicos, morfológicos, fisiológicos y bioquímicos (Hsiao, 1973; Kramer, 1974; 1983).

Sin embargo, las plantas presentan una serie de respuestas llamadas "mecanismos de resistencia a sequía" por medio de los cuales pueden resistir períodos con déficit de agua (Jones *et al*, 1981; Turner, 1979).

Dentro de estos mecanismos podemos encontrar: reducción de pérdida de agua debido al incremento en la resistencia estomática, reducción en la absorción de radiación debido a cambios en la orientación de las hojas o

reducción en el área foliar, incremento de absorción de agua debido al desarrollo radical o por incremento en la conductancia de la raíz, mantenimiento de la turgencia debido a un ajuste osmótico o a un incremento en la elasticidad celular, etc.

Una de las respuestas más evidentes del frijol, cuando se presenta un déficit hídrico, es la de orientar sus hojas en forma paralela a la incidencia de los rayos del sol; siguiendo el curso de éste en esta posición (movimientos parahelionásticos) y así evitar al máximo una excesiva transpiración.

En frijol, la respuesta más importante que ocurre durante el déficit hídrico es la que se presenta en el comportamiento de los estomas; el déficit de agua causa cierre de éstos, evitando de esta forma la excesiva pérdida de agua por transpiración. Esta respuesta de los estomas al déficit de agua, es uno de los mecanismos fisiológicos que más se han estudiado, debido principalmente a que estos desempeñan el papel principal de regulación entre los procesos de asimilación y transpiración. También, ha sido considerada como la primera línea de defensa de las plantas cuando se presentan condiciones de déficit de agua (Davies *et al.*, 1978).

Al parecer, los estomas en frijol funcionan como un interruptor, ya que se ha encontrado que potenciales de agua (Ψ_w) entre -1.0 y -1.2 MPa, provocan en los estomas de ambas superficies (abaxial y adaxial), un incremento de su resistencia a la difusión de vapor de agua (disminución de la transpiración), evitando de esta forma una disminución mayor en el Ψ_w . Se cree que, en el frijol, la alta sensibilidad de los estomas al déficit hídrico, es un excelente criterio para estimar dicho fenómeno en la planta y así usar la resistencia estomática como una herramienta para predecir las relaciones hídricas entre el suelo y la planta (Halterlein, 1982).

En estudios hechos en invernadero, usando la variedad Cacahuete-72, se encontró que los estomas de esta variedad empiezan a detectar el déficit de agua en el suelo a partir del

tercer día de haber suspendido el riego, registrándose una menor transpiración en estas plantas. Esta disminución de transpiración se hizo más aguda conforme pasaron los días, hasta registrar valores cercanos a cero de transpiración, aproximadamente al octavo día de haber suspendido el riego. También, se observó que este cierre de los estomas en los tratamientos de 2, 4 y 6 días de suspensión de riego, no fue permanente pues, al aplicar el riego de recuperación, la transpiración alcanzó los mismos valores que el tratamiento de riego (Figura 1); pero en los tratamientos de 8 y 10 días de suspensión de riego (Figura 2) se observó un efecto posterior sobre la transpiración, después de reiniciar el riego, ya que en el tratamiento de 8 días hubo un retraso de cuatro días en la recuperación de la transpiración con respecto al testigo. En

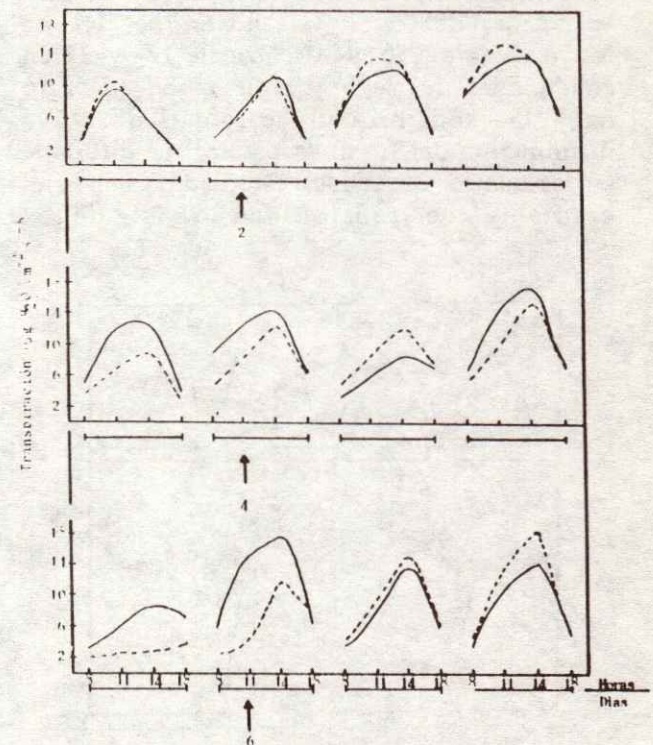


Figura 1. Efecto de suspensión de riego sobre la transpiración de frijol (*Phaseolus vulgaris* cv. Cacahuete-72). La flecha (\uparrow) indica el número de días que duró la suspensión y el reinicio de riego. Riego (—) Sequía (---). Cada punto corresponde a la media de 3 repeticiones.

el caso del tratamiento de 10 días, la transpiración no se recuperó y se observó senescencia de las hojas (Trejo *et al.*, 1983).

Al parecer, este tipo de respuesta, observada en el comportamiento estomático de frijol, es general en todas las plantas mesofíticas y se debe a cambios locales en el Ψ_w de la epidermis en primera instancia. Posteriormente, si el déficit hídrico de la planta llega a ser más intenso, se disparan otros mecanismos como el hormonal, en donde el ácido abscísico es la hormona de mayor importancia, provocando en los estomas un cierre prolongado, el cual puede durar algunos días o semanas (Davies *et al.*, 1978).

Esta sensibilidad estomática en frijol se ha encontrado que es muy variable; esto se ha demostrado en estudios hechos en cuatro variedades de frijol (Cacahuete-72, Flor de Mayo, Negro-150 y Michoacán 12-A-3) en condiciones de riego y sequía. Se encontró que la sensibilidad estomática a la disminución del Ψ_w de la planta, fue diferente en las cuatro variedades estudiadas, siendo el gradiente de sensibilidad el siguiente:

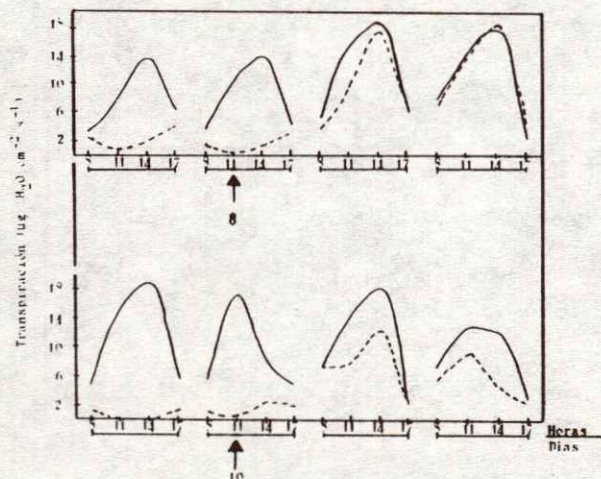


Figura 2. Efecto de suspensión de riego sobre la transpiración de frijol (*Phaseolus vulgaris* cv. Cacahuete-72). La flecha (↑) indica el número de días que duró la suspensión y el reinicio de riego. Riego (—), Sequía (---). Cada punto corresponde a la media de 3 repeticiones

Michoacán 12-A-3 > Negro-150 > Cacahuete-72 > Flor de Mayo (Larqué-Saavedra *et al.*, 1985). Es importante señalar, que esta sensibilidad estomática también presenta ciertas diferencias aún en la misma variedad de frijol; esto se observó claramente al aplicar tratamientos de suspensión de riego en la variedad Michoacán 12-A-3 y Negro-150, encontrándose que no todas las plantas de las dos variedades llegan el mismo día a obtener valores cercanos a cero de transpiración (Figura 3) (Gutiérrez, 1986; Trejo, 1986).

Basados en las diferencias de resistencia a sequía de estas cuatro variedades de frijol, reportadas por Nava (1984), Larqué-Saavedra y Long (1984) estudiaron la respuesta al déficit de presión de vapor (DPV) de las dos variedades más contrastantes (Negro-150 y Flor de Mayo). Estos autores encontraron que no

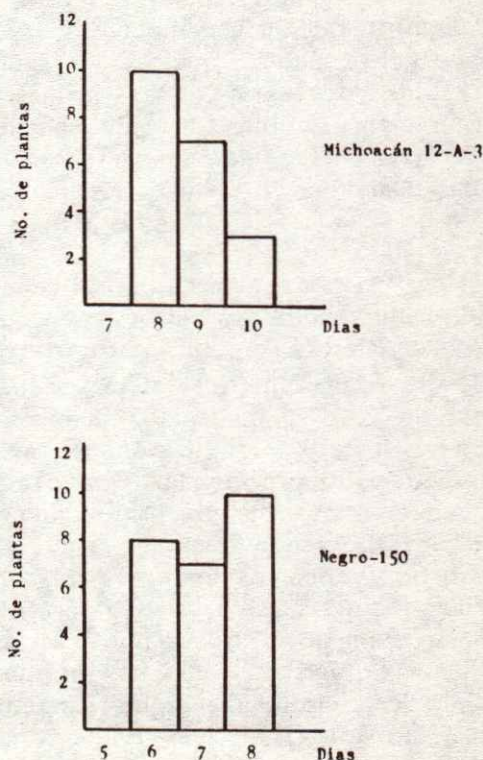


Figura 3. Relación entre el número de plantas y el número de días, en llegar a valores de transpiración $\leq 14 \mu\text{g H}_2\text{O cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ en dos variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) al suspenderles el riego.

hubo diferencia en la respuesta observada en transpiración, tasa fotosintética, conductancia estomática y concentración intercelular de bióxido de carbono a esta variable (Figura 4). Además las dos variedades mostraron una fuerte disminución en su eficiencia de uso de agua (EUA) cuando se incrementó el DPV de 0.6 a 1.4 KPa. Estos resultados descartaron la posibilidad de alguna correlación entre la sensibilidad estomática y la resistencia a sequía en las cuatro variedades empleadas por Nava (1984). Al estudiar sus niveles de ácido abscísico (ABA) bajo condiciones de déficit hídrico, tampoco se pudo correlacionar con el gradiente de resistencia a sequía o sensibilidad estomática establecido (Cuadro 1).

Parson y Howe (1984) y Markhart (1985) compararon la respuesta de *Phaseolus vulgaris* y *Phaseolus acutifolius* (frijol tépari) al déficit de agua y encontraron que las dos especies presentaron potenciales osmóticos ($\Psi\pi$) aproximadamente 0.2 MPa inferiores al de su control bajo riego. También presentaron

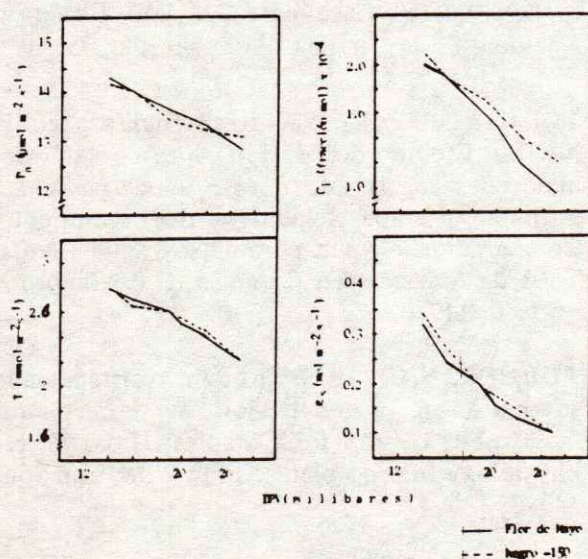


Figura 4. Efecto del déficit de presión de vapor (DPV), sobre la tasa fotosintética (P_n), transpiración (T), concentración intercelular de bióxido de carbono (C_i) y conductancia estomática (g_s) en dos variedades de *Phaseolus vulgaris* L.

Cuadro 1. Niveles de ácido abscísico (ABA) en cuatro variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), al final de un tratamiento de déficit hídrico.

Variedad de frijol	Contenido de ABA ¹⁾ (ng ABA g ⁻¹ peso seco)
Negro-150	344.9
Cacahuete-72	310.4
Flor de Mayo	300.0
Michoacán 12-A-3	269.4

1) Promedio de cuatro repeticiones.

diferencias en la sensibilidad estomática en la respuesta a la disminución del Ψ_w , los estomas del frijol tépari cerraron completamente entre -0.8 y -1.0 MPa y los estomas del frijol común cerraron a Ψ_w entre -1.3 y -1.8 MPa.

Estos autores sugieren que la diferencia en resistencia a sequía del frijol tépari con respecto al frijol común, se debe a una mejor distribución de sus raíces, a su eficiencia de absorción de agua, sensibilidad estomática y acumulación activa de solutos (ajuste osmótico).

En relación a la acumulación activa de solutos, Villarreal (1981) estudió la presencia de ajuste osmótico en dos variedades de *Phaseolus vulgaris* (Cacahuete-72 y Michoacán 12-A-3) y detectó un ajuste osmótico de 0.15 MPa en la variedad Cacahuete-72 y de 0.33 en la variedad Michoacán 12-A-3. También, Trejo (1986), al aplicar tres tratamientos de suspensión de riego en la variedad Negro-150 encontró una disminución del $\Psi\pi$, lo cual resultó en el mantenimiento de la turgencia de estos tratamientos.

Todos estos estudios hechos en frijol, indican que no existe una respuesta dominante

cuando hay déficit hídrico; además, la respuesta depende del grado y la intensidad de éste. Lo que si se ha podido demostrar claramente, es que las respuestas son graduales, siendo la sensibilidad estomática la primera en presentarse.

LITERATURA CITADA

- DAVIES, W.A., T.A. MANSFIELD, y P.J. ORTON. 1978. Strategies employed by plants to conserve water: can we improve on them? Proceedings Joint BCPC and NPGRG Symposium "Opportunities for chemical plant growth regulation". 45-54 p.
- GUTIERREZ CORONADO, M.A. 1986. Resistencia a la sequía XXII. Cotejo de un marcador fisiológico de "sequía" que se correlaciona con rendimiento agronómico en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis de Maestría en Ciencias, C.P., Chapingo, México. 117 p.
- HSIAO, T.C. 1973. Plant responses to water stress. Ann. Rev. Plant Physiol. 24: 519-570.
- HALTERLEIN, A.J. 1982. Bean. In: Teare, I.O. and M.M. Peet, (Eds). Crop-water relations. John Wiley and Sons. New York. 158-185.
- JONES, M.M., N.C. TURNER, y C.B. OSMOND. 1981. Mechanisms of drought resistance. In: Paleg, L.G. and D. Aspinall, (Eds). The Physiology and Biochemistry of drought resistance in plants. Academic Press 15-37.
- KRAMER, J.P. 1974. Fifty years of progress in water relations research. Plant Physiol. 54: 463-471.
- KRAMER, J.P. 1983. Water relations of plants. Academic Press. 1-22: 345-415.
- LARQUE-SAAVEDRA, A. y S.P. LONG. 1984. The responses of leaf gaseous exchanges to variation in water vapour deficit and light in two native mexican varieties of *Phaseolus vulgaris* L. (en prensa).
- LARQUE-SAAVEDRA, A., M.T. RODRIGUEZ, C. TREJO L., y T. NAVA S. 1985. Abscisic acid accumulation and water relations of four cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. under drought. J. Exp. Bot. 36: 1787-1792.
- MARKHART, A.H. 1985. Comparative water relations of *Phaseolus vulgaris* L. and *Phaseolus acutifolius* Gray. Plant Physiol. 77: 113-117.
- NAVA SANCHEZ, T. 1984. Resistencia a la sequía XIV. Resistencia a la sequía de cuatro cultivares de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis de Licenciatura. UNAM. 104 p.
- PARSON, L.R. y T.K. HOWE. 1984. Effects of water stress on the water relation of *Phaseolus vulgaris* and the drought resistant *Phaseolus acutifolius*. Physiol. Plant. 60: 197-202.
- TREJO LOPEZ, C., T. GARCIA ESCALONA, A. LARQUE-SAAVEDRA. 1983. Efecto de "sequía" en la transpiración, status de agua y rendimiento de *Phaseolus vulgaris* L. cv. Cacahuatate-72. XVI Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. pág 79-80.
- TREJO LOPEZ, C. 1986. Resistencia a la sequía XXIII. Efecto de déficit hídrico en dos materiales de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) durante la etapa vegetativa de crecimiento. Comparación en sus parámetros agua-planta. Tesis de Maestría en Ciencias, C.P. Chapingo México. 117 p.
- TURNER, N.C. 1979. Drought resistance and adaptation to water deficit in crop plants. In: Musell, H. and R.C. Staples, (Eds). Stress Physiology in crop plants. John Wiley and Sons 343-372.
- VILLARREAL MAGAÑA, A.G. 1981. Resistencia a la sequía V. Condicionamiento a la sequía en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Ajustes morfológicos y osmóticos. Tesis de Maestría en Ciencias. C.P., Chapingo, México. 119 p.

COMPOSICION QUIMICA DEL FRIJOL

Maria Luisa Ortega Delgado

Centro de Botánica, Colegio de Postgraduados,
56230 Chapingo, México.

RESUMEN

Se hizo el análisis químico de 58 colectas de semillas de *Phaseolus vulgaris* L. que representan aproximadamente la variación que se encuentra en la República Mexicana y 10 colectas de *Phaseolus coccineus* L. con el objetivo de comparación. Estos materiales se distribuyeron en grupos de clasificación infraespecífica. El contenido de proteína fluctuó entre 18 y 37% en base seca, valores altos que reflejan probablemente disminución de algunos componentes de la semilla por el largo almacenamiento. El contenido promedio de almidón fue de 31%. Se hizo la determinación cuantitativa de azúcares solubles, encontrándose un predominio de oligosacáridos (estaquiosa, rafinosa y sacarosa). La estaquiosa es el azúcar más constante en toda la colección. Se estudió también la composición de carbohidratos estructurales en los componentes de la semilla de los grupos Canario y Negro Arribeño. Esta información fue novedosa porque no había antecedentes en la literatura. Un aspecto importante fue el aislamiento y caracterización de la proteína de reserva de la semilla. La fracción globulínica es la más abundante (75% de la proteína total de la semilla). En geles no desnaturizantes se encontraron cuatro componentes de la globulina del frijol Negro Mecedral: alfa, beta, gamma

y delta. La fracción alfa es la más abundante, es una glicoproteína de peso molecular 170,000. En la globulina total y en la fracción alfa se han hecho estudios de desnaturización térmica y con desnaturizantes como el ditiotreitol y el sodio dodecil sulfato, con esta información se ha propuesto un modelo de asociación de la globulina.

Los análisis de aminoácidos de las 68 colectas de semillas han confirmado que el frijol tiene un gran contenido de lisina y deficiencia en el aminoácido metionina. Se han efectuado algunos estudios fisiológico-bioquímicos a nivel de planta entera para estudiar la correlación entre el contenido de nitrógeno de los órganos de la planta con el contenido de nitrógeno de la semilla, habiéndose comprobado alta correlación con el nitrógeno de la raíz y pericarpio. Se ha comprobado que el frío afecta a la globulina de la semilla cuando se aplica en el periodo final de llenado de grano.

INTRODUCCION

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) ha sido cultivado en México desde épocas prehistóricas. En la región de Tehuacán, Puebla, se han encontrado restos arqueológicos

que tienen una antigüedad de 7000 años (Kaplan, 1965). Dado que Mesoamérica fue uno de los centros de diversificación del frijol (Vavilov, 1949-1950) coexisten en nuestro país actualmente las formas silvestres y las cultivadas. Surgió, por lo tanto, un interés en someter a las colecciones disponibles a estudios biosistemáticos para establecer una clasificación infraespecífica de *Phaseolus vulgaris* L. Esta clasificación se basa en la forma, espesor y tamaño de la semilla y características de la hoja simple de la plántula.

Dentro del proyecto de investigación interdisciplinario de frijol, se ha estudiado una colección representativa de 68 genotipos, 10 de *Phaseolus coccineus* (grupo Ayocote) y 58 de *Phaseolus vulgaris* L., distribuidos en seis grupos de clasificación infraespecífica (Blancos, Colores, Negro Tropical, Negro Arribeño, Canario y Bayo).

Los objetivos de estas investigaciones fueron:

1. Conocer la composición química de la semilla cruda, con especial referencia a proteínas y carbohidratos.
2. Hacer el aislamiento y caracterización de las proteínas del grano y determinar sus

cambios en los procesamientos necesarios para el consumo de este alimento.

3. Determinar la composición y balance de los aminoácidos que constituyen las proteínas de las semillas de frijol.
4. Estudiar los cambios bioquímicos que se efectúan en los diversos órganos de la planta de frijol, en función de sus etapas de crecimiento y desarrollo, para ver si se puede dilucidar su influencia en la producción de semilla y su contenido de proteínas.

COMPOSICION QUIMICA GENERAL

Los estudios se iniciaron con la determinación de la composición química general de la semilla. Se observó un bajo contenido de extracto etéreo, el porcentaje de fibra cruda osciló alrededor del 6% y la proteína cruda fluctuó entre 24 y 29%, Cuadro 1 (Ortega *et al.*, 1976).

ALMIDON Y AZUCARES SOLUBLES

Otra característica importante del frijol es la de ser un alimento energético por su alto contenido de almidón, 31% en promedio en esta colección (Ortega y Rodríguez, 1979a, b).

Cuadro 1. Composición química proximal de los diferentes grupos (base seca).

Grupo	Humedad	Cenizas	Extracto etéreo	Fibra cruda	Proteína	Extracto libre de nitrógeno
----- % -----						
Blancos	9.81	5.51	1.33	6.20	26.87	60.09
Colores	9.71	4.74	1.55	6.72	28.17	58.81
Negro Tropical	9.60	4.77	1.25	6.13	27.68	60.16
Negro Arribeño	9.42	5.24	1.41	6.28	27.98	59.08
Canario	9.94	4.99	1.39	5.79	28.98	58.85
Bayo Grande	10.22	4.92	1.54	6.02	24.48	63.03
Ayocote	10.21	5.81	1.55	6.67	24.21	61.76

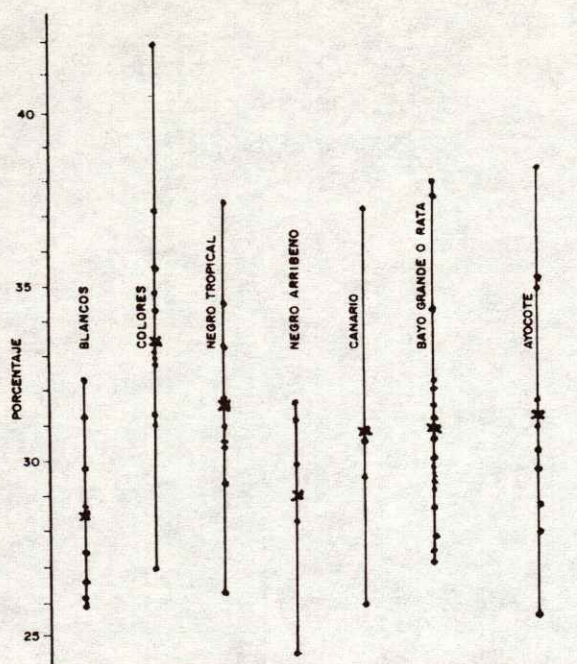


Figura 1. Contenido de almidón en los grupos de *Phaseolus vulgaris* L. y *Phaseolus coccineus* L. Dispersion de los valores con respecto al promedio (\bar{x}).

El contenido de almidón se determinó por el método enzimático de digestión con diastasa. En los 68 genotipos estudiados los valores variaron entre 25.5 y 41.9%, con un valor promedio de 31%, que representa más de la mitad del extracto libre de nitrógeno en el análisis proximal de la semilla (Figura 1). En casi todos los genotipos, el almidón representa el componente más abundante y generalmente sobrepasa el contenido de proteína en la semilla (Figura 2), excepto en el grupo Negro Tropical, en donde en seis de los nueve genotipos, la cantidad de proteína es igual o mayor que el almidón; este es un carácter que aproxima a los frijoles negros tropicales con los frijoles silvestres (Figura 3).

Inicialmente, los azúcares solubles se determinaron como reductores directos, indirectos y totales, siguiendo el método colorimétrico de Nelson. En el Cuadro 2 se presentan los valores promedio de los siete grupos de *Phaseolus*. Los contenidos de reductores directos fueron bajos en todos los

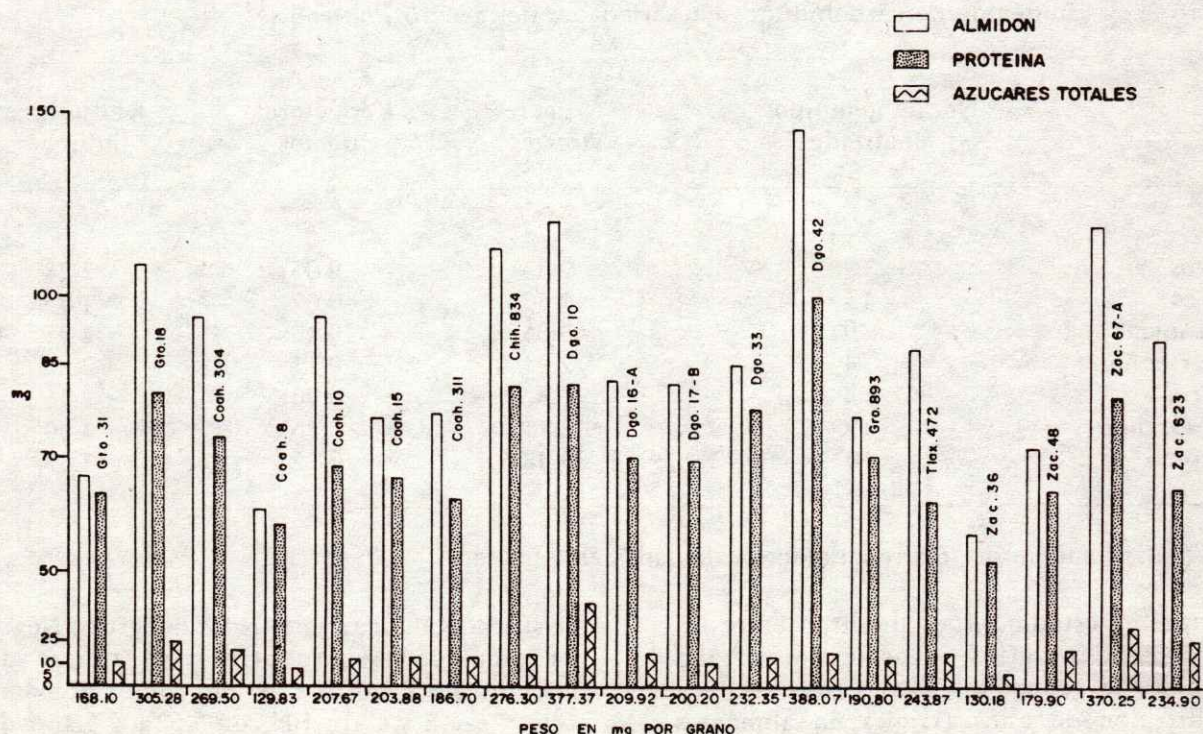


Figura 2. Contenido de proteína y carbohidratos en el grupo Bayo Grande o Rata (*P. vulgaris* L.).

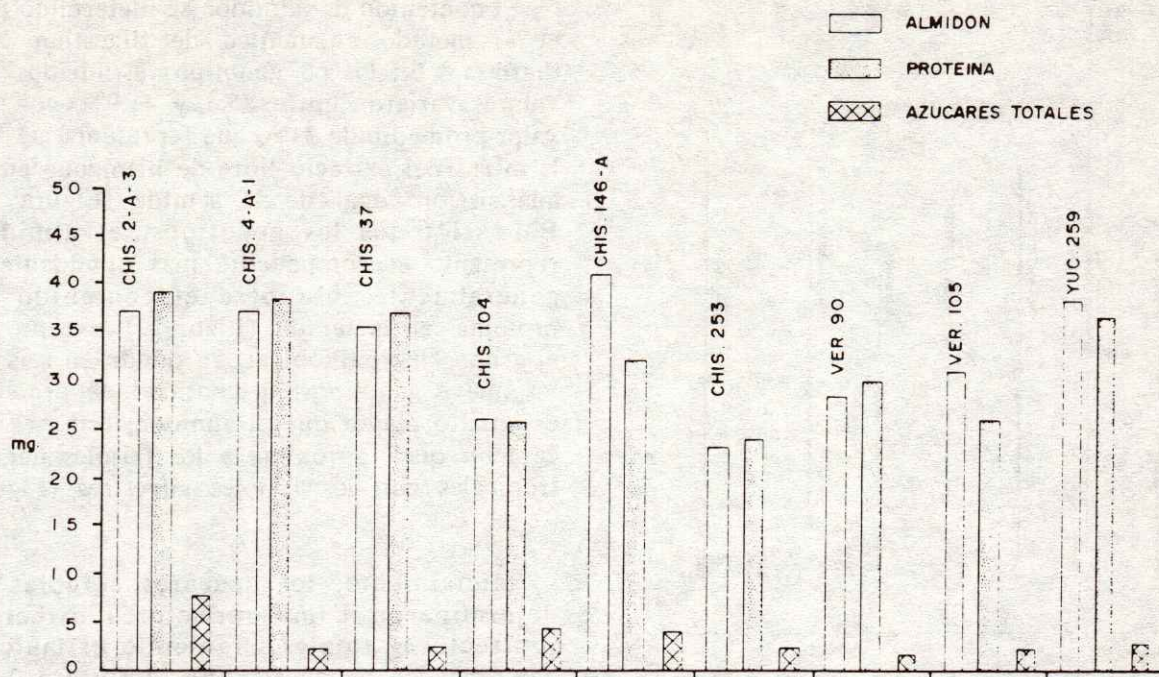


Figura 3. Contenido de proteína y carbohidratos en el grupo NegroTropical (*P. vulgaris* L.).

Cuadro 2. Contenido de carbohidratos en variedades del género *Phaseolus*¹⁾

	No. de genotipos analizados	Azúcares totales	Reductores directos	Reductores indirectos
		----- % -----		
Blancos	7	2.33	0.05	2.28
Colores	15	1.83	0.07	1.75
N. Tropical	9	3.05	0.10	2.95
N. Arribeño	4	2.91	0.11	2.80
Canario	4	2.32	0.06	2.26
Bayo Grande	19	3.11	0.16	3.00
Ayocote	10	3.48	0.15	3.33

1) Valor promedio de tres repeticiones calculadas en base seca.

genotipos en estudio. Hay similitud entre los grupos Bayo Grande y Ayocote por su alto contenido de reductores totales, esto explica la utilización de estos frijoles en alimentos regionales dulces. En trabajos llevados a cabo en la Rama de Entomología del Colegio de Postgraduados (García, 1972), se han

clasificado algunas variedades del grupo Negro Tropical como susceptibles al ataque de insectos, los genotipos de alto contenido como Chis. 2-A-3 y Chis. 104 con 5.62% y 5.15% de azúcares solubles totales, caen dentro de esa clasificación, de aquí que se plantea la hipótesis de que puede existir una relación

entre alto contenido de reductores indirectos y susceptibilidad de la planta de frijol al ataque de insectos.

Por cromatografía en papel, se identificaron y cuantificaron los azúcares solubles monosacáridos, disacáridos y oligosacáridos más abundantes en la semilla de frijol: estaquiosa, rafinosa, melibiosa, maltosa, sacarosa, glucosa, fructosa y xilosa. La distribución de cada uno de los azúcares dentro de los grupos estudiados es muy variable. Los frijoles del grupo Blancos están caracterizados por que contienen manosa, azúcar que no se detectó en los otros grupos. En todos los genotipos estudiados, el contenido de oligosacáridos en la semilla es mayor que el de monosacáridos. Los oligosacáridos más abundantes son: estaquiosa, rafinosa y sacarosa. La estaquiosa es el azúcar constante en todos los genotipos. Estos datos son importantes por que se considera a estos oligosacáridos como materiales de reserva metabolizables durante la germinación. También, se les ha considerado como factores antifisiológicos involucrados en flatulencia y meteorismo. El Cuadro 3 presenta los datos de azúcares solubles correspondientes a los genotipos del grupo Negro Arribeño.

CARBOHIDRATOS ESTRUCTURABLES DE LA SEMILLA DE FRIJOL

A estos compuestos se les ha mencionado como factores que disminuyen el colesterol de la sangre e impiden el cáncer del colon. Para su estudio, se implementó una nueva técnica para la determinación de pentosanas, basada en la determinación colorimétrica del furfural producido por la deshidratación de las pentosas en medio ácido (Peña-Valdivia y Ortega-Delgado, 1983). También, se determinó la composición de los monosacáridos que constituyen a las pentanosas.

En otras investigaciones se hizo la separación de los componentes de la semilla: cotiledón, eje embrionario y testa. En cotiledones de cuatro genotipos del grupo

Canario, se determinó la composición química parcial (Cuadro 4) y los polisacáridos estructurales no disponibles: pectinas, celulosa y hemicelulosa A y B (Cuadro 5). También, se inició el estudio de arabinogalactanas procesadas por medio del

Cuadro 3. Grupo Negro Arribeño (*P. vulgaris* L.)¹⁾ determinación de azúcares solubles en extractos de frijol.

Tipos de azúcares	Méx. 407	Oax. 306	Pue. 40	Pue. 219
	----- % -----			
Estaquiosa	1.17	1.53	0.44	0.50
Rafinosa	0.51	0.42	0.10	0.13
Melibiosa	0.18	0.13	0.10	0.11
Maltosa	0.04	0.17	0.13	0.10
Sacarosa	0.81	1.41	0.46	0.39
Glucosa	0.28	0.27	0.13	0.18
Fructosa	0.14	0.09	0.07	0.31
Xilosa	0.13	0.10	0.12	0.28

1) Valor promedio de 3 repeticiones, eluidos de cromatogramas.

Cuadro 4. Composición química parcial de cotiledón de frijol (grupo Canario)¹⁾

Variedad	Proteína cruda			
	(N X 6.25)	Ceniza	Extracto etéreo	Fibra cruda
----- % -----				
Gto. 113-A	26.64	4.25	1.66	2.21
Zac. 40	26.39	4.06	1.70	2.17
Chis. 34	26.62	4.05	1.10	2.22
Chis. 141-A	25.40	4.24	1.67	2.32
Promedio	25.51	4.15	1.53	2.23
Desviación estándar	±0.12	±0.095	±0.25	±0.055

1) Base seca, cuatro repeticiones

ácido tricloracético. Las pectinas estuvieron entre 1.57% y 2.3%, la hemicelulosa A alrededor de 2.8% y la hemicelulosa B en promedio tuvo una concentración de 2.61%. Las arabinogalactanas extraídas con ácido tricloracético al 10%, constituyeron el 3.17% de la harina de cotiledón, pero este valor disminuyó a 2.35% cuando la harina fue hidrolizada previamente con poligalacturonasa.

La concentración de celulosa fue de 1.36% (Peña-Valdivia y Ortega-Delgado, 1984).

En la testa y eje embrionario, se analizaron también la composición química parcial, azúcares solubles, carbohidratos y lignina (Cuadros 6 al 11) (Peña-Valdivia y Ortega-Delgado, 1986).

Cuadro 5. Polisacáridos estructurales de cotiledón en frijol (grupo Canario)¹⁾

Variedad	Pectinas como ácido anhidrogalactónico	Hemicelulosa		Celulosa	Carbohidratos estructurales ²⁾
		A	B		
Gto. 113-A	2.3	2.34	2.40	1.52	8.56
Zac. 40	1.83	3.05	2.73	1.21	8.82
Chis. 34	1.57	2.81	2.99	1.38	8.75
Chis. 141-A	1.64	3.03	2.31	1.33	8.31
Promedio	1.84	2.81	2.61	1.36	8.61
Desviación estándar	±0.33	±0.29	±0.27	±0.11	±0.20

1) Base seca, cuatro repeticiones.

2) No se incluyeron las pentosanas por su bajo contenido en cotiledón.

Cuadro 6. Composición química parcial de testa de frijol¹⁾

Variedad	Proteína cruda (N x 6.25)	Cenizas	Fibra cruda	Extracto etéreo
----- % -----				
Gto. 113-A	5.6	3.1	34.4	0.5
Zac. 40	4.9	3.1	36.2	0.4
Chis. 34	5.5	2.7	35.0	0.3
Chis. 141-A	5.5	2.5	33.7	0.5
Media	5.4	2.8	34.8	0.4
Desviación estándar	±0.3	±0.2	±0.9	±0.1

1) Base seca, promedio de cuatro determinaciones.

Cuadro 7. Azúcares solubles en testa de frijol¹⁾

Variedad	Porcentaje de azúcar				
	Ribosa	Manosa	Arabinosa	Galactosa	Total
Gto. 113-A	0.004	0.015	0.021	0.019	0.060
Zac. 40	0.011	0.027	0.026	0.028	0.092
Chis. 34	0.007	0.023	0.034	0.026	0.090
Chis. 141-A	0.012	0.038	0.043	0.037	0.130
Media	0.009	0.026	0.031	0.028	0.093
Desviación estándar	±0.003	±0.008	±0.008	±0.006	±0.025

1) Base seca; promedio de cuatro determinaciones.

Cuadro 8. Carbohidratos estructurales y lignina en testa de frijol¹⁾

Variedad	Hemicelulosa		Substancias pectinas	Celulosa ²⁾	Lignina cruda	Fracción insoluble en alcali	Total
	A	B					
----- % -----							
Gto. 113-A	10.05	16.50	14.03	32.81	0.10	2.72	76.21
Zac. 40	11.66	19.30	14.61	31.24	0.70	3.01	80.52
Chis. 34	15.62	16.81	10.32	26.52	0.05	3.14	72.46
Chis. 141-A	9.45	18.36	15.18	31.89	0.05	2.94	77.55
Media	11.70	17.74	13.54	30.62	0.23	2.96	76.69
Desviación estándar	±2.41	±1.14	±1.90	±2.43	±0.28	±0.15	±2.90

1) Base seca, promedio de cuatro determinaciones.

2) Valores corregidos por 3% de celulosa disuelta.

En la testa hay 5.4% de proteína cruda en promedio y un alto contenido de fibra cruda, 34.8% (Cuadro 6). En cambio, en el eje embrionario existe un alto contenido de proteína, 48% en promedio (Cuadro 9). En la testa hay muy pequeñas cantidades de azúcares solubles (Cuadro 7); en contraste, el eje embrionario presenta un total de 3.96% de azúcares solubles, siendo la verbascosa y sacarosa las más abundantes.

La testa contiene mayor cantidad de polisacáridos estructurales que el eje embrionario (Cuadro 8 y 11). Las mayores diferencias se establecen en celulosa y hemicelulosa B.

AISLAMIENTO DE PROTEINAS

Por ser el frijol la mayor fuente de proteína vegetal en la dieta de los mexicanos, es importante hacer estudios de las proteínas de reserva de la semilla, especialmente de las globulinas que son más abundantes (Ishino y Ortega, 1975).

Se hizo la separación de harina en Sephadex G-200, de un extracto salino y en gel de acrilamida no desnaturizante. Se

Cuadro 9. Composición química parcial de eje embrionario de frijol¹⁾

Variedad	Proteína	Fibra		Extracto	Almidón
	cruda	Cenizas	cruda	etéreo	
----- % -----					
Gto. 113-A	49.0	4.2	3.9	3.4	7.6
Zac. 40	46.7	4.0	4.0	2.7	8.2
Chis. 34	48.9	4.1	3.0	2.5	7.0
Chis. 141-A	48.9	4.3	3.8	3.5	7.7
Media	48.4	4.2	3.7	3.0	7.6
Desviación estándar	±1.0	0.1	±0.8	±0.5	±0.4

1) Base seca; promedio de cuatro determinaciones.

identificaron cuatro componentes mayores en la globulina del frijol Negro Mecentral: alfa, beta, gamma y delta. La fracción alfa, es una glicoproteína de peso molecular 170,000 que contiene 14.55% de nitrógeno, 4.95% de carbohidratos, como D-manosa y 1.19% de glucosamina. Es una proteína resistente a la desnaturización con urea 8 M, 2-mercaptoetanol 0.2 M o álcali a pH 12.5; sin

Cuadro 10. Azúcares solubles en eje embrionario de frijol¹⁾

Variedad	Porcentaje de azúcar					
	Verbascosa	Estaquiosa	Rafinosa	Sacarosa	Galactosa	Total
Gto. 113-A	1.55	0.35	0.68	2.22	0.06	4.86
Zac. 40	1.50	0.71	0.56	2.04	0.07	4.88
Chis. 34	0.80	0.40	0.55	1.06	0.09	2.90
Chis. 141-A	0.49	0.94	0.86	0.78	0.11	3.18
Media	1.09	0.60	0.66	1.53	0.08	3.96
Desviación estándar	0.05	±0.24	±0.13	±0.62	±0.02	±0.92

¹⁾ Base seca; promedio de cuatro determinaciones.

Cuadro 11. Carbohidratos estructurales en eje embrionario de frijol¹⁾

Variedad	Hemicelulosa		Substancias pecticas	Celulosa	Total
	A	B			
	----- % -----				
Gto. 113-A	6.9	4.2	13.1	2.4	26.6
Zac. 40	10.5	6.1	11.7	2.0	30.2
Chis. 34	10.2	7.6	12.2	2.7	32.7
Chis. 141-A	9.1	3.9	12.3	3.5	28.9
Media	9.2	5.5	12.3	2.7	29.6
Desviación estándar	±1.4	±1.5	±0.5	±0.6	±2.2

¹⁾ Base seca; promedio de cuatro determinaciones.

embargo, el tratamiento alcalino sensibiliza a la proteína para procesamientos industriales. Ortega-Delgado y Ruiz-Guzmán (1979) estudiaron el efecto térmico (93°C de calentamiento) combinado con tratamiento de pH. Encontraron resistencia de las fracciones globulínicas a la desnaturalización térmica a pH 6.0, en cambio, a pH 7.6 bastaron 20 minutos de calentamiento para disminuir en 90%

la fracción alfa, mostrándose la fracción beta resistente al efecto térmico. La desnaturalización se acentúa al aumentar el pH o los tiempos de calentamiento. Con la globulina total del frijol Flor de Mayo, se ha comparado la desnaturalización térmica con otros agentes desnaturalizantes como el Ditiotritol (DTT) y el detergente dodecil sulfato de sodio (SDS) (Hernández-Unzón y Ortega-Delgado, 1988). La desnaturalización térmica, se caracteriza por la agregación de partículas, el DTT no muestra muchos efectos por el bajo contenido de grupos SH libres en la globulina de frijol y el SDS disgrega las proteínas poliméricas dando los componentes de menor peso molecular (Cuadro 12). Si en los patrones electroforéticos se miden las áreas de las fracciones que se separan, se puede determinar el porcentaje del área, se calcula el peso molecular y la fracción mínima molar, o sea cuántas veces cabe el componente más pequeño. De aquí, se calcula el número de veces que entra cada fracción en la molécula, y se puede construir un modelo de asociación de la globulina (Cuadro 13).

La fracción alfa, llamada también faseolina, ha sido separada por electroforesis bidimensional en 10 fracciones a las que se les determinó movilidad relativa (Rm) y punto isoiónico (PI), en la primera dimensión; el Rm

Cuadro 12. Desnaturalizacion de globulinas de frijol Flor de Mayo a pH 6.0 por calentamiento, SDS y DTT

Banda	Rm	Proteina nativa		Proteina nativa +0.5%SDS + 0.05%DTT		Proteina calentada		Proteina calentada 93°C+0.5%SDS+0.05%DTT		
		PMx10 ³	Rm	PMx10 ³	Rm	PMx10 ³	Rm	PMx10 ³	Rm	PMx10 ³
					-----	-----		---	-----	
					20 min	40 min		20 min	40 min	
1	0.017	620	0.020	620	0.020	0.022	620	0.020	0.026	620
2	0.154	375	0.148	374	0.153	0.152	375			
3	0.198	320								
4	0.262	283	0.276	285						
5	0.226	247								
6	0.326	197			0.328	0.332	192			
7	0.460	120	0.456	140	0.455	0.460	120	0.439	0.443	140
8			0.871	26				0.832	0.873	26
9	0.983	15						0.981	0.982	15

Cuadro 13. Cálculo de la fracción aproximada mínima molar de las subunidades proteínicas de la globulina

Fracción	%B	PM X10 ³	PM/1.2x10 ⁵	Globulina
1	2.79	620	5.7	1
2	3.02	375	3.13	2
3	3.30	320	2.67	2
4	2.44	283	2.36	2
5	6.47	247	2.06	6
6	28.63	192	1.6	33
7	53.35	120	1.0	99

y el peso molecular en la segunda dimensión. Los rangos de pH utilizados para el isoelectrofoque en la primera dimensión fueron de 3 a 10.

COMPOSICION DE AMINOACIDOS

Para conocer el valor biológico de la proteína, se ha estudiado la composición de

aminoácidos de la semilla de frijol, encontrándose en todos los casos un gran contenido de lisina y deficiencia en metionina.

El objetivo principal fue evaluar la calidad de la proteína en comparación con las proteínas consideradas como patrones internacionales y buscar los genotipos con mayor contenido de metionina, aminoácido deficiente en las leguminosas. En la colección de 58 genotipos de *Phaseolus vulgaris* L., se incluyeron cuatro genotipos del grupo Canario. Este frijol se caracteriza por su precocidad, es decir, de crecimiento rápido, además de su gran aceptación por su aspecto, sabor y cocción rápida. El cuadro de clasificación infraespecífica incluye estos genotipos en el subgrupo de semilla grande con bordes rectos. El análisis químico general (Ortega *et al.*, 1976) indicó que los genotipos Gto. 113-A y Zac. 40 contienen 33.7 y 30% de proteína cruda en base seca, respectivamente. En promedio, el grupo Canario es el de mayor contenido de proteína en base seca (28.98%). Los análisis de aminoácidos se hicieron por el método de ligandos en un analizador Hitachi-

Cuadro 14. Grupo Canario. Aminoácidos esenciales¹⁾

Clave		VAL	MET	ILE	LEU	FEN	LIS	TRE	TRI	%PROT
Chis.	34	1.34	0.36	1.17	2.03	1.53	1.78	1.08	0.34	25.60
Chis.	141-A	1.33	0.32	1.18	2.05	1.46	1.92	1.13	0.34	26.63
Gto.	113-A	1.04	0.31	1.19	2.10	1.51	1.74	1.03	0.30	33.70
Zac.	40	0.93	0.30	1.10	1.9	1.26	1.57	0.94	0.30	30.00

1) g de aminoácidos en 100 g de harina calculado en base seca.

Perkin-Elmer modelo KLA 3B, por hidrólisis de la harina de frijol con HCl 6 N al vacío, a 110°C por 22 horas. El triptófano se determinó por el método colorimétrico en hidrólisis enzimática con papaina. El Cuadro 14 presenta los contenidos de aminoácidos esenciales en los cuatro genotipos del grupo Canario. Los valores del triptófano están en los límites de los requerimientos diarios y los de metionina son bajos. Resaltan los contenidos altos de lisina, treonina, isoleucina y fenilalanina.

El grupo Negro Tropical, consta de nueve genotipos con semillas oblongas compresas y adaptación a zonas cálidas. El porcentaje de proteína varía entre 24 y 31.87%, con un promedio de 27.70% en base seca. En este grupo, hay valores altos de tres aminoácidos esenciales (leucina, fenilalanina y lisina) con respecto a las necesidades diarias del humano. Los genotipos Chis. 253, Ver. 105 y Yuc. 259 presentan alto contenido de triptófano.

El grupo Negro Arribeño, con semillas elípticas u oblongas compresas y adaptación a zonas templadas, está constituido por cuatro genotipos: Méx. 407, Oax. 36, Pue. 40 y Pue. 219. En general, los valores de aminoácidos ácidos y neutros son ligeramente menores que los encontrados en el grupo Negro Tropical, esta deficiencia se acentúa especialmente en el aminoácido metionina. Los aminoácidos básicos son más parecidos a los del grupo Negro Tropical, especialmente tirosina, fenilalanina, lisina e histidina. La Figura 4

presenta la comparación de los aminoácidos esenciales de 100 gramos de harina de los cuatro genotipos del grupo Negro Arribeño, con respecto a los requerimientos diarios (línea inclinada).

La falta de balance en algunos aminoácidos esenciales en la semilla de frijol explica los bajos índices de eficiencia proteínica que se obtienen en pruebas nutricionales con ratas. La deficiencia de aminoácidos puede corregirse con dietas mixtas, en las cuales el frijol podría suplementar a los alimentos insuficientes en lisina, fenilalanina y leucina.

CAMBIOS EFECTUADOS EN LOS ORGANOS DE LA PLANTA DE FRIJOL

Se ha estudiado también la distribución de peso seco y contenido de nitrógeno de los diferentes órganos de la planta de frijol durante su desarrollo, relacionándolos con el rendimiento de semilla y su contenido de proteína (Granados Araiza, 1983). Se estudiaron los cuatro genotipos del grupo Canario, habiéndose comprobado correlaciones altas entre rendimiento y número de vainas, número de granos por planta, peso seco de la raíz, tallo y pericarpio. Por otra parte, hay también correlación entre el contenido de nitrógeno de la semilla y peso seco del pericarpio, rendimiento de semilla, nitrógeno de la raíz y pericarpio.

Se han realizado otras investigaciones acerca de la distribución de carbohidratos en

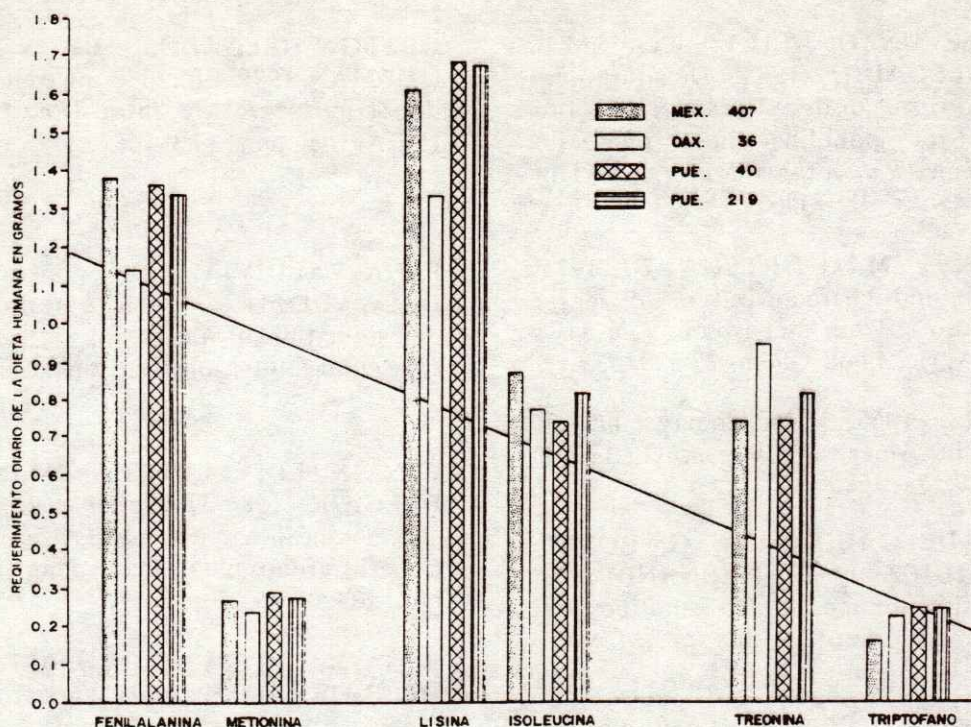


Figura 4. Aminoácidos esenciales en 100 g de harina de frijoles tipo Negro arribeño .

los órganos de la planta durante su desarrollo, en condiciones de riego y en condiciones de sequía.

También, se ha comprobado experimentalmente que el frío aplicado en la planta en la etapa final del llenado de la semilla, puede cambiar el patrón electroforético de las globulinas de la semilla. En un experimento con helada simulada con hielo en el cuarto frío, aplicado a diferentes tiempos después de la antesis, Aguilar (1985) observó que el período más sensible se presentó a los 32 días después de la antesis, pues al analizar las globulinas de semillas maduras, observó una inversión de las proporciones de las fracciones alfa y beta. En el testigo, la fracción alfa ocupó 47.8% del área en el patrón electroforético, después del tratamiento con frío bajó a 15.6%; en cambio, la fracción beta que en el testigo ocupaba 12% del área del patrón electroforético, subió a 47% después del tratamiento con frío. Para el futuro habrá que estudiar los procesos bioquímicos que originan estos cambios.

LITERATURA CITADA

- AGUILAR SAGASTUME, G.E. 1985. Efecto de frío durante el cultivo de la planta de frijol sobre las globulinas de la semilla. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Botánica. Colegio de Postgraduados. Chapingo Méx.
- GARCIA, M.C. 1972. Evaluación de la resistencia de frijol hacia la Conchuela *Epilachna varivestis* Muls (Coleoptera: Coccinellidae). Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, ENA, Chapingo, Méx. 58 p.
- GRANADOS ARAIZA, R. 1983. Influencia del peso seco y contenido de nitrógeno de los órganos de la planta en el rendimiento y contenido de proteína del grano de frijol. Tesis Profesional, Ingeniero Agrónomo (Fitotecnia) Universidad Autónoma Chapingo (UACH).

HERNANDEZ-UNZON, H.Y. y M.L. ORTEGA-DELGADO. 1988. Denaturation by heat, sodium dodecyl sulphate and dithiothreitol of globulins and phaseolin from dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Plant Foods Hum. Nutr. 38: 211-223.

ISHINO, K. y M.L. ORTEGA D. 1975. Fractionation and characterization of major reserve proteins from seeds of *Phaseolus vulgaris*. J. Agric. Food Chem. 23:529-533.

KAPLAN, L. 1965. Archeology and domestication in American *Phaseolus* (Beans). Econ. Bot. 19:358-368.

ORTEGA DELGADO, M.L., C. RODRIGUEZ COQUIEZ y E. HERNANDEZ X. 1976. Análisis químico de 68 genotipos del género *Phaseolus* cultivados en México. Agrociencia 24:23-42.

ORTEGA DELGADO, M.L. y C.C. RODRIGUEZ. 1979 (a). Estudio de azúcares solubles en semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Agrociencia 37:17-24.

ORTEGA DELGADO, M.L. y C.C. RODRIGUEZ. 1979 (b). Estudio de carbohidratos en variedades mexicanas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L. y *Phaseolus coccineus* L.). Agrociencia 37:33-49.

ORTEGA-DELGADO, M.L. y J.L. RUIZ-GUZMAN. 1979. Efecto térmico en las globulinas de frijol Negro Mecentral (*Phaseolus vulgaris* L.). Agrociencia 37:3-15.

PEÑA-VALDIVIA, C.B. y M.L. ORTEGA-DELGADO. 1983. Micromethod for the determination of pentosans in common bean cotyledon. Nutrition Rep. Intern. 27:455-461.

PEÑA-VALDIVIA, C.B. y M.L. ORTEGA-DELGADO. 1984. Unavailable carbohydrates in common bean cotyledon (*Phaseolus vulgaris* L.) Canario group. Qual. Plant. Plant Foods Hum. Nutr. 34:87-95.

PEÑA-VALDIVIA, C.B. y M.L. ORTEGA-DELGADO. 1986. Partial chemical composition, free soluble sugars and unavailable carbohydrates in the embryonic axis and seed coat of *Phaseolus vulgaris* L. (Canario group). Qual. Plant. Plant Foods Hum. Nutr. 36:27-34.

VAVILOV, N.I. (1949-1950) The Origen, Variation, Immunity and breeding of cultivated plants (Transl. from the Russian by K. Starr Chester). The Chronica Botánica Co. Waltham, Mass. U.S.A. 13:13-54.

FIJACION SIMBIOTICA DE NITROGENO EN FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.)

Ronald Ferrera-Cerrato, Juan José Almaraz Suárez,
Maria de las Nieves Rodríguez Mendoza y David Espinosa Victoria

Sección Microbiología, Centro de Edafología, Colegio de Postgraduados,
56230 Montecillo Méx.

RESUMEN

En México el frijol se cultiva ampliamente desde la época prehispánica, y ha llegado a ocupar un lugar importante en la dieta de la población. Sin embargo, esta especie presenta bajos rendimientos, ya que está relegada a lugares donde los suelos son deficientes en nitrógeno, y donde las precipitaciones son escasas. Diferentes estudios permiten suponer que esta situación puede mejorarse utilizando el potencial que tiene la simbiosis entre frijol y *Rhizobium* para fijar nitrógeno. En este escrito se mencionan trabajos que demuestran que algunas variedades de frijol pueden fijar hasta más de 100 kg de N ha⁻¹ y que hay cepas de *Rhizobium* que presentan alta eficiencia. No obstante, las experiencias generadas con esta biotecnología indican que el cultivo de frijol en el campo presenta pobre respuesta a la aplicación de inoculantes, y que sólo un porcentaje reducido de cepas de *Rhizobium* seleccionadas como efectivas manifiesta efecto positivo sobre el rendimiento. Diversos aspectos de la planta, la bacteria y el ambiente se analizan aquí, los cuales ayudan a comprender el porqué de la baja respuesta a la inoculación. De estos estudios, se deriva de que es factible aumentar la fijación de nitrógeno en el campo, a través de la obtención de cepas competitivas y efectivas, capaces de sobrevivir y adaptarse

a las condiciones del suelo, así como de la selección de variedades de frijol con alta capacidad de fijar nitrógeno.

ANTECEDENTES Y SITUACION ACTUAL DEL FRIJOL EN MEXICO

El uso del frijol común como alimento, se remonta a varios siglos antes de Jesucristo. Restos arqueológicos se han encontrado en diversos sitios de los Estados Unidos, México y en el Perú. En nuestro país, los restos más antiguos son los encontrados en el Valle de Tehuacán, Puebla, con una antigüedad que asciende a los 7000 años (Kaplan, 1965). Sin embargo, de acuerdo a la cuantificación y distribución de los restos, Kaplan (1980) indica que el frijol cultivado llegó a ser importante y extensivo hace 1200-1800 años en Mesoamérica. Miranda (1967, 1979) establece que el centro de origen de *Phaseolus vulgaris* es el área de México-Guatemala, donde ocurre una distribución amplia de la especie en forma silvestre, así como una gran diversidad genética de las variedades cultivadas.

En la época precolombina, el frijol constituyó parte importante en la alimentación de la población. El Códice Mendoza señala

entre la lista de tributos que tenían que darse al imperio Azteca, al maíz y al frijol como los más importantes (Kaplan, 1965). Peterson (1962), citado por Kaplan (1965), estima que los Aztecas recibían un tributo anual de 5000 toneladas de frijol.

Actualmente, en nuestro país el frijol ocupa el segundo lugar en importancia después del maíz, en cuanto a superficie cultivada. El primer reporte en relación a superficie cosechada de frijol (997,524 ha) data de 1897; sin embargo, esta cifra no fue sobrepasada sino hasta el año de 1954, en que la superficie cosechada tendió a incrementarse, alcanzando una cifra de 2'240,022 ha en 1966, y entre 1967-1985 fluctuó alrededor de las 2'000,000 de ha, teniendo en algunos años caídas considerables (Figura 1). Por otra parte, el rendimiento de frijol a nivel nacional se incrementó de 202 kg ha⁻¹ en 1897 a 538 kg ha⁻¹ en 1984 (Figura 2).

Las causas fundamentales del bajo rendimiento del cultivo se atribuyen a la precipitación y a la fertilidad del suelo. En 1985, se reportó una superficie cultivada con frijol de 2'100,047 ha, de las cuales 1'950,638 se encontraban en condiciones de temporal (SARH, 1986), ésto es, más del 90% de la superficie cultivada depende de la lluvia. Lepiz (1987) menciona que en México, segundo país productor de frijol en el mundo, se siembran alrededor de 1'200,000 ha (50% del total) bajo condiciones de baja y errática

precipitación y en suelos de bajo contenido de nitrógeno. Tal es la situación actual del frijol en nuestro país.

POTENCIAL DE LA FIJACION SIMBIOTICA DEL NITROGENO EN FRIJOL (*Phaseolus vulgaris*)

El nitrógeno es esencial para la vida, pues forma parte importante de los aminoácidos, proteínas y ácidos nucleicos. Varian, sin embargo, los compuestos nitrogenados que los distintos organismos son capaces de asimilar; las plantas utilizan compuestos inorgánicos como amonio (NH₄⁺) o nitrato (NO₃⁻); los animales superiores, además de amonio, requieren compuestos orgánicos. Todos los compuestos nitrogenados que son utilizados por los seres vivos provienen del N₂ que constituye 80% de los gases que forman la atmósfera (Soberon, 1985). Sin embargo, únicamente se incorpora en la mayoría de los sistemas biológicos cuando ha sido "fijado" con ciertos elementos como el hidrógeno o el oxígeno (Brill, 1977).

El nitrógeno a menudo es un factor limitante, en la agricultura, por lo que debe aplicarse al cultivo en forma de fertilizante nitrogenado.

Los fertilizantes nitrogenados que se utilizan en la agricultura se sintetizan a partir de nitrógeno atmosférico, este proceso

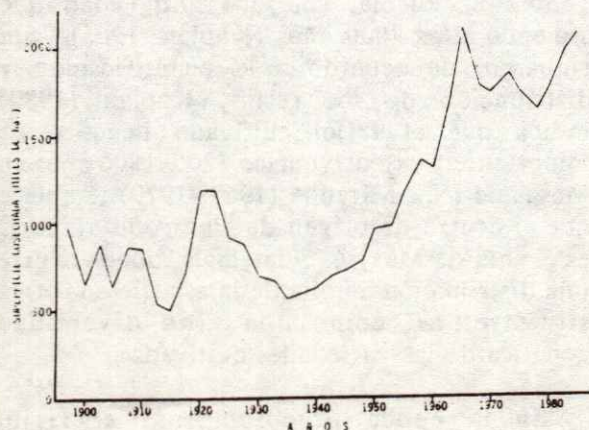


Figura 1. Superficie cosechada de frijol en México en el período 1897 - 1985 (INEGI, 1985).

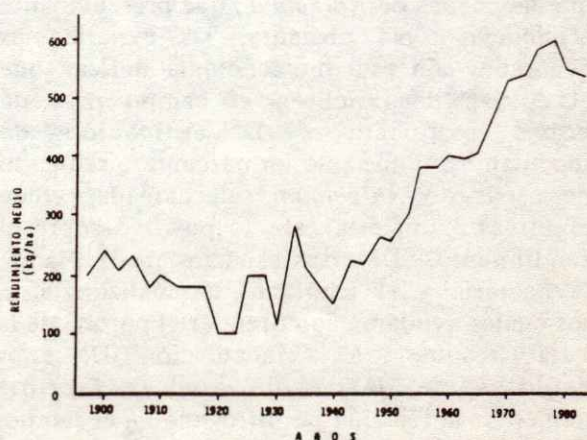


Figura 2. Rendimiento del cultivo del frijol en México en el período de 1877-1980 (INEGI, 1985).

requiere de alta presión y temperatura que se alcanzan a expensas de combustibles derivados del petróleo.

Recientemente, el precio de los fertilizantes ha aumentado, limitando esto la producción de alimentos y el desarrollo de los países. En consecuencia, el problema crucial es abastecer con nitrógeno asimilable a los cultivos para su buen desarrollo y rendimiento. Así, el nitrógeno puede ser incorporado al suelo a través de la adición de fertilizantes, por el arrastre de la lluvia hacia el suelo, de los óxidos de nitrógeno de la atmósfera y por la fijación simbiótica de nitrógeno (Figura 3).

Se ha estimado que de todo el nitrógeno fijado, la fijación biológica participa con 175 millones de toneladas métricas por año, siendo alrededor del 70%; la fijación industrial con 40 millones de toneladas métricas y la fijación atmosférica (descargas eléctricas) con 10 millones de toneladas métricas; y la combustión (industrias, automóviles) y ozonización con 35 toneladas métricas (FAO, 1983).

Los sistemas biológicos fijadores de nitrógeno juegan un papel importante en el ciclo de nitrógeno; sin embargo, los sistemas simbióticos son los más estudiados por el potencial que representan, siendo la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa, el grupo más explotado en la agricultura. Brill (1977) estima que alrededor del 40% del nitrógeno fijado por medios biológicos provienen de esta

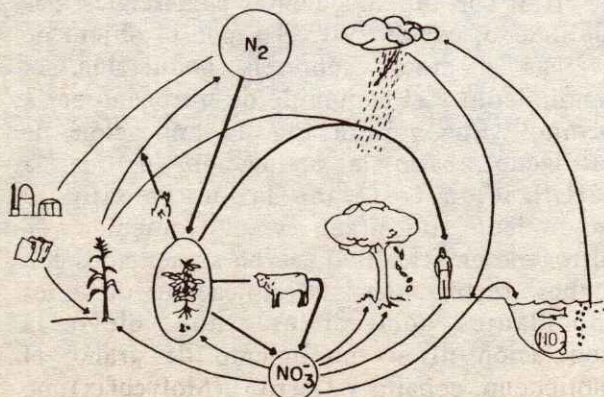


Figura 3. Ciclo del nitrógeno (FAO, 1984).

asociación. Sin embargo, entre las especies de leguminosas la capacidad de fijación de nitrógeno varía de 40 kg N ha^{-1} hasta 450 kg N ha^{-1} (Cuadro 1).

Entre los muchos factores involucrados en la producción de un cultivo, destaca por su importancia, el de sembrar genotipos eficientes en el aprovechamiento de los recursos del medio ambiente (Lepiz, 1987), para lo cual es necesario contar con una fuente de germoplasma. En el área donde ocurren las formas silvestres de frijol, las variedades cultivadas muestran una gran diversidad genética (Miranda, 1967), la cual se ha utilizado como una fuente de plasma

Cuadro 1. Cantidad de nitrógeno fijado por las diferentes leguminosas en condiciones de campo.

Leguminosa	N fijado kg ha^{-1}
<i>Calospogonium mucunoides</i>	370-450
<i>Vicia faba</i>	45-552
<i>Cajanus cajan</i>	168-280
<i>Vigna unguiculata</i>	73-354
<i>Vigna mungo</i>	63-342
<i>Cyanopsis tetragonoloba</i>	41-220
<i>Glycine max</i>	60-168
<i>Cicer arietinum</i>	103
<i>Lens esculenta</i>	88-114
<i>Arachis hypogaea</i>	72-124
<i>Pisum sativum</i>	52-77
<i>Phaseolus vulgaris</i>	40-70
<i>Desmodium intortum</i>	897
<i>Sesbania cannalina</i>	542
<i>Leucaena leucocephala</i>	72-584
<i>Centrocema pubescens</i>	126-398
<i>Medicago sativa</i>	229-290
<i>Trifolium subterraneum</i>	207
<i>Trifolium repens</i> var. <i>gigantea</i>	165-168
<i>Trifolium repens</i>	128
<i>Stylosanthes</i>	34-220
<i>Vicia villosa</i>	110
<i>Pueraria phaseoloides</i>	99

Fuente: FAO, 1984.

germinal en los programas de mejoramiento genético del cultivo (Lepiz, 1980).

Miranda (1979) señala que la diversidad genética en frijol se ha incrementado con la domesticación, y algunos de los caracteres que han aumentado son: la diversidad de hábitos de crecimiento, el tamaño de hojas, flores, frutos y semillas y la diversidad del color de la testa de la semilla. Entre los caracteres que se han reducido con la domesticación destacan: el ciclo vegetativo, el número de ramas, de hojas y de nudos por planta, la habilidad de competir con malezas y el grado de resistencia a los insectos. Esta diversidad genética que presenta el frijol, ha sido poco estudiada como una fuente para aumentar la fijación simbiótica de nitrógeno en el cultivo. A nivel nacional sólo existe un programa fuerte entre el Colegio de Postgraduados y el INIFAP, para aprovechar la gran diversidad genética en el frijol enfocado a obtener variedades con alta capacidad de fijación de nitrógeno y alto potencial de rendimiento de grano (López *et al.*, 1987a, 1987b). Se ha estimado que la fijación de nitrógeno en frijol en el campo varía de 40-70 kg de N ha⁻¹ (FAO, 1984); sin embargo, estudios realizados con N¹⁵ han demostrado que la fijación de nitrógeno en el cultivo varía de 13 a 114 kg de N ha⁻¹ (Ferrera-Cerrato *et al.*, 1984), dependiendo del hábito de crecimiento del cultivar, de la bacteria y del grado de asociación entre ambos simbioses (Ferrera-Cerrato, 1983; Rodríguez y Ferrera-Cerrato, 1984; Gardezi, 1986; Gardezi y Ferrera-Cerrato, 1987a, 1987b) en donde el área fotosintética y el ciclo de cultivo juegan un papel importante (Graham, 1981). Así, en frijol se presenta una gran variación en la capacidad de fijar nitrógeno, que debe explorarse con detenimiento. Pero también los estudios deben contemplar a las variedades silvestres de frijol y a las especies relacionadas como: *Phaseolus coccineus*, *Phaseolus acutifolius* y *Phaseolus lunatus*. Ferrera-Cerrato (1980) encontró que en varias especies de *Phaseolus* y en *Phaseolus vulgaris* silvestre existe diferente grado de asociación con *Rhizobium* dependiendo del grado de domesticación. No

obstante, algunas cepas de *Rhizobium* pueden mostrar mayor efectividad en otras especies de *Phaseolus* como *Phaseolus coccineus* y *Phaseolus acutifolius* que en *Phaseolus vulgaris* (Mejía, 1983). Lo anterior demuestra que existe un recurso genético con gran potencial para aumentar la fijación de nitrógeno, que puede sustituir parcial o totalmente la fertilización nitrogenada en el cultivo.

EXPERIENCIAS EN LA FIJACION SIMBIOTICA DE NITROGENO EN FRIJOL (*Phaseolus vulgaris*)

Primeros ensayos de campo con inoculantes comerciales.

En nuestro país se han realizado múltiples ensayos de campo en diferentes regiones agrícolas y bajo diferente tipo de suelos para evaluar la respuesta del frijol a los inoculantes comerciales de *Rhizobium phaseoli*. En casi todos ellos se han obtenido resultados poco satisfactorios a favor de los inoculantes (Luna, 1967; Lepiz, 1968; Ochoa 1973; Peña B., 1974; Chávez *et al.*, 1977 y Galomo, 1978), razón por la cual se ha recomendado fertilizar al cultivo con dosis de 40 a 80 kg de nitrógeno ha⁻¹, sin considerar las causas de la baja eficiencia de los inoculantes. En el Cuadro 2 se muestran algunos datos reportados por Chávez *et al.* (1977). En este estudio se consideraron tres niveles de nitrógeno y dos niveles de fósforo en plantas de frijol sin inocular, así como la inoculación de plantas de frijol con dos inoculantes comerciales más molibdeno, cobalto y fierro, con el objeto de evaluar el efecto sobre la nodulación, el rendimiento y el contenido de nitrógeno en la planta. Encontraron que la aplicación de nitrógeno abatió la nodulación, y que la fertilización fosfatada la incrementó; el rendimiento de grano y el contenido de nitrógeno en el cultivo fueron aumentados con ambos fertilizantes; la aplicación de los inoculantes comerciales no elevó la nodulación ni el rendimiento de grano; el molibdeno, cobalto y fierro (Molycofix) no tuvieron efecto en la nodulación ni en el

rendimiento de grano. Concluyen que dada la baja efectividad de los inoculantes, es necesario conocer la viabilidad de las bacterias durante el tiempo de producción y venta de este, o bien, si las cepas son intrínsecamente inefectivas para las variedades de frijol ensayadas.

Se ha atribuido la baja o nula respuesta del frijol a la inoculación a la mala calidad de los inoculantes comerciales, sin embargo, hay otros factores como los del ambiente y aquellos relacionados con la planta y la bacteria que juegan un papel importante en el éxito de un inoculante, por lo que es necesario conocerlos más a fondo. Pero esto implica la necesidad de contar con una colección microbiana donde estén contempladas preferentemente cepas del país, considerando

las regiones agrícolas donde el frijol es un cultivo importante.

Colecta de cepas mexicanas.

Existen varios métodos de aislamiento de *Rhizobium*; estos primeramente involucran un muestreo de la zona donde se desean obtener las cepas, dependiendo del objetivo del trabajo. En el Colegio de Postgraduados, se han realizado múltiples aislamientos de cepas de *Rhizobium phaseoli* de la Mesa Central, así como de los estados de Zacatecas, Durango y Aguascalientes a partir de nódulos en plantas de diferente hábito de crecimiento. En la Figura 4 se muestran los estados considerados. Las cepas una vez aisladas, deben someterse a un proceso de purificación para realizar estudios

Cuadro 2. Número medio de nódulos, rendimiento de grano (g) y nitrógeno total (mg) contenido por planta de frijol, bajo tres niveles de nitrógeno, dos niveles de fósforo y dos inoculantes (Chávez et al., 1977).

Inoculante	N	Nódulos por planta			Rendim. grano (g pl ⁻¹)			Contenido N(mg pl ⁻¹)		
		0	P ₂ O ₅ 60	\bar{X}	0	P ₂ O ₅ 60	\bar{X}	0	P ₂ O ₅ 60	\bar{X}
	kg ha ⁻¹	kg ha ⁻¹			kg ha ⁻¹			kg ha ⁻¹		
Testigo sin inocular	0	243	400	322	6.22	8.40	7.31	300	385	343
	60	134	324	229	6.90	8.27	7.58	291	391	341
	120	81	294	188	6.75	9.72	8.23	286	446	366
	\bar{X}	153	339	246	6.62	8.79	7.70	292	407	350
Inoc I + Mo-Co-Fe	0	182	488	335	6.18	8.68	7.43	270	375	322
	60	166	362	264	6.37	9.05	7.71	307	445	376
	120	90	195	142	6.78	10.48	8.63	362	445	403
	\bar{X}	146	349	247	6.44	9.41	7.93	313	421	367
Inoc II + Mo-Co-Fe	0	382	488	359	6.22	9.07	7.64	279	358	319
	60	146	370	258	6.98	7.42	7.20	342	370	356
	120	76	195	135	7.05	10.37	8.71	329	524	426
	\bar{X}	201	300	251	6.75	8.95	7.85	317	417	367
X _n	0	269	408	339	6.21	8.26	7.46	283	373	328
	60	149	352	250	6.75	8.25	7.50	327	402	357
	120	82	228	155	6.86	10.19	8.53	335	471	398
	\bar{X}	167	329	248	6.51	9.05	7.83	315	415	361

microbiológicos y de invernadero (Ferrera-Cerrato *et al.*, 1978) con el fin de autentificarlas, caracterizarlas y evaluar su efectividad. Entre las pruebas bioquímicas más comunes para su caracterización destacan: prueba para observar reacción ácida o alcalina, tolerancia a la acidez, tolerancia al NaCl, reacción de leche tornasolada, reducción del tetrazolium y resistencia a antibióticos (Rodríguez, 1983).

Relación Huésped-Simbionte.

El uso potencial de la simbiosis *Rhizobium phaseoli-Phaseolus vulgaris* para aumentar el rendimiento del frijol, implica estudios a varios niveles: efectividad de la bacteria, eficiencia del cultivar en la fijación de N₂, la interacción entre los dos simbiosis en la fijación de N₂ y el efecto del ambiente en la relación simbiótica. Los estudios con inoculantes comerciales sólo han tomado en cuenta la efectividad de la bacteria.

El uso de cepas de *Rhizobium* muy eficientes en la fijación de nitrógeno sobre un hospedero de base genética muy reducida, conduce a obtener resultados poco satisfactorios en la inoculación. Tendría que obtenerse una cepa eficiente, compatible e infectiva para cada genotipo existente de la especie de leguminosa en cuestión, lo cual es



Figura 4. Muestreo de cepas de *Rhizobium phaseoli* en diferentes estados de la República Mexicana.

una situación imposible de lograr en forma económica. Por otro lado, si la selección se hace considerando sólo la variación genética del hospedero, podemos llegar a poseer genotipos que asimilen grandes cantidades de nitrógeno atmosférico en presencia de una cepa determinada, pero este equilibrio puede romperse fácilmente por la ocurrencia indeseada de una cepa extraña debido al cambio de magnitud de los diversos factores ambientales que influyen sobre la simbiosis o por mutaciones ocurridas a la cepa de *Rhizobium* (Barrera, 1980).

De acuerdo a lo anterior, Rodríguez y Ferrera-Cerrato (1984) realizaron un trabajo con el fin de seleccionar las mejores cepas para producir inoculantes experimentales (búsqueda de producción de inoculantes comerciales). Se procedió a hacer las pruebas de inefectividad y efectividad en la fijación de N a nivel de invernadero, empleándose tezontle estéril como sustrato y solución de Jensen libre de nitrógeno. Las variedades de frijol empleadas fueron: Cacahuete, hábito de crecimiento I (HCI); Ojo de Cabra, hábito de crecimiento II (HCII), Negro Puebla, hábito de crecimiento III (HCIII) y Michoacán 150, hábito de crecimiento IV (HCIV). Los resultados obtenidos mostraron diferencia en la respuesta de estas variedades a la inoculación con las diferentes cepas de *Rhizobium phaseoli*.

En el hábito I, las cepas que presentaron los picos más altos de eficiencia en la fijación de nitrógeno fueron: EL 21, EL 68, EL 49 y EL 28 (Figura 5). En el hábito II, las cepas que presentaron los picos más altos en la fijación de nitrógeno fueron EL 65 y EL 98 (Figura 6). En el hábito III, las cepas que presentaron los picos más altos en la fijación de nitrógeno fueron EL 89 y EL 109 (Figura 7). En el hábito IV, las cepas que presentaron los picos más altos de eficiencia en la fijación de nitrógeno fueron EL 63, EL 67, EL 119 y EL 114 (Figura 8).

Del resultado final de la investigación sólo el 37.5% del total de cepas se comportó como efectivo en más de una variedad, y únicamente la cepa EL 63 resultó ser efectiva en las cuatro variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris*) de diferente hábito de crecimiento estudiadas. El 10% se comportó como efectivo en la fijación de nitrógeno en tres variedades

de frijol (EL 90, EL 20, EL 18, EL 97, EL 67, EL 110, EL 92) y el 26.6% se comportó como efectivo en la fijación de nitrógeno en dos variedades de frijol (EL 85, EL 103, EL 45, EL 69, EL 48, EL 49, EL 108, EL 111, EL 74, EL 32, EL 13, EL 21, EL 96, EL 55, EL 88, EL 58, EL 102, EL 39, EL 107, EL 31, EL 65, EL 56, EL 44, EL 67, EL 119) (Figura 9). Finalmente

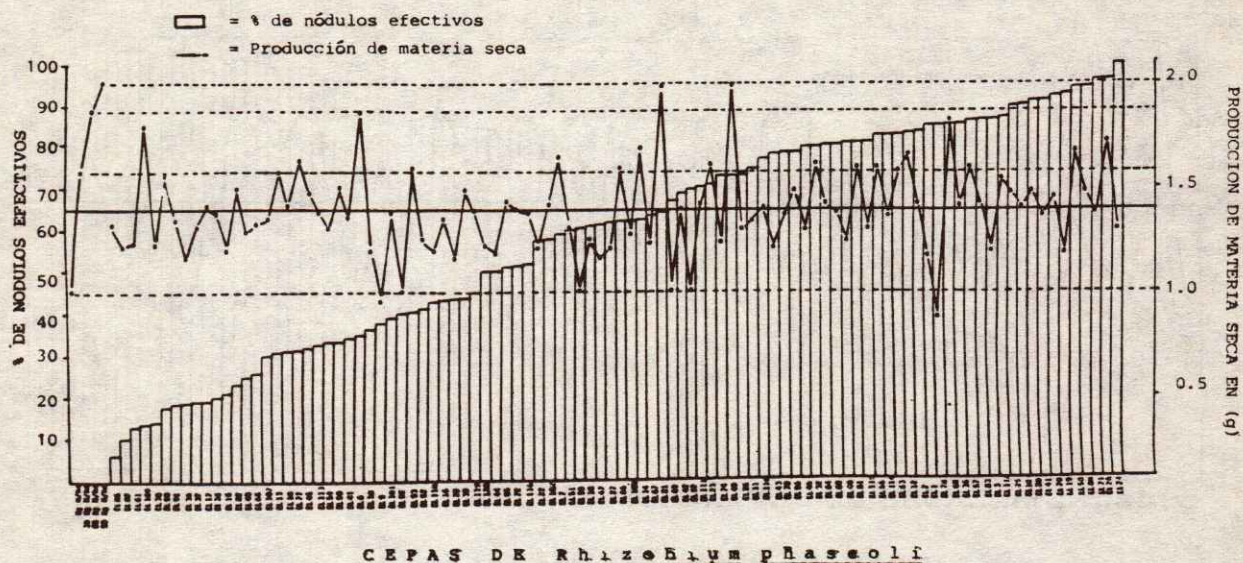


Figura 5. Selección de cepas de *Rhizobium phaseoli* en *Phaseolus vulgaris* variedad Cacahuete 72 hábito de crecimiento I (Rodríguez et al., 1984).

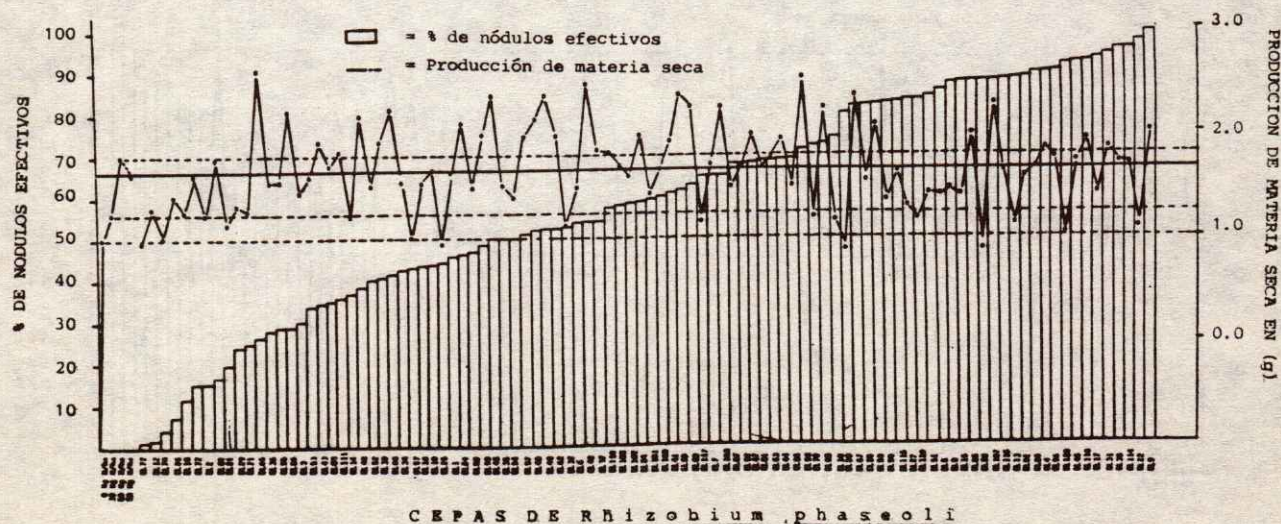


Figura 6. Selección de cepas de *Rhizobium phaseoli* en *Phaseolus vulgaris* variedad Ojo de Cabra 400 hábito de crecimiento II (Rodríguez et al., 1984).

concluyeron que existe diferente conducta de las cepas en relación a la efectividad de la fijación de nitrógeno dependiente de la variedad o hábito de crecimiento del frijol, lo que permite poner de manifiesto el fenómeno de interespecificidad.

Este fenómeno implica que, al considerar una sola variedad en la selección, se corre el riesgo de desechar algunas cepas que no se comportaron como efectivas en esa variedad en particular, pero que pueden mostrar su eficiencia en otra; igualmente, se corre el

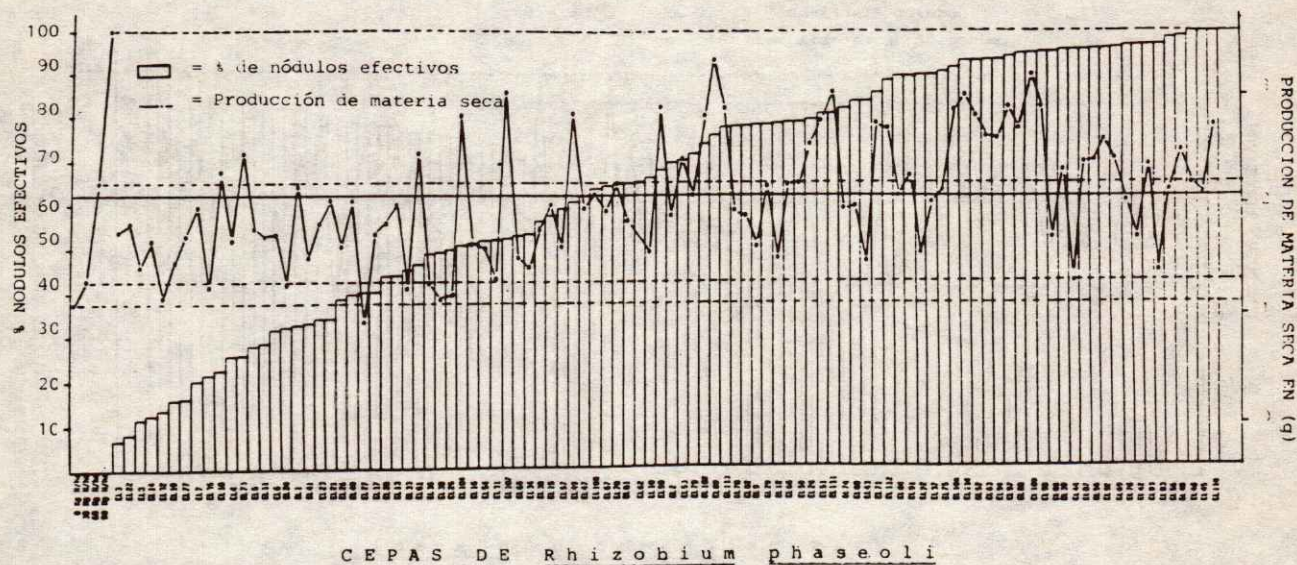


Figura 7. Selección de cepas de *Rhizobium phaseoli* en *Phaseolus vulgaris* variedad Negro Puebla 338 hábito de crecimiento III (Rodríguez et al., 1984).

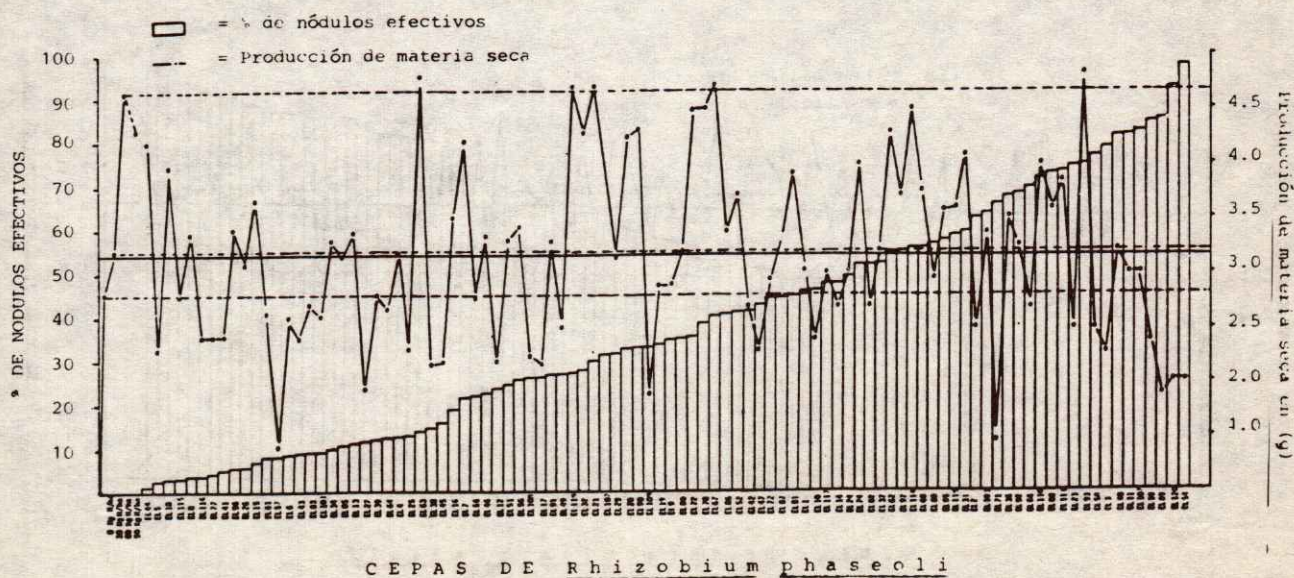


Figura 8. Selección de cepas de *Rhizobium phaseoli* en *Phaseolus vulgaris* variedad Michoacán 150 hábito de crecimiento IV (Rodríguez et al., 1984).

riesgo de seleccionar cepas indeseables, que sólo se comporten como efectivas en dicha variedad. Sin embargo, el riesgo debe correrse, por el gran trabajo que presenta el

proceso de selección al evaluar un número muy grande de cepas. Esto puede amortiguarse si la selección se hace para una región agrícola en particular, considerando una variedad de la región que sea de amplio espectro de infección. En la Figura 10, se muestran datos de Ferrera-Cerrato (1984) de un estudio realizado con cepas aisladas de Zacatecas con el empleo de una variedad regional de hábito de crecimiento III con amplio espectro en cuanto a su afinidad con cualquier cepa de *Rhizobium phaseoli*. Los datos muestran una amplia variabilidad en relación a la capacidad de fijación de nitrógeno de las cepas ensayadas medida a través de la producción de materia seca: 44 de las cepas fueron seleccionadas como efectivas. Aunque ésta es la forma de selección más factible, el fenómeno de interespecificidad sigue estando presente.

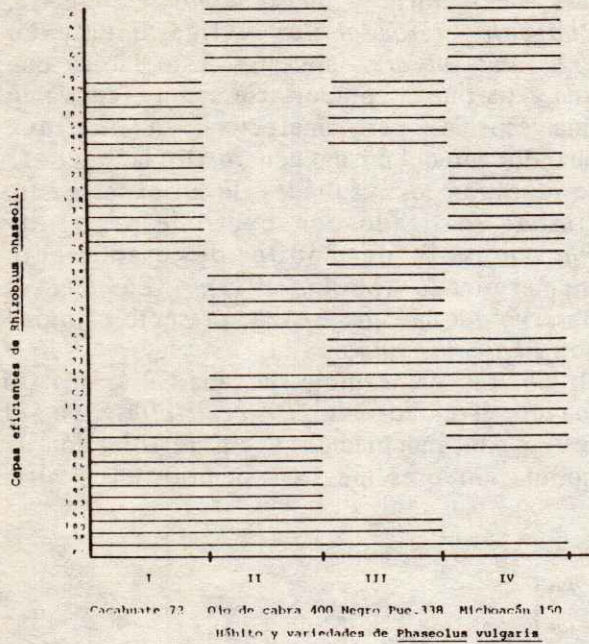


Figura 9. Relación interespecifica de *Rhizobium phaseoli* y los diferentes hábitos de crecimiento de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) (Rodríguez et al., 1984).

Rhizobium phaseoli se encuentra clasificada como específica para *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus coccineus* y *Phaseolus acutifolius*. No obstante, hay cepas que muestran mayor afinidad por algunas de las especies. Ferrera-Cerrato (1980) estudió la relación entre *Rhizobium phaseoli* y diferentes especies del género *Phaseolus* domesticado y silvestre. Las especies empleadas fueron: *Phaseolus dumosus*

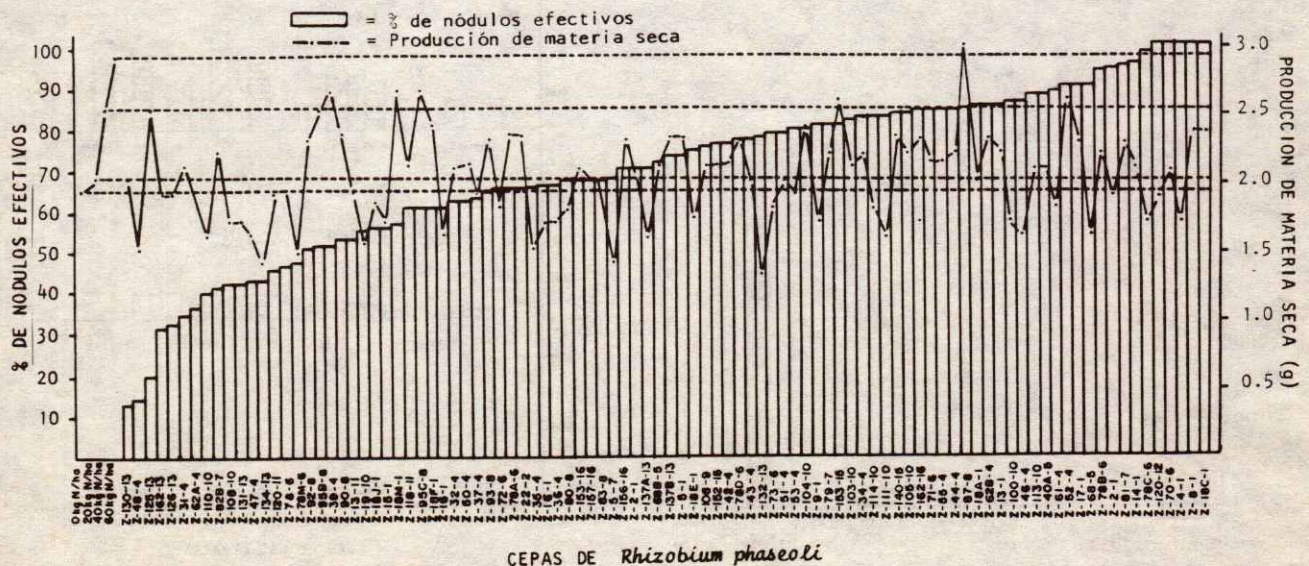


Figura 10. Selección de cepas de *Rhizobium phaseoli* en *Phaseolus vulgaris* variedad Bayo Durango de hábito de crecimiento III.

domesticado, *Phaseolus coccineus* domesticado, semidomesticado y silvestre, *Phaseolus vulgaris* domesticado y silvestre, *Phaseolus acutifolius* domesticado, *Phaseolus lunatus* domesticado y silvestre, *Phaseolus oligospermus* y *Phaseolus leiocephalus* silvestre; las cepas de *Rhizobium phaseoli* inoculadas fueron CP10, CP16, y CPA, (las dos primeras eficientes y la otra ineficiente). En este estudio se encontraron diferentes grados de asociación, dependiendo de la especie y grado de evolución cultural del huésped. En las Figuras 11 y 12 se muestran resultados del experimento. *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus dumosus* domesticado y *Phaseolus leiocephalus*

silvestre presentaron buena nodulación, no se observó nodulación en *Phaseolus oligospermus* y en el resto de las especies fue muy baja. La eficiencia en fijación de nitrógeno sólo se puso de manifiesto en *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus leiocephalus* y ligeramente en *Phaseolus vulgaris* silvestre. Esto indica que una cepa puede comportarse como efectiva en una especie, pero inefectiva en otra aun cuando sean del mismo género. En la Figura 13 se muestran los resultados de un experimento similar realizado con cuatro especies de *Phaseolus* de hábito de crecimiento indeterminado (Mejía, 1983). En ésta se observó que la cepa EL 24, presentó afinidad con *Phaseolus vulgaris* L cv. Negro 150 y *P. lunatus*; en cambio la cepa CP 5 mostró mayor afinidad con *P. acutifolius*, en el testigo sin inoculación y sin fertilización la nodulación presente casi siempre fue alta,

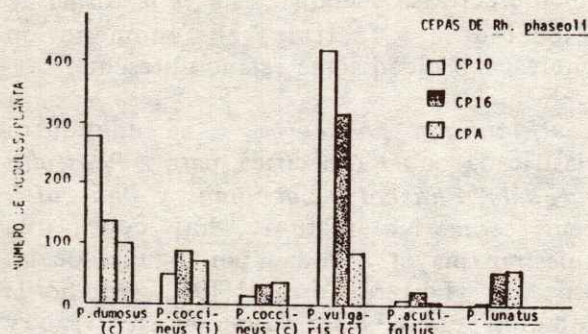


Figura 11. Nodulación de las especies del género *Phaseolus* cultivadas de México. (c = domesticado, i = semidomesticado) (Ferrera-Cerrato, 1980).

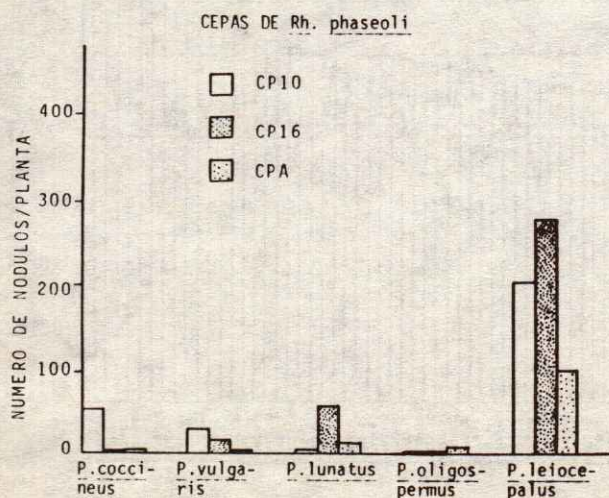


Figura 12. Nodulación de las especies del género *Phaseolus* silvestres de México (Ferrera-Cerrato, 1980).

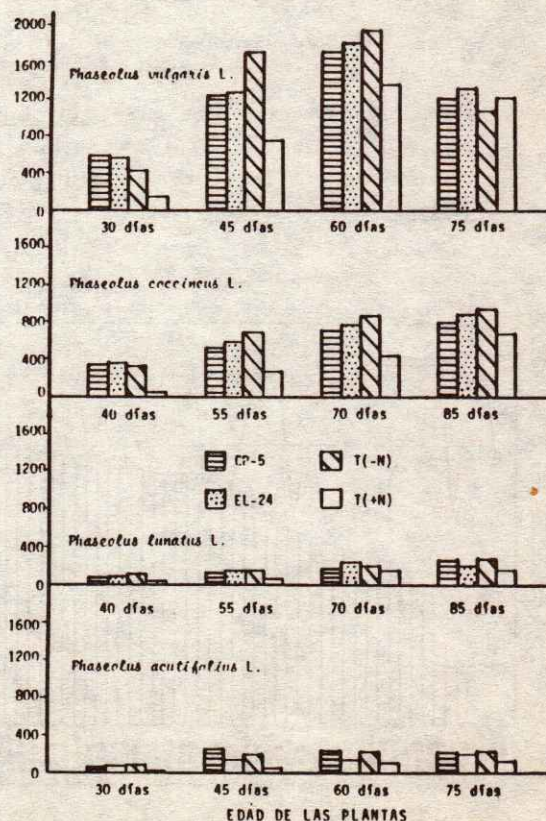


Figura 13. Número de nódulos en cuatro especies de *Phaseolus* durante su desarrollo (Mejía, 1983).

lo cual demuestra que la afinidad de las cepas nativas por las especies de *Phaseolus* fue mayor, aunque su efectividad fue baja.

La efectividad de una cepa, evaluada en condiciones óptimas para su expresión, no es la misma cuando se inocula en campo, puesto que las condiciones ambientales y los microorganismos del suelo determinaran su establecimiento. La respuesta que presentan los cultivares ensayados a la inoculación ha sido casi siempre negativa, como sucede con los inoculantes comerciales, aun cuando el inoculante experimental es controlado más estrictamente (Cuautle *et al.*, 1981; Ferrera-Cerrato, 1983; Fuentes, 1981; Peña, 1983; Pérez, 1987). Fuentes (1981) evaluó la respuesta a la inoculación con diferentes cepas de *Rhizobium phaseoli* en los componentes del rendimiento de tres variedades de frijol. Observó que el mayor número de nódulos se obtuvo en la variedad Flor de Mayo X-16441 y que, en general, las variedades responden en forma diferente a las cepas utilizadas (Figura 14).

En cuanto a los componentes del rendimiento, encontró respuesta a la

inoculación para el peso seco de lámina foliar, sin embargo, para rendimiento de grano no hubo diferencias significativas entre el testigo sin nitrógeno, las cepas inoculadas y el testigo con nitrógeno (Cuadros 3 y 4). Ferrera-Cerrato (1981, 1983), en varios experimentos de campo e invernadero con frijol, utilizando diferentes cepas de *Rhizobium* (nacionales y extranjeras) y distintos niveles de fertilización nitrogenada, no observó diferencias entre tratamientos para rendimiento de grano; esto pudo deberse a que el suelo tenía suficiente nitrógeno disponible o que las cepas nativas fueron altamente competitivas y efectivas. En el Cuadro 5 se muestran datos de uno de estos experimentos de campo, donde se observa que existe diferencia entre variedades en peso seco de follaje, lo que se explica por el diferente hábito de crecimiento, lo mismo ocurre para el peso seco de vainas por parcela y número de nódulos por planta; no obstante, para rendimiento de grano no se encontraron diferencias significativas. En cuanto a la especificidad de las cepas, se presentó una mayor preferencia de las cepas hacia el genotipo criollo.

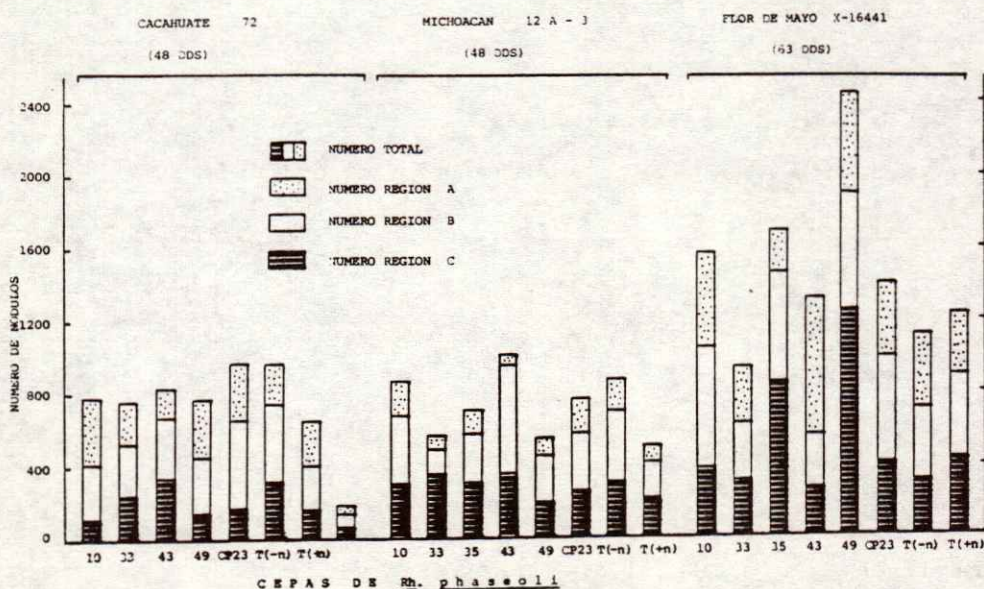


Figura 14. Distribución del número de nódulos en tres variedades de frijol (*Ph. vulgaris* L.), inoculadas con diferentes cepas de *R. phaseoli* (DDS = días después de siembra) (Fuentes, 1981).

Cuadro 3. Peso seco de lámina foliar por maceta (tres plantas) sobre inoculantes en frijol (g).

Cepas de <i>R. phaseoli</i>	Variedades			Promedio por cepa
	Cacahuete ¹⁾ 72	Michoacán ¹⁾ 12-A-3	Flor de Mayo ²⁾ x-16441	
10	5.07 a	5.40 a	11.79 a	7.42 b
33	5.63 a	6.63 a	11.47 a b	7.91 a b
35	5.75 a	5.70 a	10.39 b	7.28 b
43	6.28 a	6.13 a	9.38 b	7.41 b
49	6.06 a	6.62 a	8.44 c	7.04 b
CP 23	5.97 a	5.37 a	8.39 b c	6.76 b c
T (-N)	4.87 a	5.50 a	7.01 c	5.79 c
T (+N)	6.61 a	7.74 a	13.93 a	9.42 a
Promedio por variedad	5.78 b	6.13 b	10.22 a	

Promedio de nueve plantas

1) a los 48 días después de la siembra.

2) a los 63 días después de la siembra.

Cuadro 4. Rendimiento de semilla por maceta (tres plantas) sobre inoculantes en frijol (g).

Cepas de <i>R. phaseoli</i>	Variedades			Promedio por cepa
	Cacahuete ¹⁾ 72	Michoacán ¹⁾ 12-A-3	Flor de Mayo ²⁾ x-16441	
10	13.51	10.38	13.04	12.31
33	11.52	11.11	11.44	11.36
35	12.51	9.70	14.14	12.07
43	12.37	11.00	11.65	11.67
49	12.02	11.56	8.94	10.84
CP 23	12.65	12.21	11.40	12.08
T (-N)	12.41	13.50	14.45	13.45
T (+N)	10.18	9.87	12.18	10.74
Promedio por variedad	12.13	11.16	12.15	

Promedio de nueve plantas

1) a los 113 días después de la siembra.

2) a los 128 días después de la siembra.

El análisis de los resultados anteriores nos permite afirmar que la planta juega un papel importante en el mecanismo de reconocimiento de ésta hacia la bacteria, de tal forma que manifiesta una mayor afinidad por ciertas cepas. No obstante, el ambiente debe ejercer una presión sobre la planta y la bacteria, en donde los fenómenos de competencia con las cepas nativas por los sitios de infección y las interacciones con los demás microorganismos del suelo están implicados, lo cual se traduce como una incapacidad de las cepas inoculadas para mostrar su efectividad, o bien que sólo un número reducido de cepas la manifiesten.

Los datos de algunos experimentos donde las cepas de *Rhizobium* si manifiestan su efectividad, refuerzan más estas consideraciones.

López (1982) trabajó bajo dos sistemas de producción denominados suelo negro profundo en posición de planicie y suelo negro delgado en posición de planicie en la región de la Mixteca Poblana en la que evaluó el efecto de la inoculación de *Rhizobium phaseoli* y diferentes dosis de fertilización en el

cultivo de frijol. Encontró para el primer sistema un efecto benéfico de la inoculación, ya que observó una relación positiva entre el uso de cepas de *Rhizobium phaseoli* y el rendimiento de grano, siendo el tratamiento inoculado con la cepa CP 30 + 60 kg de P_2O_5 ha^{-1} el que dio la más alta respuesta (473.25 kg grano ha^{-1}), superando al rendimiento logrado con el tratamiento sin inocular fertilizado con 60 kg N ha^{-1} + 30 kg P_2O_5 ha^{-1} (443 kg de grano ha^{-1}) en 6.8% y al rendimiento de grano logrado por el testigo (378.97 kg grano ha^{-1}) en 24.9% (Cuadro 6). Con el segundo sistema, observó que las cepas nativas presentaron alta respuesta a la aplicación de fósforo, expresando su potencial en la fijación de nitrógeno atmosférico; encontró que los rendimientos más altos fueron logrados por los tratamientos: sin inoculación fertilizado con 60 kg de P_2O_5 ha^{-1} (606.41 kg ha^{-1}), inoculación con la cepa CP 30 + 60 kg de P_2O_5 ha^{-1} (583.60 kg ha^{-1}) y sin inoculación fertilizado con 60 kg de N ha^{-1} + 30 kg P_2O_5 ha^{-1} (499.16 kg ha^{-1}) (Cuadro 7).

Estos resultados demuestran que la eficiencia de *Rhizobium* está fuertemente influenciada por las condiciones ambientales;

Cuadro 5. Parámetros observados en el experimento de frijol establecido en el campo.

Cepa <u>Rhizobium</u>	N- P_2O_5 kg ha^{-1}	Variedad	Número de nódulos \bar{x} 2 plantas	Peso seco de tallos	Peso seco de follaje	Peso seco de vainas	Peso seco de granos
			----- ton ha^{-1} -----				
El 114	20-60	Criollo	175.7 a*	3.11 a	2.8 a	.94 a b c	2.9 a
El 114	20-60	Ojo de cabra	38.3 b c	.93 b	1.98 b	.85 a b c	2.8
El 114	20-60	Bayomex	5.3 b c	.92 b	.955 c	.94 a b c	2.9 a
El 71	20-60	Criollo	133.3 a b	3.0 a	2.98 a	.97 a b	3.3 a
El 71	20-60	Ojo de cabra	56 b c	.96 b c	1.7 b	.79 c	2.7 a
El 71	20-60	Bayomex	1 c	1.0 b	1.15 c	1.0 c	3.1 a
-	20-60	Criollo	102 a b c	3.0 a	2.7 a	.92 a b c	3.2 a
-	20-60	Ojo de cabra	31 b c	.93 b	1.8 b	.78 c	2.6 a
-	20-60	Bayomex	12 c	.97 b	.95 c	1.0 a	3.1 a
-	00-60	Ojo de cabra	N.D.	.94 b	1.88 b	.38 b c	2.8 a

N.D. = No determinado.

* Las cifras con una misma letra son estadísticamente iguales (DSH .05).

Cuadro 6. Parámetros observados en el experimento de frijol establecido en suelo profundo (Sitio 1).

No Trat.	Cepa de <i>Rhizobium</i>	N-P ₂ O ₅	Rendimiento	Peso seco parte aérea	Peso seco de nódulos	N parte aérea
		kg ha ⁻¹	kg ha ⁻¹	g (2 plantas) ⁻¹	g(2 plantas) ⁻¹	%
1	CP10	00-00	419.10	4.22	.00145	3.07
2	CP10	00-30	332.05	3.78	.01172	3.31
3	CP10	00-60	439.77	2.51	.00827	2.85
4	CP30	00-00	460.86	4.01	.00985	2.73
5	CP30	00-30	335.15	2.70	.00215	2.79
6	CP30	00-60	473.25	4.37	.00980	3.22
7	CP31	00-00	254.11	2.13	.00650	3.08
8	CP31	00-30	374.38	3.50	.00762	2.11
9	CP31	00-60	407.88	3.20	.00320	2.81
10	CPM	00-00	436.84	3.11	.01102	3.06
11	CPM	00-30	400.5	4.53	.00895	3.07
12	CPM	00-60	473.65	4.60	.00755	2.77
13	0	00-00	378.97	3.08	.00082	2.82
14	0	00-30	454.94	3.96	.00047	3.15
15	0	20-30	274.96	2.35	.00475	2.55
16	0	40-30	389.74	4.15	.00562	2.77
17	0	60-30	443.09	4.10	.00320	2.66
18	0	00-60	404.75	2.88	.00217	2.64

Cuadro 7. Parámetros observados en el experimento de frijol suelo delgado (Sitio 2).

No. Trat.	Cepa de <i>Rhizobium</i>	N-P ₂ O ₅	Número de nódulos	Peso seco nódulos	Peso seco parte aérea	N en la parte aérea	Rendimiento grano
		kg ha ⁻¹	\bar{x} 2 plantas	g(2 plantas) ⁻¹	g(2 plantas) ⁻¹	%	kg ha ⁻¹
1	CP10	00-00	91	.1852	32.96	2.51	371.18
2	CP10	00-30	92.7	.0841	35.86	2.63	409.61
3	CP10	00-60	120.5	.1027	27.18	2.41	449.47
4	CP30	00-00	81.7	.0843	28.36	2.47	320.99
5	CP30	00-30	94.5	.0696	28.08	2.58	470.41
6	CP30	00-60	154.5	.1451	34.23	2.41	583.68
7	CP31	00-00	73.2	.0648	26.91	2.68	289.35
8	CP31	00-30	86.2	.0797	34.58	2.83	469.07
9	CP31	00-60	108.2	.0831	40.53	2.55	459.96
10	CPM	00-00	55.7	.0462	29.08	2.69	305.39
11	CPM	00-30	97.2	.0686	30.73	2.68	447.76
12	CPM	00-60	32.0	.0468	30.63	2.68	389.53
13	0	00-00	88.5	.1022	29.26	2.66	363.89
14	0	00-30	110.7	.0809	30.78	3.40	482.91
15	0	20-30	89.0	.0905	32.71	2.62	338.15
16	0	40-30	54.5	.0390	34.96	2.87	422.64
17	0	60-30	51.2	.0305	33.36	2.88	499.16
18	0	00-60	91.2	.0773	38.96	2.69	606.41

sin embargo, es posible encontrar cepas que muestren cierta plasticidad, que les permite adaptarse al ambiente, como es el caso de la cepa CP 30, la cual mostró su eficiencia en los dos sistemas de producción.

En un ensayo nacional de cepas de *Rhizobium phaseoli*, Ferrera-Cerrato (1984) evaluó la respuesta a la inoculación de dos variedades de frijol con siete cepas efectivas de la Mesa Central. La inclusión de dos genotipos de frijol fue con el objeto de estudiar su posible interrelación con las diferentes rizobias inoculadas y nativas, además de analizar los efectos de cada cepa y variedad en particular. Los genotipos evaluados en este experimento tuvieron fuertes diferencias en el número de nódulos formados por planta, la inoculación no incrementó el número de nódulos efectivos y totales (Cuadros 8 y 9). En cuanto a peso seco de nódulos efectivos, encontró que esta variable fue altamente influenciada por la interacción entre genotipo de frijol y cepa de *Rhizobium*. En la variedad Ojo de Cabra-400 no hubo diferencias entre

cepas para peso seco en nódulos efectivos, pero en el cultivar criollo sí se detectaron. La cepa CPMEX22 presentó el peso seco de nódulos más alto en el cultivar criollo (Cuadro 10). Entre variedades, el peso seco más alto de nódulos efectivos fue presentado por el cultivar criollo (Cuadro 11). En relación a producción de materia seca, sus resultados indican diferencias entre cepas (Cuadro 12). El peso seco de la raíz sin nódulos fue afectado únicamente por el factor cepa, el efecto de variedad no fue significativo. El testigo con N y P produjo el mayor peso seco de la parte aérea; solamente con la cepa CPMEX43 se obtuvo una acumulación de materia seca estadísticamente igual a este tratamiento.

Los ensayos de campo con cepas mexicanas nos muestran que debe presentarse mayor atención a la ecología de *Rhizobium*, ya que existe una interacción cepa-planta-ambiente,

Cuadro 8. Efecto de la variedad de frijol sobre el número y porcentaje de nódulos por planta¹⁾ (Ensayo Nacional de Cepas de *Rhizobium phaseoli* 1984).

	Variedad		Significancia de las diferencias
	Criollo	Ojo de Cabra	
Nódulos efectivos	138.20	63.01	*
Nódulos inefectivos	51.87	13.64	*
Total	190.07	76.65	**
% de efectivos	73.22	80.98	NS
% de inefectivos	26.78	19.02	NS

1) Promedio de 30 unidades experimentales/variedad.

* Significativa ($P > F = 0.05$).

** Altamente significativa ($P > F = 0.01$).

NS = No significativa.

Cuadro 9. Efecto de la cepa de *Rhizobium* sobre el número de nódulos¹⁾ (Ensayo Nacional de Cepas de *Rhizobium phaseoli* 1984).

Cepa	Tratamiento		Nódulos Planta ⁻¹		
	N	P	efectivos	inefectivos	totales
	kg ha ⁻¹				
CPMEX 1	00	40	8.13 a*	32.75 ab	115.88 a
CPMEX 8	00	40	112.75 a	29.29 ab	142.04 a
CPMEX 9	00	40	89.54 a	30.42 ab	119.96 a
CPMEX 18	00	40	102.50 a	26.21 ab	128.71 a
CPMEX 22	00	40	111.46 a	39.50 ab	150.96 a
CPMEX 43	00	40	81.79 a	42.54 ab	124.33 a
EL 63	00	40	103.79 a	27.38 ab	131.17 a
-	00	00	93.96 a	15.38 b	109.54 a
-	00	40	108.88 a	53.83 a	162.71 a
-	45	40	118.25 a	30.04 ab	148.29 a

1) Promedio de seis unidades experimentales por tratamiento.

* En cada columna, las medias que tienen la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha = 0.05$).

Cuadro 10. Efecto de la cepa de *Rhizobium* en cada variedad de frijol (*Phaseolus vulgaris*) sobre el peso seco de nódulos efectivos (Ensayo Nacional de Cepas de *Rhizobium phaseoli* 1984).

Cepa	Tratamiento		Variedad ¹⁾ *	
	N	P	Criollo	Ojo de Cabra
	kg ha ⁻¹		g	
CPMEX 1	00	40	0.1565 b	0.1070 a
CPMEX 8	00	40	0.3229 a	0.1357 a
CPMEX 9	00	40	0.1935 b	0.1781 a
CPMEX 18	00	40	0.3138 ab	0.1144 a
CPMEX 22	00	40	0.3730 a	0.1325 a
CPMEX 43	00	40	0.2269 a	0.0689 a
EL 63	00	40	0.2739 ab	0.1207 a
-	00	00	0.3074 ab	0.0736 a
-	00	40	0.3331 a	0.1121 a
-	45	40	0.3448 a	0.0818 a

1) Promedio de tres unidades experimentales por tratamiento.

* En cada columna las medias que tienen la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha = 0.05$).

que no permite que la cepa de *Rhizobium* manifieste su potencial de fijación de nitrógeno. Pero ¿qué aspectos del ambiente y de la planta son los que están influyendo fuertemente sobre la bacteria? El análisis de los experimentos anteriormente mencionados atribuyen una gran importancia a la

Cuadro 11. Efecto de la variedad de frijol (*Phaseolus vulgaris*) sobre el peso seco de nódulos por planta¹⁾ (Ensayo Nacional de Cepas de *Rhizobium phaseoli* 1984).

	Variedad		Significancia de las diferencias
	Criollo	Ojo de Cabra	
	g		
Nódulos efectivos	0.2846	0.1125	*
Nódulos inefectivos	0.0589	0.0288	**
Total	0.3435	0.1413	*

1) Promedio de 30 unidades experimentales/variedad.

* Significativa ($P > F = 0.05$).

** Altamente significativa ($P > F = 0.01$).

Cuadro 12. Efecto de la cepa de *Rhizobium* sobre la producción de materia seca por planta¹⁾. (Ensayo Nacional de Cepas de *Rhizobium phaseoli* 1984).

Cepa	Tratamiento		Raíz		Parte aérea	Total	
	N	P	sin nódulos	con nódulos		sin nódulos	con nódulos
	kg ha ⁻¹		g*				
CPMEX 1	00	40	0.91 b	1.08 b	11.50 b	12.41 b	12.58 b
CPMEX 8	00	40	0.99ab	1.25ab	13.35 b	13.35 b	14.60 b
CPMEX 9	00	40	0.96 b	1.19ab	12.86 b	13.82 b	14.05 b
CPMEX 18	00	40	0.91 b	1.17 b	11.51 b	12.42 b	12.68 b
CPMEX 22	00	40	0.94 b	1.25ab	13.36 b	14.30 b	14.61 b
CPMEX 43	00	40	0.94 b	1.13 b	13.83ab	14.77ab	14.97ab
EL 63	00	40	1.00ab	1.23ab	12.68 b	13.69 b	13.92 b
-	00	00	0.86 b	1.08 b	13.17 b	14.03 b	14.25 b
-	00	40	0.96ab	1.27ab	11.19 b	12.16 b	12.46 b
-	45	40	1.27a	1.52a	18.63a	19.90a	20.15a

1) Promedio de seis unidades experimentales por tratamiento.

* En cada columna las medias que tienen la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha = 0.05$).

competencia con las cepas nativas del suelo y a la planta. Sin embargo, es indudable que deben existir otros factores involucrados como son la sobrevivencia de la bacteria, el pH, la humedad, la fertilidad del suelo, etc. En el siguiente apartado se analizan experimentos que consideran alguno de estos factores.

Experiencias en la ecología de la simbiosis *Rhizobium phaseoli-Phaseolus vulgaris*.

Existen factores que afectan la viabilidad de *Rhizobium*, como es el pH del suelo. Este factor es una limitante para la fijación de N₂ cuando se alcanzan valores altos de acidez, lo cual es común en suelos tropicales. Campos (1986) estudió la sobrevivencia de *Rhizobium* en un suelo ácido (pH 4.5) esterilizado y sin esterilizar utilizando siete cepas seleccionadas como efectivas en la fijación de N₂.

El comportamiento de las cepas no fue uniforme, algunas se adaptaron mejor al suelo esterilizado, en tanto que otras lo hicieron al suelo no esterilizado. Así, las cepas CP 23, CPMEX 2, CPMEX 34 y CPMEX 42 son ejemplos del primer caso; mientras que las cepas CP 61 y CIAT 899 se comportaron en general mejor en el suelo no estéril (Figuras

15-20). Las cepas que resultaron tolerantes a la acidez se probaron en invernadero, estas presentaron efectos positivos sobre nodulación y crecimiento del frijol con valores mayores a los obtenidos con la aplicación de 150 kg ha⁻¹ de nitrógeno orgánico. La aplicación de cal a un nivel de 1.5 ton ha⁻¹ afectó de manera positiva a la nodulación. La variedad Jamapa mostró mejor adaptación a las condiciones de acidez del suelo.

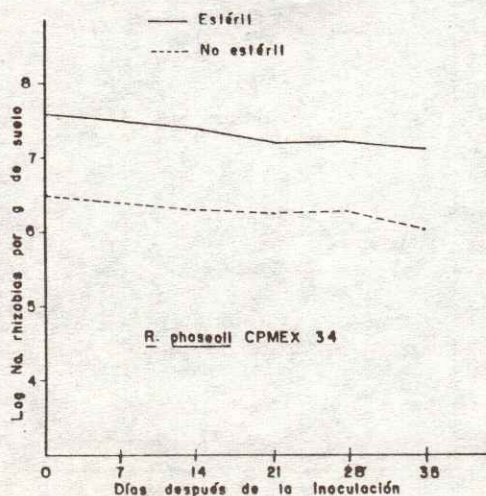


Figura 15. Sobrevivencia de *Rhizobium phaseoli* en un suelo ácido (pH 4.5) de Veracruz (Campos, 1986).

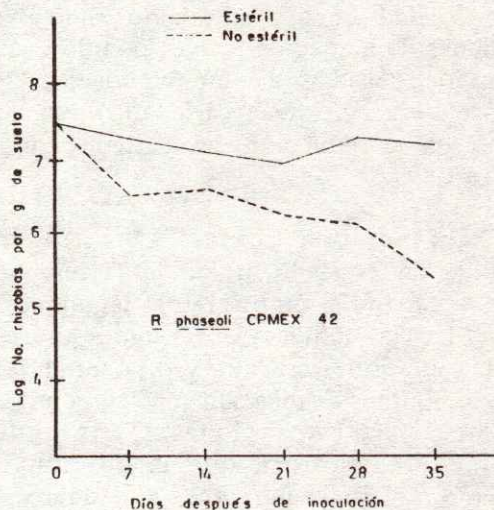


Figura 16. Sobrevivencia de *Rhizobium phaseoli* en un suelo ácido (pH 4.5) de Veracruz (Campos, 1986).

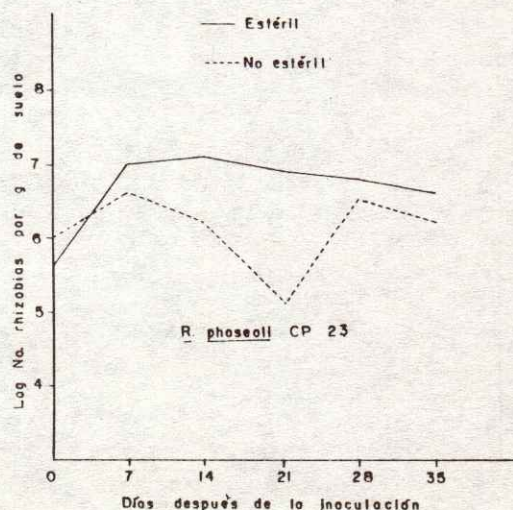


Figura 17. Sobrevivencia de *Rhizobium phaseoli* en un suelo ácido (pH 4.5) de Veracruz (Campos, 1986).

Las cepas de *Rhizobium phaseoli* presentaron comportamientos diferentes al ser inoculadas en dos variedades distintas de frijol (Jamapa y Cacahuate 72). El encalado de los suelos incrementó la nodulación y el crecimiento de frijol a un nivel de 1.5 ton ha^{-1} de aplicación de cal; la adición de 3.0 ton ha^{-1} de cal fue depresiva. La adición de molibdeno al suelo ácido no afectó la nodulación ni el crecimiento del frijol.

La variedad Jamapa se adaptó bien a las condiciones de acidez del suelo, debido a que esta variedad se siembra comúnmente en suelos ácidos de Veracruz. Esta variedad fue la más eficiente en la reducción de acetileno con la cepa CIAT 899.

Al igual que la acidez, el nitrógeno disponible en el suelo afecta la fijación de nitrógeno. Estudios en diferentes leguminosas indican que la nodulación se inhibe por la presencia de iones nitrato y/o amonio, sin embargo, algunos grupos son más susceptibles que otros a estos iones. Algunos investigadores indican que la adición de fertilizante nitrogenado en un rango de $5\text{-}15 \text{ kg N ha}^{-1}$ promueve el desarrollo de los nódulos (Graham y Halliday, 1977).

En frijol, los experimentos de campo han demostrado que la aplicación de fertilizante

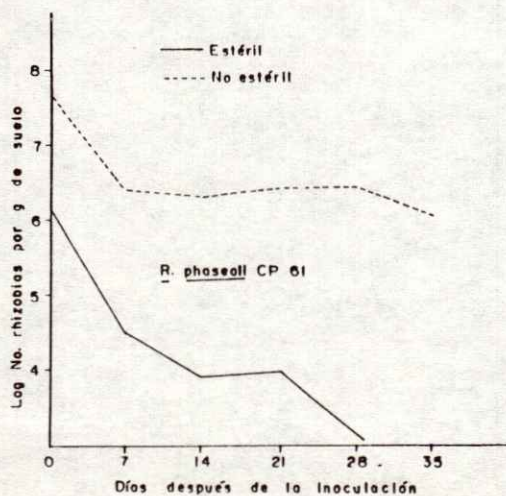


Figura 18. Sobrevivencia de *Rhizobium phaseoli* en un suelo ácido (pH 4.5) de Veracruz (Campos, 1986).

nitrogenado al suelo disminuye la nodulación (Alcántar, 1978; Cuautle *et al.*, 1981; Chávez *et al.*, 1977; Peña, 1983).

Alcántar (1978) observó que el peso seco y número de nódulos fueron reprimidos por niveles altos de nitrógeno (45 y 60 ppm), durante las etapas iniciales de su formación y crecimiento, siendo más marcados para los nitratos que para el amonio; sin embargo,

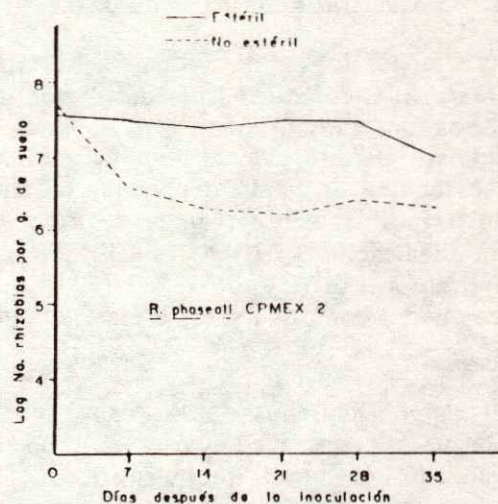


Figura 19. Sobrevivencia de *Rhizobium phaseoli* en un suelo ácido (pH 4.5) en Veracruz (Campos, 1986).

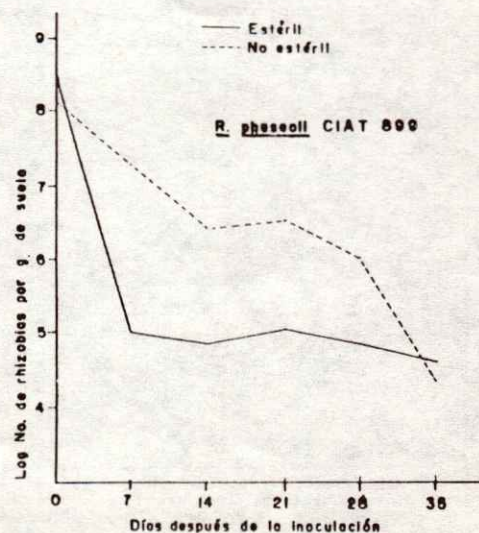


Figura 20. Sobrevivencia de *Rhizobium phaseoli* en un suelo ácido (pH 4.5) de Veracruz (Campos, 1986).

encontró que el contenido de leghemoglobina no se vio afectado. Observó además que dosis mayores de nitrógeno (45 y 60 ppm) mostraron un efecto depresivo sobre la fijación de nitrógeno al inicio de la nodulación y durante la etapa de mayor actividad, no obstante, a los 70 días desapareció el efecto, ya que en ese momento dejaron de ser útiles los nódulos en su aporte de nitrógeno a la planta.

En el sistema de cultivo maíz-frijol, es común la práctica de fertilizar con nitrógeno, con lo cual debe inhibirse la actividad de *Rhizobium*. En un estudio de López *et al.* (1984), en la asociación maíz-frijol, se evaluaron tres cepas de *Rhizobium phaseoli* bajo dosis creciente de nitrógeno mineral (0, 20, 40, 60 y 80 kg ha⁻¹). Observaron que mientras que aumentó la dosis de nitrógeno aplicado al suelo, el número de nódulos disminuyó. No obstante, encontraron que existe nodulación aun cuando se apliquen dosis altas de nitrógeno mineral en las tres cepas de *Rhizobium phaseoli* evaluadas. En rendimiento de grano, detectaron diferencias altamente significativas para efecto de dosis de nitrógeno, no así para el efecto de cepas o para la interacción cepas por dosis de nitrógeno. En el análisis económico, el cual conjunta tanto producción de grano como de forraje, en ambos cultivos encontraron efecto favorable para los tratamientos donde se utilizó inoculación. Estos resultados muestran que hay cepas de *Rhizobium* capaces de nodular en presencia de dosis altas de nitrógeno mineral, por lo que es posible aportar al cultivo una fuente adicional de nitrógeno.

En cuanto a la humedad del suelo, en nuestro país éste es un factor limitante en la producción de los cultivos. En frijol, la mayor parte de la superficie cultivada se encuentra bajo condiciones de temporal, de tal forma que la simbiosis con *Rhizobium* es afectada adversamente. Nuñez y Valdés (1978) condujeron varios experimentos de campo bajo condiciones de temporal y riego para evaluar la efectividad de tres cepas de *Rhizobium phaseoli*. Encontraron que las limitaciones de humedad, además de restringir el rendimiento del frijol, redujeron también la

formación y crecimiento de nódulos; sin embargo, observaron que la fertilización fosfatada estimuló el rendimiento y la nodulación bajo condiciones de precipitación limitante. Resultados similares fueron obtenidos por Cuautle *et al.* (1981), quienes, en un experimento bajo condiciones de temporal, encontraron un menor contenido de nitrógeno en el suelo y un mayor número de nódulos tardíos, a diferencia de otro experimento realizado bajo condiciones de riego. En el suelo de temporal se presentó un mayor número de nódulos inefectivos, lo que indicó que bajo deficiencia de humedad se restringe la actividad de fijación de nitrógeno, siendo la prueba de ello la obtención de menor rendimiento de grano.

Cuando una planta es sometida a sequía, el efecto en el sistema simbiótico es más severo. Espinosa-Victoria (1986), al someter plantas de tres variedades de *Phaseolus vulgaris* L. bajo tensión hídrica en condiciones de invernadero, suspendiendo el riego hasta que éstas alcanzaron valores de resistencia estomatal y transpiración (30 s cm⁻¹ y 1 µg H₂O cm⁻² s⁻¹, respectivamente) observó un efecto depresivo sobre la nodulación y la fijación de nitrógeno. La sequía redujo el número de nódulos, aproximadamente en un 40%, en las tres variedades de frijol empleadas: Negro 15OG3, Bayo Durango y Michoacán 12A3 (Figura 21), como resultado de haber abatido primeramente la viabilidad de las rizobias así como el haber propiciado la abscisión nodular. De las tres etapas fenológicas evaluadas, la reducción en el número de nódulos fue mayor en el estado vegetativo y en el llenado de vaina. En relación al peso seco de nódulos producidos por los dos mutantes de *Rhizobium phaseoli* resistentes a antibióticos, CPMEX1_{str150} y CPMEX22_{spe200}, encontró que éste fue reducido hasta en un 60% en la floración, la cual fue la etapa más afectada por la tensión hídrica. En general, la sequía abatió la actividad nitrogenasa en más de 80% en los tres genotipos evaluados (Cuadro 13); asimismo, la sequía redujo el peso seco de follaje en los tres estados fenológicos, siendo más notoria la reducción durante la floración (Figura 22).

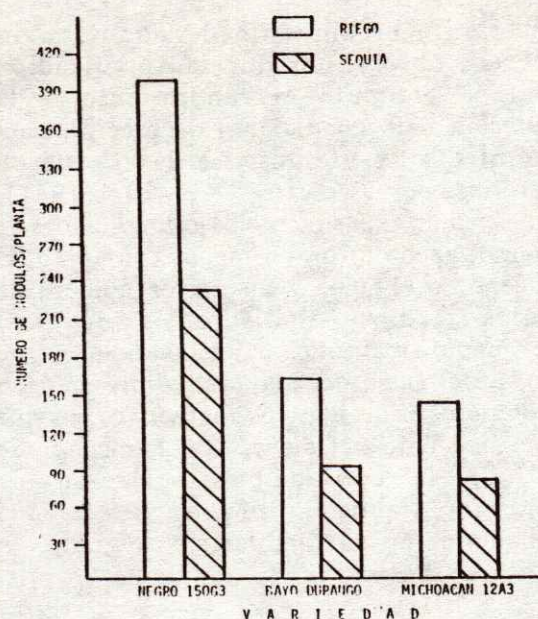


Figura 21. Interacción de la variedad y el nivel de humedad en la producción del número total de nódulos ($p < 0.01$) (Espinosa-Victoria, 1986).

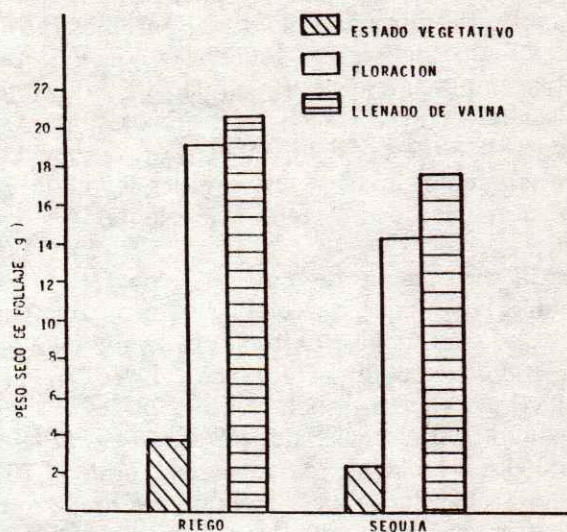


Figura 22. Interacción del nivel de humedad y el estado fenológico en la producción del peso seco de follaje (Espinosa-Victoria, 1986).

Cuadro 13. Actividad nitrogenosa¹⁾ en los tratamientos bajo riego y sequía de tres variedades de *Phaseolus vulgaris* L.

Variedad	Tratamiento Cepa-Nivel de humedad		$\mu\text{mol C}_2\text{H}_4 \text{ Prod. Planta}^{-1} \text{ h}^{-1}$	
			Estado vegetativo	Floración
Negro 150G3	CP MEX1	Str 150 EN RIEGO	56.971	158.440
	CP MEX1	Str 150 EN SEQUIA	0.274	39.333
	CP MEX22	Spe200 EN RIEGO	60.524	200.165
	CP MEX22	Spe200 EN SEQUIA	0.289	12.804
Bayo Durango	CP MEX1	Str 150 EN RIEGO	42.606	117.513
	CP MEX1	Str 150 EN SEQUIA	4.992	6.878
	CP MEX22	Spe200 EN RIEGO	55.855	210.265
	CP MEX22	Spe200 EN SEQUIA	9.043	34.163
Michoacán 12A3	CP MEX1	Str 150 EN RIEGO	12.843	32.656
	CP MEX1	Str 150 EN SEQUIA	0.160	2.823
	CP MEX22	Spe200 EN RIEGO	18.889	30.050
	CP MEX22	Spe200 EN SEQUIA	0.320	18.690

¹⁾ Por el método de reducción de acetileno. Espinosa-Victoria, et al. 1985.

El sistema simbiótico es muy sensible a los cambios en la humedad del suelo, aun cuando la planta no manifieste daño. En condiciones naturales, la humedad en el perfil del suelo no es homogénea, por lo que la zona radical más expuesta a las deficiencias de humedad es aquella que está cercana a la superficie del suelo, de tal forma que los nódulos localizados en esa parte de la raíz son más afectados por la sequía. Almaraz et al. (1987b) sometieron a una parte de la raíz de frijol nodulado bajo sequía y la otra porción la mantuvieron en riego. La parte aérea de la planta nunca se encontró en sequía, puesto que una parte de la raíz siempre estuvo en riego; sin embargo, la simbiosis en la porción de la raíz en sequía fue afectada adversamente. La sequía cíclica en una parte de la raíz redujo el desarrollo y formación de nódulos, así como la actividad nitrogenasa

(Figura 23). Encontraron que, cuando el potencial hídrico del suelo fue de -15 barias, a los 23 días, la nodulación fue detenida y la actividad nitrogenasa fue inhibida casi totalmente. El riego después de esta sequía estimuló la formación de nódulos, pero la actividad nitrogenasa aumentó muy poco. El comportamiento fue similar cuando se dio la segunda sequía a los 42 días, como puede observarse en la Figura 23. Cuando una porción de la raíz fue sometida a sequía permanente, se inhibió totalmente la actividad nitrogenasa debido al deterioro del sistema simbiótico.

Dada la necesidad de contar con cepas que toleren la desecación del suelo durante tiempos prolongados en ausencia del hospedero, es prioritario conocer el comportamiento de *Rhizobium phaseoli* en el suelo bajo sequía, pero sin la presencia del hospedero. En la Figura 24 se presentan los resultados de un experimento de Almaraz et al. (1987a), en el que observaron que las cepas ensayadas

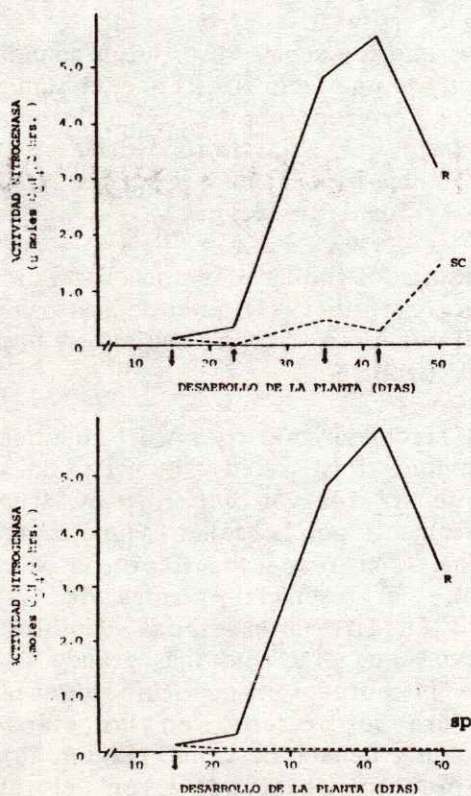


Figura 23. Actividad nitrogenasa en *Phaseolus vulgaris* con raíz dividida en diferentes condiciones de humedad. R riego; SC sequía cíclica; SP sequía permanente; suspensión de riego; reinicio de riego (Almaraz et al., 1987).

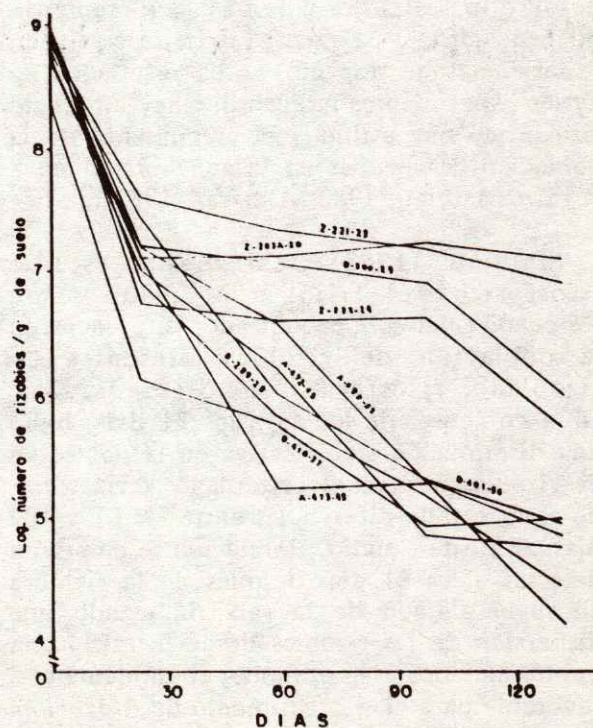


Figura 24. Sobrevivencia de *Rhizobium phaseoli* en un suelo de Chapingo sujeto a sequía (Almaraz, 1987).

manifiestan gran variación en su sobrevivencia, presentando una caída pronunciada en la población durante los primeros 30 días, siendo de más de 1.5 unidades logarítmicas en la mayoría de las cepas; en los siguientes meses la disminución de la población fue menor. En este experimento fue observada una relación entre pérdida de humedad del suelo y la disminución de la población de rizobias. Así, las cepas que mejor sobrevivieron tuvieron una población de alrededor de 10^7 rizobias g^{-1} de suelo, la cual es bastante aceptable. En campo, es de interés que una cepa mantenga una población alta en ausencia del hospedero, pues esto dará la posibilidad de que se presente una exitosa colonización posterior.

Una vez que la planta hospedera se encuentra establecida en campo, para que se lleve a cabo el proceso de nodulación, es necesario que *Rhizobium* colonice rápidamente la rizósfera, y se mantenga en números altos. Sin embargo, el comportamiento de la población de rizobias varía a medida que la planta se desarrolla, siendo además fuertemente influenciada por la raíz. En frijol se tienen experiencias al respecto. Los resultados de varios experimentos indican que hay un efecto rizosférico que estimula el crecimiento de la población de rizobias en la zona inmediata a la raíz (Mathieu, 1982; Almaraz, 1987).

Mathieu (1982) realizó un estudio rizosférico del frijol inoculado con *Rhizobium phaseoli*, encontrando diferencias en la población de rizobias presentes en rizoplano, rizósfera y suelo (Figura 25). Observó que, de los 43 a los 81 días, hubo una disminución significativa en la población de rizobias a nivel de rizoplano y rizósfera, no encontrando diferencias entre los 81 y 109 días. En este estudio, *Rhizobium* se empezó a detectar a los 81 días después de la siembra en suelo alejado de la raíz, indicando una dispersión de las rizobias desde la raíz hacia puntos alejados. No obstante, el ambiente más favorable para el crecimiento de *Rhizobium* fue en la zona cercana a la raíz (rizoplano); el efecto rizosférico disminuyó conforme la edad de la planta avanzaba, estabilizándose la

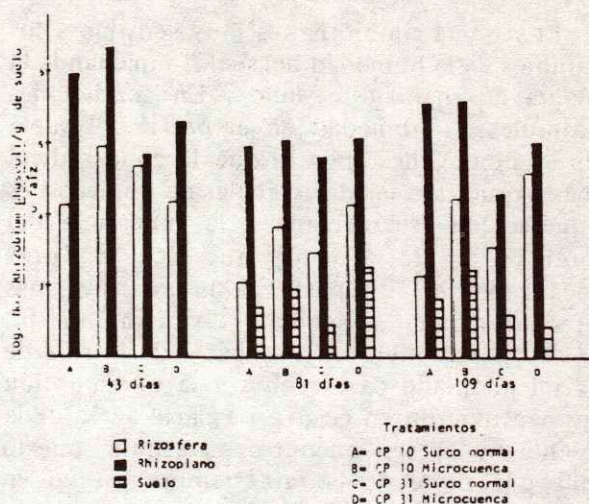


Figura 25. Número de *Rhizobium phaseoli* en la rizósfera, rizoplano y suelo en *Phaseolus vulgaris* (Mathieu, 1982).

población de las diferentes cepas de *Rhizobium phaseoli* ensayadas alrededor de 10^5 células por gramo de suelo seco. Aun cuando fue encontrado un efecto rizosférico, el número de nódulos formados por las cepas introducidas fue bajo, lo cual pudo deberse a la competencia establecida con las cepas nativas por los sitios de infección.

Resultados similares fueron observados por Ferrera-Cerrato (1984), quien demostró también que el número de rizobias más alto se presenta en el rizoplano.

El efecto rizosférico puede alterarse por los cambios drásticos en la humedad del suelo, ya que *Rhizobium phaseoli* es afectado adversamente por la sequía (Almaraz *et al.*, 1987a). Al respecto, Espinosa-Victoria (1986), al someter plantas de frijol a sequía en diferentes etapas fenológicas, observó que el efecto más grande de ésta sobre la población de *Rhizobium* en la rizósfera se presentó en las etapas de floración y llenado de vaina (Figura 26). La disminución observada en el estado vegetativo tanto en riego como en sequía la atribuyó al hecho de que fue en esta etapa donde se llevó a cabo la colonización más significativa; el número de rizobias detectado en ambas condiciones de humedad fue

similar. En las tres variedades ensayadas (Michoacán 12A3, Bayo Durango y Negro 15OG3) encontró que en las etapas posteriores a la vegetativa, el número de rizobias en la rizósfera disminuyó alrededor de 2-3 unidades logarítmicas por efecto de la sequía.

Almaraz (1987) encontró que este efecto de sequía en la población de *Rhizobium* es menor entre más cerca de la raíz se encuentren las rizobias, ya que siempre observó un número de rizobias más grande en el rizoplano que en la rizósfera tanto en riego como en sequía (Figuras 27-30). De tal forma que el rizoplano presenta un efecto amortiguador de la disminución del número de rizobias por falta de humedad del suelo, seguramente porque es una zona de alta actividad química y microbiológica donde se están liberando productos carbonados de la raíz. En este experimento, el riego después de una sequía estimuló el crecimiento de las rizobias en el rizoplano y la rizósfera, lo cual fue atribuido a un efecto conjunto de reestablecimiento de las condiciones de humedad y de reabastecimiento de la fuente de carbono (Figuras 27 y 29). La cepa utilizada en el experimento de Almaraz fue una cepa que sobrevive en números altos a sequía prolongada en ausencia del hospedero (Almaraz, *et al.*, 1987b), así la población de rizobias presente

en el rizoplano en condiciones de sequía fue siempre mayor de 10^5 células g^{-1} de raíz, que es un número admisible. Sin embargo, el porcentaje de nódulos formados por esta cepa en riego y en sequía cíclica fue de 20 y 17%,

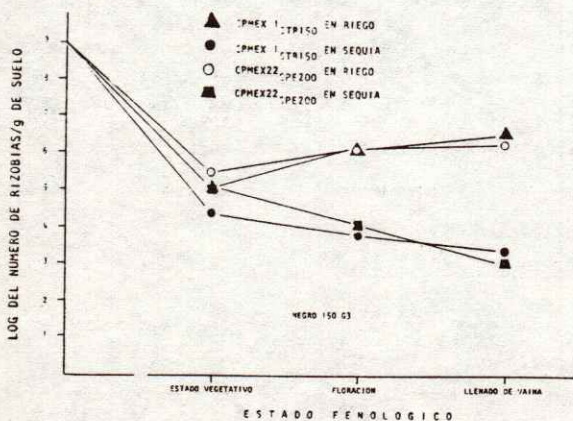


Figura 26. Sobrevivencia de los mutantes de *Rhizobium phaseoli* CPMEX 1STR150 y CPMEX22SPE200 en la rizósfera del frijol variedad Negro 15OG3 bajo condiciones de riego y sequía ($P < 0.01$) (Espinosa-Victoria, 1986).

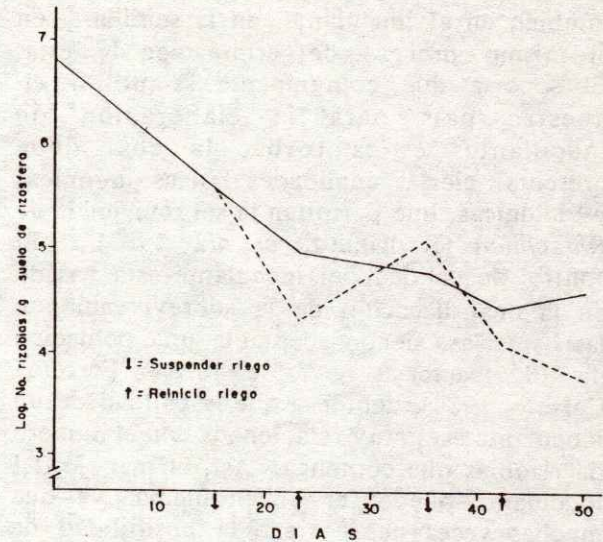


Figura 27. Población de *Rhizobium phaseoli* en la rizósfera de *Phaseolus vulgaris* con raíz dividida en diferentes condiciones de humedad (— riego; --- sequía cíclica) (Almaraz, 1987).

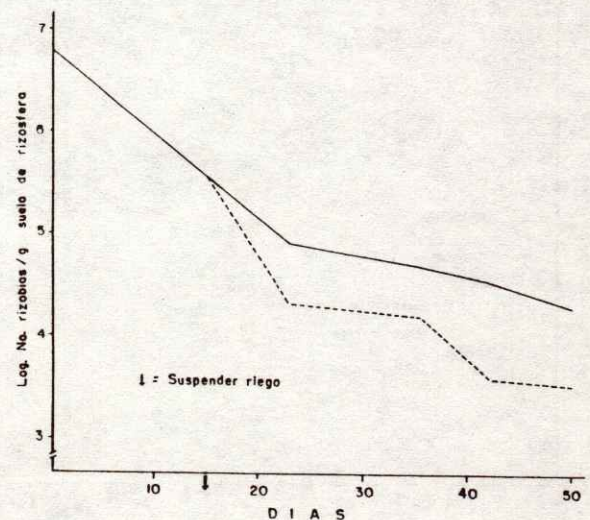


Figura 28. Población de *Rhizobium phaseoli* en la rizósfera de *Phaseolus vulgaris* con raíz dividida en diferentes condiciones de humedad (— riego; --- sequía permanente) (Almaraz, 1987).

respectivamente, lo cual demuestra que no es muy buena para competir con las cepas nativas del suelo.

La sobrevivencia de *Rhizobium phaseoli*, no solamente es esencial en la rizósfera, sino también en el inoculante, en la semilla y en el mismo proceso de germinación de ésta. El soporte que comúnmente se utiliza en nuestro país para la elaboración de inoculantes es la turba, la cual debe presentar ciertas cualidades físicas, químicas y biológicas, que permitan la sobrevivencia de *Rhizobium* (Rodríguez, *et al.*, 1987). El control de calidad del inoculante está basado en la cuantificación de la sobrevivencia de las bacterias, siendo aceptable una población de 10^9 bacterias g^{-1} de turba (Ferrera-Cerrato, 1984), debido a que la calidad de un inoculante está muy relacionada con el número de rizobias que contenga. Así, el manejo del inoculante puede ser un problema, ya que muchas veces no se tiene la posibilidad de refrigerarlos, o en ocasiones las semillas inoculadas no pueden sembrarse, con lo cual disminuye la viabilidad de las rizobias. Cuautle y Ferrera-Cerrato (1980) determinaron la sobrevivencia de *Rhizobium* sobre semilla e

inoculante comercial. En semillas inoculadas y conservadas a $4^{\circ}C$, observaron que el número de rizobias se mantuvo en un promedio de 10^8 bacterias durante un mes. En el inoculante elaborado con turba, conteniendo un promedio de 10^{12} rizobias g^{-1} , conservado a temperatura ambiente (la que varió entre 18 y $30^{\circ}C$) durante un año encontraron un promedio de 10^7 rizobias g^{-1} ; y en inoculantes conteniendo un promedio de 10^{12} rizobias g^{-1} después de cinco meses de conservación a $4^{\circ}C$, se detectó una población de 10^{10} rizobias g^{-1} . Así, las poblaciones de rizobias en turba y en semilla fueron adecuadas. Lo anterior demuestra que la temperatura de almacenamiento es esencial para la conservación del inoculante. Cuando no se tiene acceso a refrigeración, es conveniente conservar el inoculante en lugares frescos. En semilla, una cantidad adecuada de bacterias es de 10^6 a 10^8 , la cual debe mantenerse hasta el momento de la siembra (Ferrera-Cerrato *et al.*, 1978; Mejía, 1983). Sin embargo, la carga de bacterias en la semilla no está relacionada con la cantidad de nódulos que presente la planta (Mejía, 1983). La aplicación de pesticidas en la semilla para su almacenaje afecta esta carga inicial de bacterias, puesto que algunas sustancias como

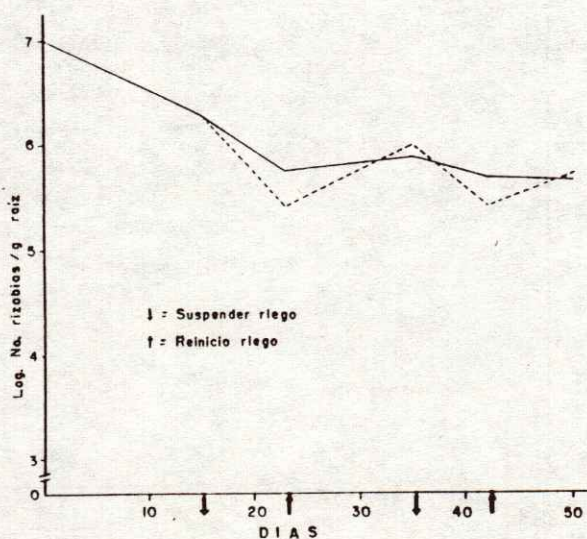


Figura 29. Población de *Rhizobium phaseoli* en el rizoplano de *Phaseolus vulgaris* con raíz dividida en diferentes condiciones de humedad (— riego; --- sequía cíclica) (Almaraz, 1987).

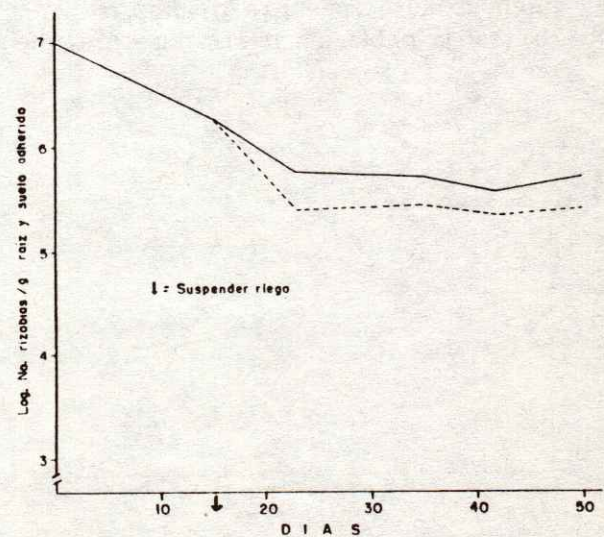


Figura 30. Población de *Rhizobium phaseoli* en el rizoplano de *Phaseolus vulgaris* con raíz dividida en diferentes condiciones de humedad (— riego; --- sequía permanente) (Almaraz, 1987).

el brasicol o el furadan son muy tóxicas, afectando fuertemente la sobrevivencia de *Rhizobium* (Fuentes, 1974). El mismo proceso de germinación también afecta la carga inicial de bacterias en la semilla. En las Figuras 31-36 se presentan resultados de Rodríguez (1987), donde se observa que la población de *Rhizobium phaseoli* en dos variedades de frijol (Ojo de Cabra 400 y Canario 101) y en *Phaseolus dumosus*, durante la germinación de

la semilla, presenta una conducta similar, registrándose una depresión en el número de rizobias en el día 20. Este efecto depresivo fue consistente, lo cual probablemente se debió a cierto factor inhibitorio proveniente de las semillas. Rodríguez (1987) ha observado que en medio de cultivo, la semilla de frijol libera compuestos que inhiben el crecimiento de *Rhizobium* alrededor de ella, estando esto muy relacionado con el color de la testa.

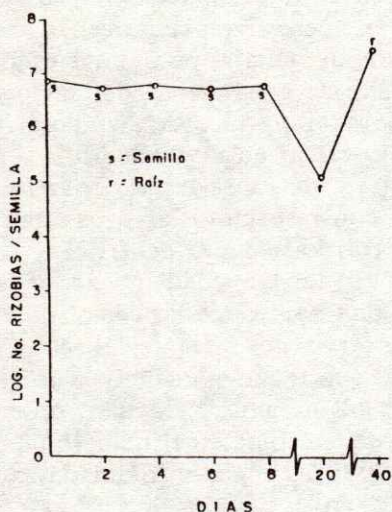


Figura 31. Efecto espermosférico de *P. vulgaris* (Canario 101) sobre *R. phaseoli* (CP 10) (Rodríguez y Ferrera-Cerrato, 1980).

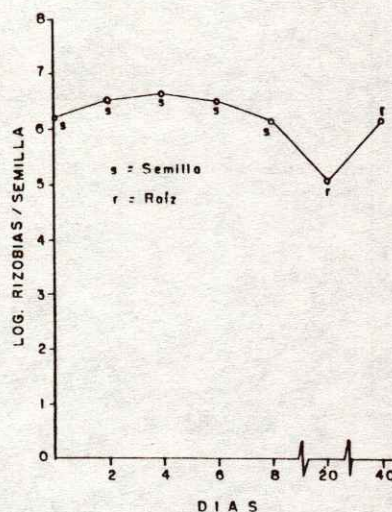


Figura 33. Efecto espermosférico de *P. vulgaris* (Ojo de Cabra 400) sobre *R. phaseoli* (CP 10). Rodríguez y Ferrera-Cerrato, 1980).

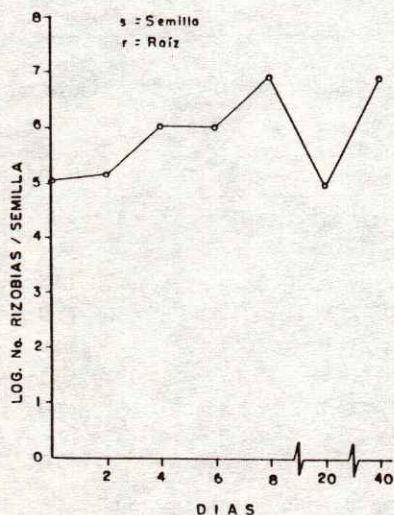


Figura 32. Efecto espermosférico de *P. vulgaris* (Canario 101) sobre *R. phaseoli* (CP 31) (Rodríguez y Ferrera-Cerrato, 1980).

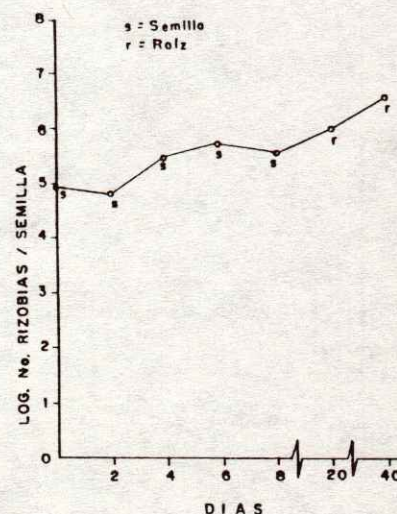


Figura 34. Efecto espermosférico de *P. vulgaris* (Ojo de Cabra) sobre *R. phaseoli* (CP 31) (Rodríguez y Ferrera-Cerrato, 1980).

La competencia de las cepas nativas en la infección de los pelos radicales, es otro factor que limita la respuesta a la inoculación. Las cepas nativas del suelo, en su mayoría, presentan una baja eficiencia en la fijación de nitrógeno, pero son altamente competitivas para infectar los pelos radicales (Cautle *et al.*, 1980; Espinosa-Victoria *et.*

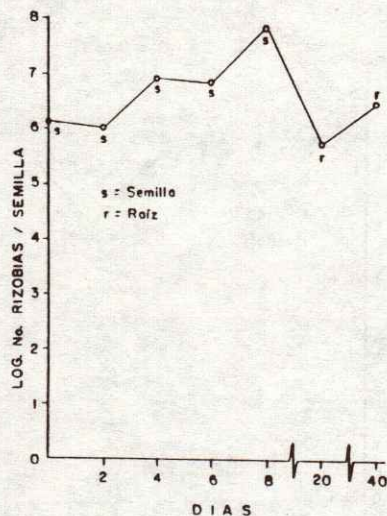


Figura 35. Efecto espermosférico de *P. dumosus* (Acalate) sobre *R. phaseoli* (CP 10) (Rodríguez y Ferrera-Cerrato, 1980).

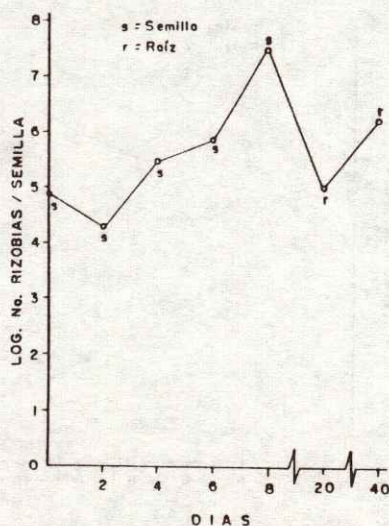


Figura 36. Efecto espermosférico de *P. dumosus* (Acalate) sobre *R. phaseoli* (CP 31) (Rodríguez y Ferrera-Cerrato, 1980).

al., 1985; Mathieu *et al.*, 1979). Por ejemplo, Mathieu (1982) observó en plantas de frijol inoculadas con cepas de *Rhizobium phaseoli* en campo bajo dos sistemas de surcado, que el porcentaje de nódulos formados por estas cepas varió de 52.5 a 5%, e incluso algunas cepas no formaron nódulos cuando fue adicionado nitrógeno (Cuadro 14).

De esto podemos inferir, que la capacidad competitiva es influenciada por los factores ambientales, pero siempre las cepas nativas se encuentran en ventaja, puesto que están mejor adaptadas a las condiciones del suelo que las cepas que se introducen. Espinosa-Victoria (1986), al evaluar en invernadero la capacidad competitiva de dos cepas de *Rhizobium phaseoli*, con respecto a las cepas nativas del suelo en tres variedades de frijol y bajo dos condiciones de humedad (riego y sequía), encontró que bajo riego las cepas introducidas formaron aproximadamente el 40% de los nódulos y que dicho porcentaje fue reducido por el déficit de agua. Además, observó que el efecto de la sequía en el número de nódulos formados por las cepas introducidas dependió

Cuadro 14. Porcentaje de nódulos formados por las cepas de *Rhizobium phaseoli* probados en medio ELMARC con estreptomina 150 $\mu\text{g ml}^{-1}$ a los 81 días del cultivo.

Cepas	Surco normal		Surco microcuencia	
	sin N ¹⁾	con N ²⁾	sin N ¹⁾	con N ²⁾
	----- % -----			
CP 10	52.5	0	13.3	3.3
CP 16	20.0	0	13.3	6.5
CP M	15.0	12.1	30.0	8.4
CP 31	5.5	4.7	10.2	6.6
CP 23	28.1	13.1	7.9	0

Los datos son de una repetición (una mata igual a dos plantas).

1) Tratamiento sin nitrógeno y 60 kg ha^{-1} de fósforo.

2) Tratamiento con 40 kg ha^{-1} de nitrógeno y 60 kg ha^{-1} de fósforo.

también de la variedad. Por ejemplo, observó que el efecto de la sequía en la formación de nódulos fue más drástico en la variedad Negro 150G3 para las dos cepas empleadas, reduciendo el número de nódulos en un 59%; en las otras variedades (Michoacán 12A3 y Bayo Durango), el efecto de la sequía varió de acuerdo a las cepas. De estos resultados se puede inferir que el empleo de una multicepa podría aumentar el porcentaje de nódulos formados por el inoculante. Sin embargo, Ferrera-Cerrato (1984), bajo condiciones de temporal, empleando una multicepa, encontró que los porcentajes de infección logrados por cada una de las cepas introducidas fueron bajos. En promedio, la producción de nódulos formados por la multicepa fue de 12.84%, los restantes fueron producidos por las rizobias nativas (Cuadro 15). Además, Ferrera-Cerrato (1984) observó que el incremento del nivel de fósforo no ejerció efecto importante en la efectividad de éstas. Almaraz (1987), trabajando con el sistema de raíz dividida bajo riego y sequía cíclica en invernadero, encontró porcentajes de 20 y 17, respectivamente, de nódulos formados por la cepa inoculada.

Lo anterior indica que el problema fundamental en frijol es la existencia de cepas nativas altamente competitivas que no permiten que el efecto de la inoculación se exprese favorablemente. Así, es obvio pensar que el cultivar debe jugar un papel importante en el mecanismo de reconocimiento que existe entre ambos simbioses.

Una de las principales limitantes en los estudios sobre la ecología de *Rhizobium*, ha sido la de reconocer a una cepa de *Rhizobium* dada, especialmente después de que ésta ha sido introducida al suelo, el cual contiene gran cantidad de cepas de la misma o de diferente especie. Varias metodologías han sido usadas para discriminar entre especies y entre cepas de una misma especie de *Rhizobium* tales como: la nodulación específica, el marcaje con resistencia a antibióticos, la resistencia intrínseca a antibióticos (RIA), tipificación con bacteriófagos y las técnicas serológicas (aglutinación,

Cuadro 15. Porcentaje de competencia entre cepas de *Rhizobium phaseoli* nativas e introducidas¹⁾

Tratamiento		Cepa ²⁾			(\bar{X}) Nivel de P
N	P	El-21 (Sp100)	El-63 (St150)	El-111 (St300)	
----- % -----					
0	40	5.83	4.18	3.80	4.60
0	60	5.07	3.09	3.69	3.95
(\bar{X}) de cepa		5.45	3.64	3.75	

1) Inoculante multicepa.

2) Promedios de 4 repeticiones con 4 plantas/unidad experimental, % de 100 nódulos/U.R. Sp = espectinomina, St = estreptomina.

inmunodifusión, inmunofluorescencia, ELISA, etc.). No obstante, se conoce muy poco acerca de las posibles similitudes o diferencias de las células rizobiales que continuamente se manejan en el laboratorio.

Así, Espinosa-Victoria et al. (1989a) caracterizaron once diferentes cepas de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* con base en sus perfiles proteínicos obtenidos mediante la técnica de Electroforesis en Gel de Poliacrilamida-Dodecil Sulfato de Sodio (PAGE-SDS) e intentaron correlacionar dicha caracterización con las reacciones de aglutinación de sus respectivos antígenos somáticos. Observaron una alta incidencia de reacciones cruzadas en las pruebas de aglutinación (Cuadro 16), lo cual indicó que las cepas comparten entre sí un considerable número de antígenos que desafortunadamente por este método no es posible identificarlos. Los títulos de aglutinación de los sistemas homólogos variaron de 200 a 3,200, y en general fueron más altos que los encontrados para los sistemas heterólogos. La alta incidencia de reacciones cruzadas entre las once cepas probadas no permitió la agrupación para el establecimiento de serogrupos.

El número de componentes (bandas) observado en el corrimiento electroforético, fue contrastantemente diferente entre algunos extractos; no obstante, se pudieron organizar entre tres grupos: Grupo A: CPMEX2 (29 componentes) y CPMEX 120 (31); Grupo B: CPMEX1 (36), UMR1116 (36), UMR1899 (36) y CPI02 (37) y Grupo C: CPMEX6 (40), CPMEX119 (41), CPMEX129 (43), CPMEX131 (43) y CP4 (45); sin embargo, no se encontró correlación alguna entre esta agrupación y las reacciones de aglutinación. Fue evidente el compartimiento de un considerable número de componentes entre los diferentes extractos, la presencia de componentes de alta concentración, así como la presencia de componentes con imagen de doble banda, como fue el caso del componente de 140 kd presente en todos los extractos. Entre los once extractos analizados, se detectaron 71 componentes diferentes, siendo los de máximo y mínimo PM los de 167 y 10 kd, respectivamente. Los componentes de mayor frecuencia fueron los de 167 y 140 Kd, presentes en cada uno de los once extractos; mientras que fueron seis (158, 153, 17.2, 16.6, 14.9 y 11.3 kd) los componentes de mínima frecuencia, es decir, los que aparecieron solamente en alguno de los once extractos.

No todas las bandas proteínicas de los diferentes extractos rizobiales observadas en el gel de poliacrilamida, presentaron actividad inmunogénica; Espinosa-Victoria, *et al.* (1989b), al usar una técnica de alta sensibilidad, Inmunoelectrotransferencia o Western blot, observaron también muchas bandas que inicialmente no habían sido observadas en los geles de poliacrilamida, pudiéndose tratar de proteínas constitutivas de la bacteria o fragmentos de las mismas, por lo que recomiendan considerar este inconveniente al tratar de indentificar o agrupar cepas de *Rhizobium leguminosarum* bv *phaseoli* mediante la técnica PAGE-SDS.

Influencia del cultivar en la fijación de nitrógeno.

La fijación de N₂ depende de las características tanto de la bacteria como de la planta y de la influencia del ambiente, sin embargo, una vez que se establece la simbiosis entre una cepa efectiva y el hospedero, la fijación de nitrógeno dependerá en gran medida de la planta, puesto que es la que aporta los carbohidratos necesarios para el funcionamiento de los nódulos (Graham, 1981).

Cuadro 16. Reacciones de aglutinación de antígenos somáticos de diferentes cepas de *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*.

Cepa (Antígeno)	Antisuero										
	CPMEX1	CPMEX2	CP4	CPMEX6	CP102	CPMEX119	CPMEX120	CPMEX129	CPMEX131	UMR1116	UMR1899
CPMEX1	3200 ¹⁾	50	50	-	50	800	200	100	-	400	200
CPMEX2	50	800	800	-	-	-	-	-	-	50	100
CP4	-	50	3200	-	400	200	200	200	200	800	100
CPMEX6	-	-	50	1600	-	-	-	-	-	50	50
CPI02	-	-	800	-	800	-	100	50	50	200	100
CPMEX119	800	-	1600	50	-	3200	100	-	-	100	50
CPMEX120	50	-	100	-	400	50	1600	200	100	50	50
CPMEX129	800	50	1600	100	200	-	100	3200	400	200	100
CPMEX131	400	-	400	-	400	-	200	200	400	400	100
UMR1116	50	-	400	-	100	50	200	800	200	800	200
UMR1899	50	-	400	100	100	100	50	50	50	50	200

¹⁾Cada cifra presenta el recíproco de la dilución más alta del suero en la cual se detectó aglutinación.
- No se detectó reacción.

Una forma de cuantificar el efecto del cultivar en la fijación de nitrógeno en el campo es a través de las técnicas isotópicas. Ferrera-Cerrato *et al.* (1984) utilizaron ¹⁵N con el objeto de evaluar la tasa de fijación de nitrógeno en campo de tres variedades de frijol: Bayomex, Ojo de Cabra-400 y Criollo, con hábitos de crecimiento I, II y III, respectivamente. Encontraron que para rendimiento de materia seca, las cepas usadas presentaron un efecto similar; no así

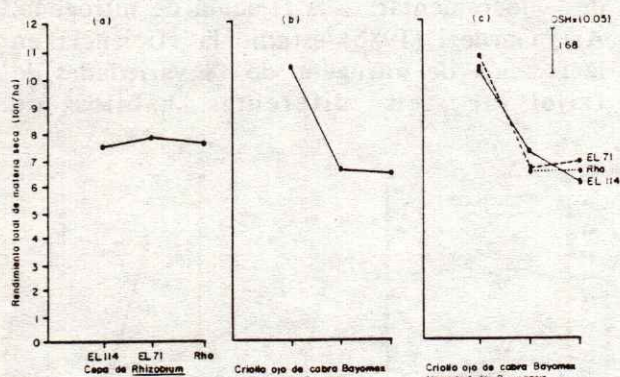


Figura 37. Rendimiento total de materia seca (ton ha⁻¹). a) Efecto de cepa, b) Efecto de variedad, c) Efecto de la interacción cepa X variedad (Ferrera-Cerrato *et al.* 1984).

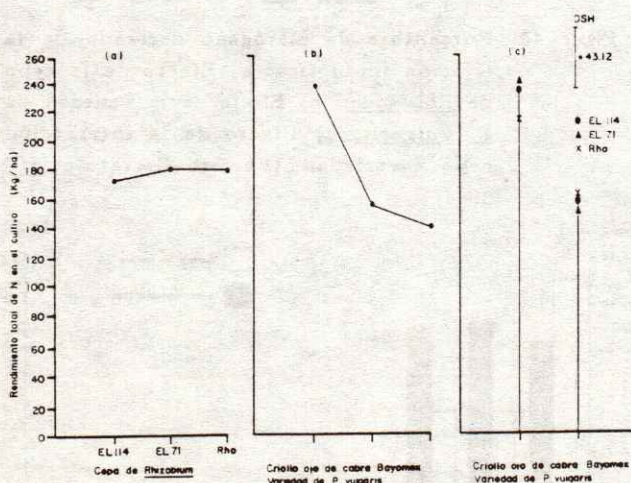


Figura 38. Rendimiento total de nitrógeno en el cultivo. a) Efecto de las cepas de *Rhizobium*, b) Efecto de las variedades de *Phaseolus vulgaris*, c) Efecto de la interacción cepa X variedad. Tecamac, México (Ferrera-Cerrato *et al.*, 1984).

entre variedades, donde se observó que la variedad Criolla fue la que presentó el máximo rendimiento, lo cual fue atribuido al hábito de crecimiento (Figura 37). Esta misma tendencia fue observada para nitrógeno total en planta (Figura 38). En cuanto a nitrógeno fijado simbióticamente, encontraron diferencias entre variedades; la variedad Bayomex fijó solamente 7.1 kg de N ha⁻¹; la Ojo de Cabra-400, 13.3 kg de N ha⁻¹ y la variedad Criolla, 106.5 kg de N ha⁻¹. No hubo efecto entre cepas (Figura 39). Observaron que existe cierta afinidad de las variedades de frijol estudiadas hacia una fuente nitrogenada en particular; en la variedad Bayomex, el 3.76% de nitrógeno procedió del fertilizante, el 91.37% del suelo y sólo el 4.87% procedió del nitrógeno fijado; en la variedad Ojo de Cabra-400 del total de nitrógeno, el 3.75% procedió del fertilizante, el 88.11% del suelo y el 8.12% del nitrógeno fijado; en la variedad Criolla, encontraron que del total de nitrógeno el 2.18% procedió del fertilizante, el 53.15% del suelo y el 44.64% del nitrógeno fijado (Figuras 40, 41, 42). En relación al efecto de la cepa sobre la nodulación y la fijación simbiótica de nitrógeno (Figura 43), observaron que fue diferente, dependiendo de la variedad con la cual se asoció. Los valores de nodulación y fijación simbiótica de nitrógeno fueron iguales estadísticamente dentro de una

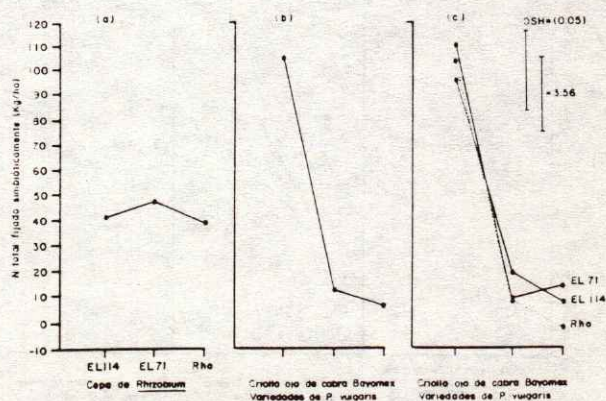


Figura 39. Nitrógeno total fijado simbióticamente (kg ha⁻¹). a) Efecto de cepas de *Rhizobium*, b) Efecto de variedades de *Phaseolus vulgaris*, c) Efecto de la interacción cepas X variedades (Ferrera-Cerrato *et al.*, 1984).

misma variedad, pero diferentes entre variedades, resultando la variedad Criolla muy superior a las demás. Ferrera-Cerrato *et al.* (1984) explican que tales resultados se asocian con el origen de los cultivares estudiados. Señalan que las variedades Ojo de Cabra-400 y Bayomex son productos del mejoramiento genético especializado bajo el uso de dosificaciones de fertilizantes, parasiticidas pero con omisión completa de la fijación simbiótica; mientras que la

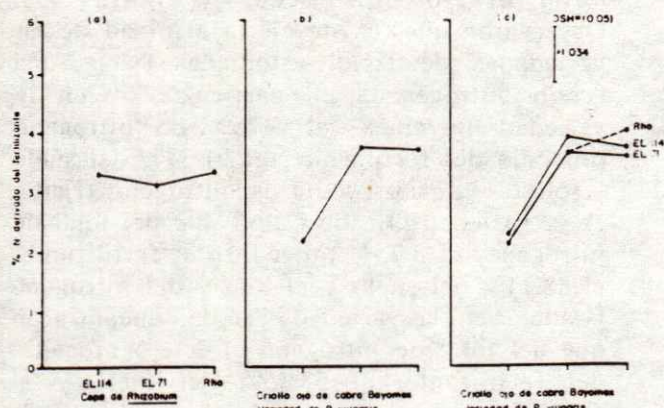


Figura 40. Porcentaje de nitrógeno derivado del fertilizante. a) Efecto de la cepa *Rhizobium*, b) Efecto de la variedad de *P. vulgaris*, c) Efecto de la interacción cepa X variedad. Tecamac, México (Ferrera-Cerrato *et al.*, 1984).

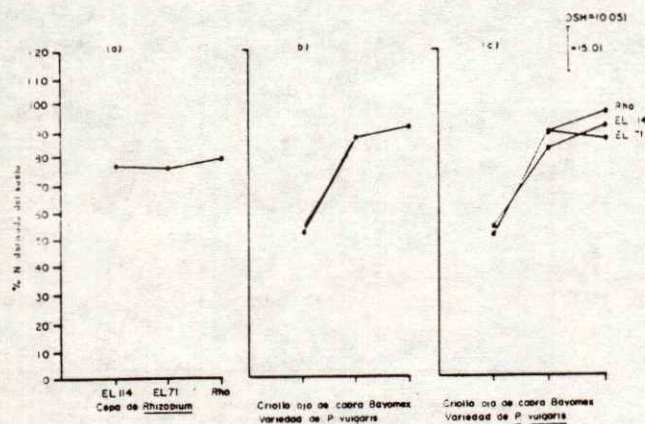


Figura 41. Porcentaje de nitrógeno derivado del suelo. a) Efecto de la cepa *Rhizobium*, b) Efecto de las variedades de *P. vulgaris*, c) Efecto de la interacción cepa X variedad (Ferrera-Cerrato *et al.*, 1984).

variedad Criolla proviene de una selección empírica realizada por el agricultor en ausencia de estos insumos, lo cual hace suponer que las variedades Ojo de Cabra-400 y Bayomex adquieren el nitrógeno con mayor preferencia del suelo y el fertilizante, mientras que la variedad Criolla lo hace de la fuente atmosférica. Lo anterior establece la necesidad de estudiar los diferentes cultivares de frijol que se siembran en el país, sobre todo en el renglón del mejoramiento genético, con el objeto de incrementar la fijación de nitrógeno. Así, Gardezi (1986) estudió la eficiencia en la fijación de nitrógeno de 48 variedades de frijol de seis diferentes hábitos de

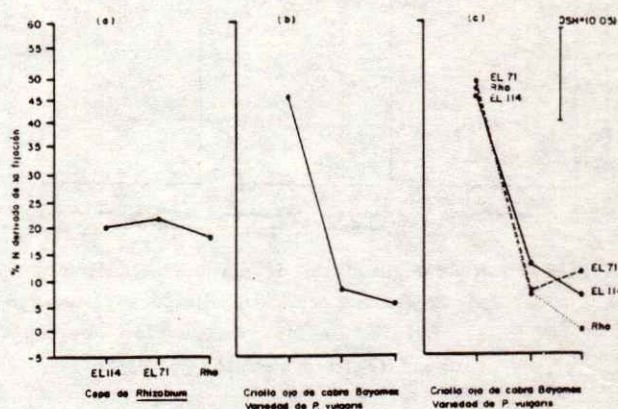


Figura 42. Porcentaje de nitrógeno derivado de la fijación simbiótica. a) Efecto de la cepa de *Rhizobium*, b) Efecto de la variedad de *P. vulgaris*, c) Efecto de la interacción cepa X variedad (Ferrera-Cerrato *et al.*, 1984).

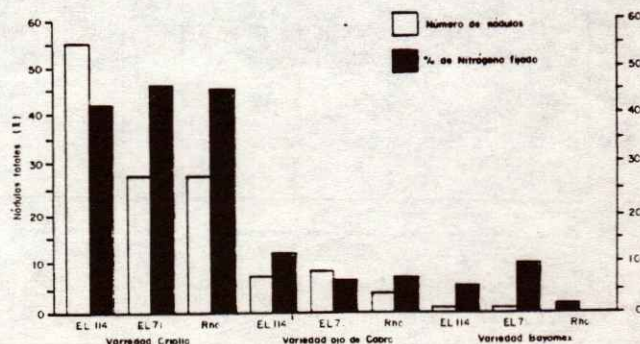


Figura 43. Nódulos totales Vs % de nitrógeno fijado. Tecamac, México (Ferrera-Cerrato *et al.*, 1984).

crecimiento (I, II, IIIa, IIIb, IIIc, y IV) utilizando una cepa efectiva y una inefectiva en la fijación de nitrógeno (CPMEX 1 y EL 57, respectivamente). Encontró que los mejores resultados para peso seco de la parte aérea de la planta se obtuvieron con el empleo de las variedades de hábito de crecimiento indeterminado asociadas con la adición del equivalente a 60 kg de N ha⁻¹ o bien con la inoculación de la cepa CPMEX 1. Así, 44 variedades resultaron ser más productivas cuando se fertilizó con 60 kg de N ha⁻¹ y 29 se comportaron más eficientemente con la inoculación de la cepa CPMEX 1 (Figuras 44, 45, 46 y 47).

En relación al porcentaje de nitrógeno total, Gardezi (1986) encontró que la asociación de la cepa CPMEX 1 con los genotipos de hábito de crecimiento indeterminado (IIIa, IIIb, y IV) resultó en una

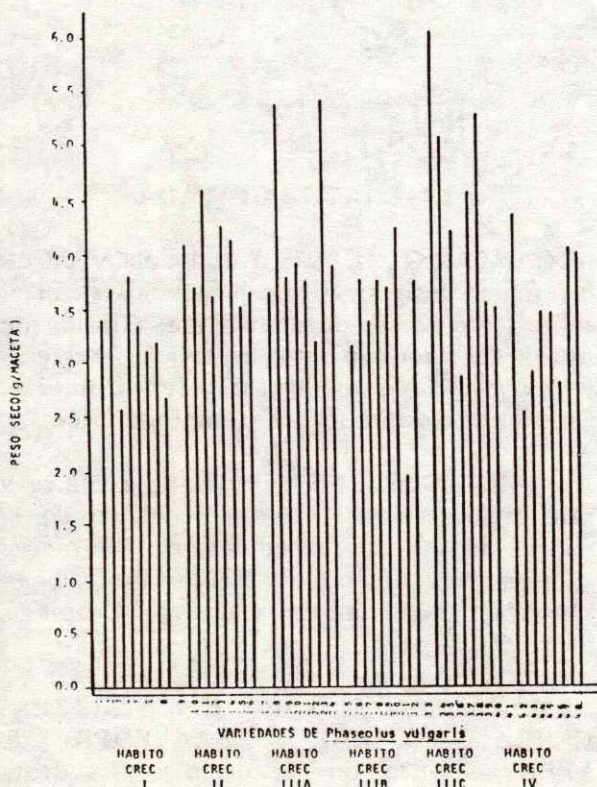


Figura 44. Peso seco de la parte aérea de la planta (promedio de tres repeticiones en g maceta⁻¹). Dosis nitrógeno = 60 kg ha⁻¹, cepa = 0 (Gardezi, 1986).

mayor acumulación de N total. Observó además una tendencia similar para el número y peso seco de nódulos totales. Gardezi y Ferrera-Cerrato (1987a, b) indican que la mejor asociación para obtener la mayor fijación de N₂ se logra mediante el uso de variedades de frijol de tipo de crecimiento indeterminado, ya que tales variedades presentan un ciclo vegetativo que llega hasta los 150 días, lo cual facilita un mayor tiempo de actividad simbiótica, además de que presentan características favorables en su arquitectura que permiten una alta acumulación de fotosintatos, repercutiendo esto en una mayor facilidad para expresar el potencial de fijación de N₂.

En un programa de mejoramiento genético establecido en el Colegio de Postgraduados para aumentar la fijación de N₂ en frijol, López *et al.* (1987a) han contemplado las características de la planta, así como las de la propia simbiosis para lograr dicho objetivo. En su primera etapa, a partir de

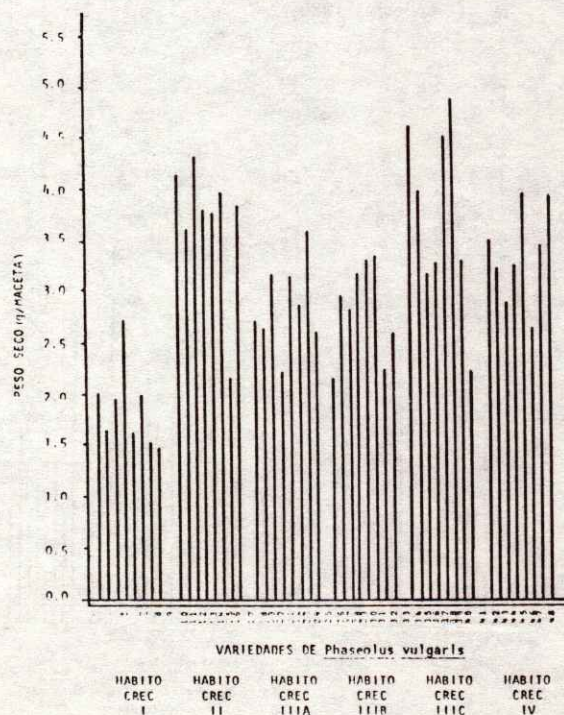


Figura 45. Peso seco de la parte aérea de la planta (promedio de tres repeticiones en g maceta⁻¹). Dosis de nitrógeno = 0; CPMEX 1 (Gardezi, 1986).

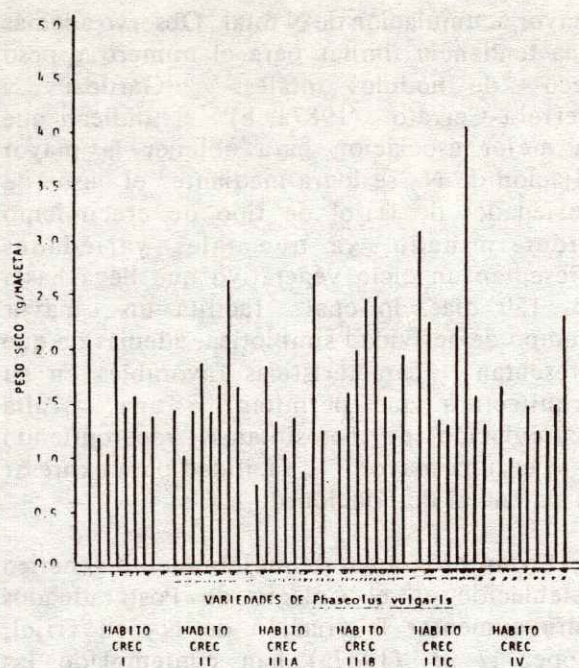


Figura 46. Peso seco de la parte aérea de la planta (promedio de tres repeticiones en g por planta). Dosis nitrógeno = 0; cepa = EL 57 (Gardezi, 1986).

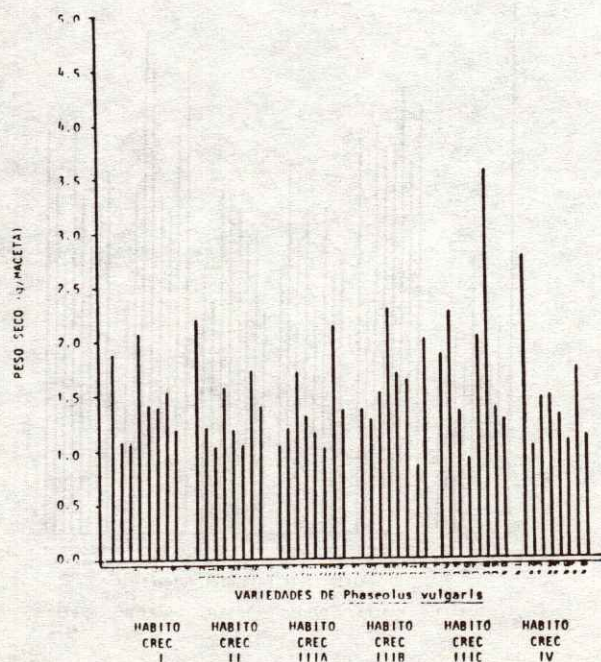


Figura 47. Peso seco de la parte aérea de la planta (promedio de tres repeticiones en g por maceta). Dosis nitrógeno = 0; cepa = 0 (Gardezi, 1986).

360 variedades de frijol, seleccionaron las variedades más sobresalientes considerando la capacidad simbiótica, estabilidad (con base en susceptibilidad a plagas y/o enfermedades y carga de vainas), producción de materia seca de la parte aérea y rendimiento de grano. En el primer ciclo, identificaron 120 variedades con alta capacidad de nodulación y/o rendimiento de grano. En una evaluación más rigurosa, tomando en cuenta la actividad nitrogenasa, porcentaje de nitrógeno total, número y peso seco de nódulos, producción de materia seca, estabilidad y rendimiento de grano, seleccionaron solamente 20 materiales. Estos materiales fueron exclusivamente de hábito de crecimiento III (López *et al.*, 1987b). En su segunda etapa, contemplan un esquema combinado de selección y recombinación enfocado a obtener variedades con alto potencial de rendimiento de grano, alta capacidad simbiótica y características agronómicas favorables.

LITERATURA CITADA

ALCANTAR G., G. 1978. Estudio del efecto de diferentes dosis de nitrógeno en dos fuentes, sobre los procesos de nodulación, fijación de nitrógeno y rendimientos en frijol (*Phaseolus vulgaris*). Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Chapingo, Méx.

ALMARAZ S., J.J. 1987. Empleo de la técnica de raíz dividida en el estudio ecológico de la simbiosis *Rhizobium phaseoli-Phaseolus vulgaris* L. bajo sequía. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx.

ALMARAZ S., J.J., R. FERRERA-CERRATO, A. LARQUE-SAAVEDRA y R. LEPÍZ I. 1987a. Empleo de la técnica de la raíz dividida para el estudio del estrés hídrico *in situ* en la simbiosis *Rhizobium phaseoli-Phaseolus vulgaris* L. Resúmenes del XX Congreso de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Zacatecas, Zac. pp. 159.

ALMARAZ S., J.J., R. FERRERA-CERRATO y R. LEPIZ I. 1987b. Efecto de la sequía en la sobrevivencia de cepas de *Rhizobium phaseoli* aisladas en zonas semiáridas de México. Memorias y Resúmenes I Congreso de la Sociedad Nacional de la Fijación Simbiótica de Nitrógeno. Xalapa, Ver. México. p. 17.

BARRERA S., J. 1980. Nodulación, rendimiento y algunos componentes del rendimiento de frijol y maíz asociados. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.

BRILL, W.J. 1977. Biological nitrogen fixation. Sc. Am. 236: 68-81.

CAMPOS S., R. 1986. Tolerancia a la acidez y efecto del encalado, fósforo y molibdeno en la fijación simbiótica de nitrógeno en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.

CHAVEZ S., A., R. NUÑEZ E. y A. ECHEGARAY A. 1977. Efecto de la fertilización con N, P, Mo, Co, y Fe y del manejo de dos cepas de inoculante (*Rhizobium phaseoli*) sobre la nodulación, acumulación de N y rendimiento de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Agrociencia 27: 79-94.

CUAUTLE F., E. y R. FERRERA-CERRATO. 1980. Sobrevivencia de *Rhizobium* en semilla y en turba. In: Avances en la Enseñanza y la Investigación. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.

CUAUTLE F., E., R. FERRERA-CERRATO y R. NUÑEZ E. 1980. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* L. variedad Negro Puebla a la inoculación con dos cepas de *Rhizobium phaseoli*. Avances en la Enseñanza y la Investigación. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.

CUAUTLE F., E., R. NUÑEZ E. y M. VALDEZ R. 1981. Efecto de la fertilización, fumigación del suelo e inoculación con *Rhizobium*, sobre la nodulación, contenido de nitrógeno y rendimiento de grano de frijol

(*Phaseolus vulgaris* L.) en Chapingo, México. Agrociencia 43: 19-36.

ESPINOSA-VICTORIA, D. 1986. Resistencia a la sequía XVIII. Efecto de la tensión hídrica (sequía) en la simbiosis *Rhizobium phaseoli*-*Phaseolus vulgaris* L. Tesis profesional. UNAM. México, D.F.

ESPINOSA-VICTORIA, D., R. FERRERA-CERRATO, A. LARQUE-SAAVEDRA y R. LEPIZ-ILDELFONSO. 1985. Competition and survival of *Rhizobium phaseoli* in water stress bean plants. In: Nitrogen Fixation Research Progress. Edited by Evans, H. J. et al. Martinus Nijhoff. p. 405.

ESPINOSA-VICTORIA, D., F. QUESADA-PASCUAL y R. FERRERA-CERRATO. 1989a. Caracterización de diferentes cepas de *Rhizobium leguminosarum* bv *phaseoli* mediante la técnica de Electroforésis en Gel de Poliacrilamida-Dodecil Sulfato de Sodio (PAGE-SDS). II Congreso Nacional de la Fijación Biológica del Nitrógeno. SONAFIBIN-México. Escuela de Biología de la UAG, Guadalajara, Jal. México, págs. 24-25.

ESPINOSA-VICTORIA, D., R. FERRERA-CERRATO y F. QUESADA-PASCUAL. 1989b. Inconvenientes del uso de la técnica de ELISA convencional con propósitos de identificación de cepas de *Rhizobium leguminosarum* bv *phaseoli*. II Congreso Nacional de la Fijación Biológica del Nitrógeno. SONAFIBIN-México. Escuela de Biología de la UAG, Guadalajara, Jal. México, págs. 26-27.

FAO. 1983. Technical handbook on symbiotic nitrogen fixation legume/*Rhizobium*. Rome, Italy.

FAO. 1984. Legume inoculants and their use. Rome, Italy.

FERRERA-CERRATO, R. 1980. Inoculación de *Rhizobium phaseoli* a diferentes especies del género *Phaseolus* originarias de México. Rev. Lat-amer. Microbiol. 22:175-180.

- FERRERA-CERRATO, R.** 1981. Efecto de la inoculación de *Rhizobium phaseoli* en el rendimiento del frijol vulgar *Phaseolus vulgaris* L. Informe No. 3. PROAF-CONACYT. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
- FERRERA-CERRATO, R.** 1983. Efecto de la inoculación de *Rhizobium phaseoli* en el rendimiento del frijol vulgar *Phaseolus vulgaris* L. Informe No. 5. PROAF-CONACYT. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
- FERRERA-CERRATO, R.** 1984. Efecto de la inoculación de *Rhizobium phaseoli* en el rendimiento del frijol vulgar *Phaseolus vulgaris*. Informe No. 6. PROAF-CONACYT. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
- FERRERA-CERRATO, R., D. BENITEZ J. y J. SANCHEZ, M.** 1978. Inoculación de *Rhizobium phaseoli* Dangeard en frijol común *Phaseolus vulgaris* L. en Zacapoaxtla y Cuetzalan, Puebla. Avances en la Enseñanza y la Investigación. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- FERRERA-CERRATO, R., E. LOPEZ-ALCOCER, J. ETCHEVERS B. y R. NUÑEZ E.** 1984. Utilización de ^{15}N en la evaluación de la fijación simbiótica de N_2 en el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris*). XII Reunión Latino-americana sobre *Rhizobium*. 21-26 de octubre. Campinas, Sp. Brasil.
- FUENTES T., M.** 1974. Sobrevivencia de *Rhizobium phaseoli* CIAT 57 en semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Var. Jamapa tratados con pesticidas y el efecto en la nodulación. Tesis Profesional. IPN. México, D.F.
- FUENTES T., M.** 1981. Respuesta a la inoculación y los componentes del rendimiento en tres genotipos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
- GALOMOR, T.** 1978. Respuesta a la inoculación y fertilización en 4 variedades de frijol *Phaseolus vulgaris* L. en la región de Chontalpa, Tabasco. Tesis profesional. ENA-UACH. Chapingo, México.
- GARDEZI, A.K.** 1986. Selección de genotipos de *Phaseolus vulgaris* de alta eficiencia en la fijación de nitrógeno asociado con *Rhizobium phaseoli*. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- GARDEZI, A. K. y R. FERRERA-CERRATO.** 1987a. Selección de genotipos fijadores de nitrógeno de frijol (*Phaseolus vulgaris*) empleando la determinación del porcentaje de nitrógeno total. Memorias I Congreso de la Sociedad Nacional de la Fijación Biológica de Nitrógeno. Jalapa, Ver. México. p. 15
- GARDEZI, A.K. y R. FERRERA-CERRATO.** 1987b. Producción de biomasa de 48 variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) inoculadas con *Rhizobium phaseoli*. Resúmenes XX Congreso de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Zacatecas, Zac. p. 158.
- GOMEZ C.J., F. BUSTILLOS M. y E. HIDALGO DEL V.** 1984. Antecedentes históricos de la estadística agrícola en México. Econotecnia Agrícola. SARH. Dirección General de Economía Agrícola. México.
- GRAHAM, P.H. y J. HALLIDAY.** 1977. Inoculation and nitrogen fixation in the genus *Phaseolus*. In: Mineral nutrition of legumes in tropical and subtropical soils. Ed. Andrewand, C.S. and Kamprath, E.J. Australia.
- GRAHAM, P.H.** 1981. Some problems of nodulation and symbiotic N_2 fixation in *Phaseolus vulgaris*. A review. Field Crop research 4: 93-112.
- HUERTA R., M.P. y J.A. DE ALBA M.** 1987. Selección de cepas de *Rhizobium phaseoli* y *Rhizobium meliloti* aisladas de algunos suelos de Lagos de Moreno, Estado de Jalisco. Tesis Profesional. UNAM. México.
- INEGI.** 1985. Estadísticas históricas de México. Tomo I. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México, D.F. p. 385, 386.

- KAPLAN, L. 1965. Archeology and domestication in American *Phaseolus* (Beans). Econ. Bot. 19: 358-368.
- KAPLAN, L. 1980. What is the origen of common bean? Econ. Bot. 35(2): 240-254.
- LEPIZ I., R. 1968. Respuesta de cuatro variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a la inoculación con *Rhizobium phaseoli*. Tesis profesional. ENA. Chapingo, México.
- LEPIZ I., R. 1987. Proyecto de resistencia a sequia en frijol. Reunión de Evaluación. INIFAP, MSU, UM, C.P. Guadalajara, Jal. 26 y 27 de marzo.
- LEPIZ I., R. 1980. Frijol. In: Recursos genéticos. Cervantes S., T. (Editor). Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- LOPEZ A., E. 1982. Generación de tecnología de producción y evaluación de cepas de *Rhizobium phaseoli* y *Rhizobium japonicum* por su efecto en la producción de grano y economía de nitrógeno en los cultivos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y soya (*Glycine max* L. Merrill) en la Mixteca Poblana. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- LOPEZ A., E., R. FERRERA-CERRATO y R. LEPIZ I. 1987a. Programa de mejoramiento genético del frijol por incremento de la capacidad fijadora de nitrógeno en forma simbiótica. I. Selección de progenitores. Reunión de evaluación del proyecto de resistencia a sequia en frijol. INIFAP, MSU, UM, C.P. Guadalajara, Jal.
- LOPEZ A., E., R. FERRERA-CERRATO y R. LEPIZ I. 1987b. Selección de variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) con alta capacidad simbiótica y alto potencial de rendimiento de grano. Aspectos metodológicos. Resúmenes del XX Congreso de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Zacatecas, Zac. p. 157.
- LOPEZ A., E., M.N. RODRIGUEZ M. y R. FERRERA-CERRATO. 1984. Efecto de dosis crecientes de nitrógeno sobre la asociación simbiótica *Rhizobium* -leguminosa en el sistema de cultivo maíz-frijol. Rev. Lat-amer. Microbiol. 26: 181.
- LUNA F., M. 1967. Respuesta del frijol Bayomex a la inoculación con *Rhizobium phaseoli* (Dangear) en Chapingo, México. Tesis profesional. ENA. Chapingo, México.
- MATHIEU B., M.L. 1982. Estudio rizosférico de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculando con mutantes de *Rhizobium phaseoli* resistentes a estreptomycin. Tesis profesional. IPN. México, D.F.
- MATHIEU B., M.L., R. FERRERA-CERRATO y J. TOVAR S. 1979. Estudio microbiológico de la asociación maíz-frijol bajo la inoculación de *Rhizobium phaseoli*. Avances en la enseñanza y la investigación. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- MEJIAD., C. 1983. Inoculación con *Rhizobium* y su efecto en los componentes del rendimiento en cuatro especies de *Phaseolus*. Tesis profesional. UACH. Chapingo, México.
- MIRANDA C., S. 1967. Origen de *Phaseolus vulgaris* (frijol común). Agrociencia. 2: 99-109.
- MIRANDA C., S. 1979. Evolución de *Phaseolus vulgaris* y *P. cocineus*. In: Contribuciones al conocimiento de frijol. Engleman, M. (Ed.). Colegio de Postgraduados Chapingo, México.
- NUÑEZ E.R., y M. VALDES. 1978. Bean inoculation in the valley of Mexico under unirrigated conditions. In: Dobereiner J.; R.H. Burris y A. Hollander (Eds.). Limitations and Potentials for Biological Nitrogen Fixation in the Tropics. Series Basic Life Sciences 10: 335-336.
- OCHOA M., R. 1973. Estudio de fertilizantes e inoculantes en frijol bajo condiciones de temporal en el Llano, Aguascalientes. Tesis profesional. ESA "AN". Buenavista, Saltillo, Coahuila.

PEÑA B., A. 1974. Efecto del nitrógeno, fósforo, inoculantes, algunos elementos menores y sus interacciones en el cultivo del frijol de riego en la región central del Bajío. Tesis profesional. U. de G. Guadalajara, Jal.

PEÑA R., R. 1983. Efecto de dosis de nitrógeno e inoculación con dos cepas de *Rhizobium* bajo diferentes condiciones de manejo en dos variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis profesional. UACH. Chapingo, México.

PEREZ T., H. 1987. Evaluación de cepas de *Rhizobium* en condiciones de campo con variedades de frijol en Zacatecas. Reunión de Evaluación Proyecto de Resistencia a Sequía en Frijol. INIFAP, MSU,UM, C.P. Guadalajara, Jal.

RODRIGUEZ M., M.N. 1983. Estudio y caracterización de la relación simbiótica de *Rhizobium phaseoli* en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) de distintos hábitos de crecimiento. Tesis profesional. UNAM. México, D.F.

RODRIGUEZ M., M.N. 1987. Efecto de la germinación de *Phaseolus vulgaris* en la sobrevivencia de *Rhizobium phaseoli*. Reunión de evaluación del proyecto de resistencia a sequía en frijol. INIFAP, MSU,UM, C.P. Guadalajara, Jal.

RODRIGUEZ M., M.N. y R. FERRERA-CERRATO. 1980. Sobrevivencia de *Rhizobium phaseoli* sobre la semilla de frijol durante el proceso de germinación hasta plántula. Avances en la Enseñanza e Investigación. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.

RODRIGUEZ M., M.N. y R. FERRERA-CERRATO. 1984. Estudio y caracterización de la relación simbiótica de *Rhizobium phaseoli* en frijol *Phaseolus vulgaris* L. de distintos hábitos de crecimiento. XII Reunión Latinoamericana sobre *Rhizobium*, 21-26 de octubre.

RODRIGUEZ M., M.N., R. FERRERA-CERRATO y E. LOPEZ A. 1987. Evaluación microbiológica y sobrevivencia de *Rhizobium* en turbas procedentes del Estado de México. Resúmenes del XX Congreso de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo. Zacatecas, Zac. p. 162.

SARH. 1986. Evaluación del año agrícola 1985. México.

SOBERON, G. 1985. Mecanismo de nodulación de las leguminosas. Investigación y Ciencia 103: 6-13.

ZEPEDA R., J.J. 1979. Respuesta a la inoculación y aplicación de N, P y micronutrientes de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis profesional. U. de G. Guadalajara, Jal.

PROBLEMAS DE LA NODULACION Y LA FIJACION DE NITROGENO EN *Phaseolus vulgaris* L.: UNA REEVALUACION¹⁾

Peter H. Graham

Departamento de Suelos, Universidad de Minnesota, St Paul MN, 55108

RESUMEN

En la presente revisión se analizan los avances de investigación desde 1981 hasta la actualidad sobre la variación genética del frijol asociado con *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* en relación a su capacidad para fijar nitrógeno. Se discuten también factores edáficos y agronómicos tales como la acidez, contenido de P y temperatura del suelo, así como la capacidad competitiva de *Rhizobium* control biológico y protección de la semilla que limitan la nodulación y la fijación del nitrógeno.

INTRODUCCION

En 1981, el autor revisó los trabajos sobre nodulación y fijación de nitrógeno en *Phaseolus vulgaris* L. (Graham, 1981). Enfatizó la pobre capacidad de muchos cultivares nativos para fijar N₂, la extremadamente variable respuesta de campo a la inoculación, los múltiples aspectos y efectos de la acidez del suelo y mencionó brevemente los efectos de temperatura y disponibilidad de agua, competencia por sitios de nodulación y otros problemas agronómicos.

Durante el periodo transcurrido desde esa revisión, han ocurrido apreciables avances en algunas áreas de este campo de la investigación. En esta revisión, se discuten los avances de investigación desde 1981, hasta el trabajo actual realizado con otros organismos que podrían tener relevancia en la nodulación y fijación de N₂ en frijol y se puntualizan las áreas problema que aún quedan por aclarar.

VARIACION GENETICA EN LA CAPACIDAD PARA FIJAR NITROGENO

La variación entre cultivares de *Phaseolus vulgaris*, en relación a la fijación simbiótica de N₂, fue demostrada por primera vez en 1977-1978, cuando se consignó que las líneas de hábito determinado resultaron ser más pobres para fijar N₂, que las de hábito indeterminado o cultivares trepadores (Graham y Halliday, 1977; Graham y Rosas, 1977). Esta área de investigación ha continuado recibiendo atención en relación a las tasas de fijación N₂ reportadas en estudios recientes, las cuales varían desde tan sólo 3 hasta 125 kg de N ha⁻¹ (CIAT, 1985; Duque *et al.*, 1985; Rennie y Kemp, 1983a, 1984; Ruschel *et al.*, 1982; Trivelin *et al.*, 1988; Westermann *et al.*, 1981). En algunos de estos estudios, se usaron métodos isotópicos de ¹⁵N dando

¹⁾ Traducción: J.Z. Castellanos. CIFAP-Guanajuato-INIFAP.

confiabilidad a los valores obtenidos. No obstante, debido a que las diferencias en floración y madurez raramente han sido consideradas, es difícil separar sus efectos de los del genotipo mismo. Es notable que el valor más bajo citado arriba (Duque *et al.*, 1985) es para variedades que maduraron en sólo 62 días.

Por otro lado, se han iniciado también trabajos de mejoramiento genético para incrementar los niveles de fijación N_2 en frijol. En la Universidad de Wisconsin, Bliss y colaboradores (Bliss, 1985; McFerson *et al.*, 1982; Rosas y Bliss, 1986), han usado el método de retrocruzas recurrentes de Wehrhahn y Allard (1965) para transferir la capacidad fijadora de N_2 del cultivar nativo Puebla 152, altamente fijador de N_2 (Graham y Rosas, 1977), a progenitores recurrentes seleccionados. Estos han incluido a los cultivares: "Sanilac", "Porrillo Sintético" e "ICA-Pijao". Se han obtenido grandes progresos en la identificación de líneas con las características agronómicas de los progenitores recurrentes y con alta capacidad de fijación de N_2 cuando la diferencia en el potencial de fijación de N_2 entre los progenitores ha sido grande (Rosas y Bliss, 1986; D. St. Clair, comunicación personal). Sin embargo, los progresos han sido menos satisfactorios cuando los progenitores han sido sólo marginalmente diferentes en la capacidad para fijar N_2 . Es interesante notar que mientras que la fijación de N_2 es generalmente considerada un carácter cuantitativo (Graham y Temple, 1984; Holl y La Rue, 1975), se han obtenido ganancias significativas en la habilidad para fijar N_2 en poblaciones donde el 87.5% de la información genética proviene del padre recurrente débil. También se han evaluado caracteres que pueden ser usados para identificar progenie altamente fijadora de N_2 . Rosas y Bliss (1986) encontraron que el peso seco de nódulos, valores de la actividad de reducción de acetileno (ARA), grado de nodulación, relación peso de nódulos: peso de la parte aérea y peso seco de la parte aérea, correlacionaron altamente con la fijación del N_2 en las poblaciones de Puebla

152/Sanilac, pero en otros estudios donde los niveles de N disponibles fueron mayores, los valores de ARA y peso seco de nódulos han correlacionado pobremente con rendimiento y peso de la parte aérea (CIAT, 1984). También, se han obtenido buenas correlaciones entre la relación raíz:nódulos, peso de nódulos y valores de ARA estimados bajo condiciones de campo y los mismos parámetros medidos en el invernadero. Las técnicas de ^{15}N parecen estar limitadas en la selección de progenie. Se ha sugerido (W. M. Adams, comunicación personal) que las variedades seleccionadas para alta fijación de N_2 , son algunas veces no bien adaptadas para crecer con fertilización nitrogenada y *viceversa*. Si esta observación demuestra ser válida, puede ser necesario alternar poblaciones entre alto nitrógeno y condiciones simbióticas.

De los comentarios arriba mencionados es obvio que mientras se obtiene progreso, hay mucho trabajo que realizar para incrementar la capacidad de fijación de N_2 en las líneas de frijol. Los estudios de mejoramiento hasta la fecha están restringidos a tres instituciones, las cuales requieren más apoyo si se desea obtener el éxito logrado con alfalfa (Phillips *et al.*, 1985). Al mismo tiempo, es aconsejable que los programas nacionales de frijol con recursos limitados utilicen los métodos indirectos de selección para fijación de N_2 (Graham y Temple, 1984). Adicionalmente, se deben encontrar progenitores altamente fijadores de N_2 . Pereira *et al.* (1984) evaluaron la fijación de N_2 en 339 genotipos de frijol y reportaron a los cultivares CNF 1855, CNF 1882 y Valle 18 entre los mejores. Se deben continuar estudios adicionales con estas líneas. También son relevantes los estudios comparativos de Piha y Munns (1987a, b). Estos autores encontraron, tanto en los cultivares dependientes de N_2 como en los fertilizados, una acumulación de N inferior a caupi y soya, con algunas variedades de frijol particularmente en desventaja cuando dependieron de la fuente de N atmosférico. Los caracteres en los cuales se observaron diferencias entre las especies y que podrían indicar que se requiere mejoramiento genético

en frijol fueron: tamaño de nódulo (tendiendo a ser menor en los cultivares de frijol), eficiencia en la absorción de hidrógeno, velocidad de acumulación de materia seca de la parte aérea y la relación parte aérea:raíz, duración del desarrollo de la parte aérea y la raíz y actividad de la reducción de acetileno.

La disponibilidad de germoplasma de *Rhizobium* se ha incrementado dramáticamente en los últimos años con las principales colecciones realizadas en México, Brasil, Ecuador y Argentina. La última colección es particularmente interesante debido a que esta área ha sido sugerida como un posible segundo centro de origen de *Phaseolus vulgaris* y su *Rhizobium* (Gepts y Bliss, 1987). Se ha mostrado que los aislamientos de Argentina tienen los perfiles de los plásmidos marcadamente diferentes a los de otros rizobios de frijol que se han estudiado. También es de relevancia la observación de Martínez *et al.* (1985), en el sentido de que algunos aislamientos de Brasil y Colombia pueden nodular *Leucaena*.

Los ensayos desarrollados por NIFTAL-INLIT y CIAT-IBIT han promovido el abastecimiento de cepas a los países en desarrollo. En los ensayos de CIAT-IBIT, Graham *et al.* (1982a), reportaron respuesta a la inoculación de 39 a 61% en cinco de doce localidades y en las cuales la cepa CIAT 640 resultó altamente efectiva a través de un rango de condiciones de suelo y clima. La cepa CIAT 640 también demostró ser efectiva en los estudios de Saito (1982) y Rennie y Kemp (1983b). Otras cepas recientemente identificadas como altamente efectivas en la fijación de N₂ han sido las RCR 3644 (Rennie y Kemp, 1983b), TAL 182 (Pacovsky, *et al.*, 1984) y C-05 (Hungria y Neves, 1986). Es interesante que mientras Pacovsky, *et al.* (1984) y Piha y Munns (1987b) reportaron eficiencias relativas en la absorción de hidrógeno para rizobios de frijol de 0.45 - 0.70, Hungria y Neves (1986) han reportado valores tan altos como 0.88, puntualizando que los valores de eficiencia relativa fueron fuertemente correlacionados con el N transportado en la forma de ureidos.

Desafortunadamente, ninguna de las cepas utilizadas en el último estudio fueron evaluadas por los otros autores. Dada la importancia de la suplementación de energía a la fijación de N₂ (Schubert y Ryle, 1980) y los bajos niveles de actividad de la hidrogenasa encontrada en la mayoría de las rizobias de frijol, se justifica realizar estudios para incorporar plásmidos que contengan la información genética de este carácter en *R. leguminosarum* bv *phaseoli*.

FACTORES EDAFICOS Y AGRONOMICOS QUE LIMITAN LA NODULACION Y LA FIJACION DE N₂.

Acidez del suelo

Los factores de la acidez del suelo influyen todos los estados de nodulación y fijación, desde la multiplicación de *Rhizobium* en el suelo, la infección y formación del nódulo, hasta la fijación de N₂. El pH del suelo, la toxicidad del aluminio y manganeso y la disponibilidad de fósforo, calcio y molibdeno pueden estar involucrados en el fenómeno, no obstante la importancia individual de cada uno de ellos varía de suelo a suelo. Aunque frecuentemente se ha confundido el efecto de estos factores interactuantes, ya se han obtenido importantes progresos en esta área de investigación.

El valor mínimo de pH en el cual ocurre el crecimiento de *Rhizobium* en medio de cultivo varía de acuerdo al medio utilizado, a la cepa y a la densidad de células introducidas. No obstante, cuando el pH del medio ha sido reajustado después de la esterilización y la densidad del inoculante se mantiene baja, muy pocas cepas de *Rhizobium* crecen en un medio con pH menor de 4.5 y gran cantidad son incapaces de crecer a un pH menor de 5 (Graham *et al.*, 1982b; Graham *et al.*, 1988). No obstante, se han identificado cepas que tienen una tolerancia a la acidez por encima de lo normal (Graham *et al.*, 1982 b; Lowendorf y Alexander, 1983; Cunningham y Munns, 1984 a). Tal es el caso de la cepa CIAT 899, que crece bien en un medio a pH de 4.0 (Cunningham y

Munns, 1984a; Graham, *et al.*, 1988) o en un medio de pH de 4.5 conteniendo además 100 μ moles de Al o 200 μ moles de Mn. La frecuencia con que se presenta la tolerancia de estas cepas al pH varía ampliamente. Vargas y Graham (1988) encontraron que el 35.9% de los aislamientos de *R. leguminosarum* bv *phaseoli* colectados predominantemente en regiones de suelos ácidos de Brasil, resultaron tolerantes a un pH de 4.5, mientras que sólo 6 de 55 cepas de la colección sin seleccionar de CIAT (Graham *et al.*, 1982b), fueron tolerantes a tal pH. Lowendorf y Alexander (1983) reportaron que las cepas tolerantes a la acidez fueron más capaces de sobrevivir bajo condiciones de bajo pH. De la misma manera, Graham *et al.* (1982b), encontraron que la cepa CIAT 899, tolerante a la acidez, fue capaz de sobrevivir mejor en el suelo que la cepa CIAT 632, sensible a la acidez, cuando éstas fueron probadas a valores de pH desde 4.19 hasta 4.90; además, la primera respondió a la inoculación con un rendimiento de grano de más de 500 kg ha⁻¹ a un pH de 4.5.

Las bases de estas diferencias en la tolerancia al pH no han sido determinadas, no obstante, Cunningham y Munns (1984, 1985) reportaron que existe una correlación entre la producción de polisacárido extra celular (PSE) de las cepas y su tolerancia a la acidez. La capacidad amortiguadora de PSE de diferentes cepas no mostró correlación con su tolerancia a la acidez, pero la cantidad y fuente de PSE influyó el enlace del fosfato a la gibsita. Mutantes de la cepa CIAT 899, que han perdido su tolerancia a pH siguiendo una mutagénesis Tn5, han sido aislados y están actualmente bajo caracterización (Graham *et al.*, 1988). En otros rizobios de crecimiento rápido, Tremblay y Miller (1983) encontraron que *R. meliloti* mantiene el pH citoplásmico entre 6.5 y 6.7 a cualquier valor externo de pH desde 5.0 hasta 7.6, pero notaron que los bacteroides no tuvieron capacidad homeostática. Glenn *et al.* (1986), encontraron que las células de *Rhizobium* que crecen a pH de 5.5 carecieron de una porina específica de sacarosa pero presentaron una mayor banda de proteína de Rf 0.64.

El pH ácido es una causa importante de falta de nodulación en el trópico. La sensibilidad al pH ocurre en etapas tempranas de la nodulación, y sólo se inhibe cuando la exposición a la acidez ocurre en el período entre dos y cuatro días después de la inoculación (Lie, 1969; Munns, 1968). Franco y Munns (1982) encontraron que los cultivares "Venezuela 350" y "Carioca" redujeron el número de nódulos en 80%, cuando crecieron a un pH de 5.0. Vargas y Graham (1988) evaluaron 126 cultivares de frijol en relación a su desarrollo a pH de 4.5 e identificaron algunos cultivares tales como "Petro 143" y "Capixaba precoce" que nodularon bien a este pH. Estos investigadores reportan, que aún los cultivares sensibles a pH mostraron buena nodulación cuando fueron inoculados con la cepa CIAT 899, pero cuando tanto el cultivar como la cepa fueron sensibles, las plantas prácticamente no mostraron nodulación. Las diferencias en nodulación fueron paralelas con diferencias en la multiplicación de la cepa en la rizósfera, habilidad asociada a pH ácido y comportamiento competitivo.

En un estudio similar, Voss *et al.* (1984) encontraron que los nódulos ocupados por las cepas Car 37 y Car 43 se redujeron de 22 y 65%, respectivamente, cuando crecieron a un pH de 5.1 hasta 3 y 5%, respectivamente, cuando crecieron a un pH de 6.7 después del enclado. Por el contrario, la cepa Car 04 incrementó el número de nódulos ocupados de sólo 12% en un pH de 5.1 hasta 60% a un pH de 6.2. Ramos y Boddey (1987), también encontraron que el porcentaje de nódulos ocupados por la cepa tolerante a la acidez C-05 se redujo mediante el enclado.

Los estudios sobre toxicidad de aluminio en frijol han sido duplicados por la necesidad de mantener niveles bajos de P en la solución. En uno de los pocos estudios en los cuales los niveles de P fueron cuidadosamente controlados, Franco y Munns (1982) encontraron que la colonización e infección de *Rhizobium* en la raíz eran inhibidas a una concentración de 33 μ moles de Al, pero notaron que el crecimiento y desarrollo de la planta fueron

aún más afectados. La adición de calcio puede reducir estos efectos tóxicos y es importante también en la suplementación de molibdeno a la planta (Franco y Day, 1980).

Se requieren estudios más detallados para determinar las bases de las diferencias en tolerancia a la acidez tanto en la planta huésped como en el rizobio, así como también para identificar los pasos específicos en la nodulación que son inhibidos mediante la acidez. Para el rizobio deberá ser posible clonar los genes de pH de la cepa CIAT 899 en cepas que son actualmente sensibles, con el objeto de obtener cepas apareadas para estudios comparativos. Estudios adicionales serán también requeridos para establecer las bases genéticas de las diferencias en la tolerancia al pH en el hospedero. Estudios recientes de genética molecular han mostrado que los genes comunes *Nod* son activados por señales del huésped (Innes *et al.*, 1985; Peters *et al.*, 1986; Rolfe *et al.*, 1985). Estas señales entre la planta y *Rhizobium* ofrecen múltiples sitios para un efecto inhibitorio del pH en etapas tempranas de la nodulación que deberá ser estudiado con mayor detalle.

FOSFORO

En las leguminosas el fósforo (P) es comúnmente el elemento más limitante (Munns y Franco, 1982) y es particularmente importante en plantas que dependen de la fijación de N_2 . Cassman *et al.* (1981) encontraron que las plantas de soya dependientes de N_2 requieren 320 kg ha^{-1} más de fósforo que las plantas fertilizadas con este nutrimento en el mismo suelo. No obstante, ha habido pocos estudios sobre absorción de Cu, P y su redistribución en plantas noduladas de frijol. En un estudio que realizó el autor, cuatro cultivares de frijol fueron inoculadas con *Rhizobium* y enseguida cultivadas en medios con 1 a 16 ppm de P. La acumulación total de P en la planta después de 61 días de la siembra, varió de 44 a 54 mg de P planta⁻¹ en el tratamiento de 16 ppm hasta 2.31 a 4.63 mg por planta⁻¹ en el tratamiento de 1 ppm de P. Con alto nivel de P, el contenido de P en el nódulo varió

de 2.53 a 3.06 mg planta⁻¹, es decir, cerca del 5.7% del P absorbido. En este estudio, la relación de N_2 fijado a P acumulado y fijación de N_2 (C_2H_2) por mg de P en el nódulo fueron mayores en el tratamiento de 16 ppm. Resultados similares pueden ser inferidos de los datos de Bonnetti *et al.* (1984).

Se ha reportado variación entre cultivares en relación a la tolerancia a bajas concentraciones de P en *Phaseolus vulgaris*, pero sin relación con la fijación de N_2 . Schettini *et al.* (1987) utilizaron el procedimiento de retrocruzas recurrentes, mencionado previamente, para transferir la eficiencia de aprovechamiento de P de PI206002 a Sanilac. Cerca del 10% de las líneas de las retrocruzas recurrentes tuvo rendimientos mayores que Sanilac en un sitio de campo con $21 \text{ kg de P ha}^{-1}$, y casi 16% acumuló más P que Sanilac. Líneas de *P. vulgaris* eficientes en aprovechamiento de fósforo tienen más baja actividad de la fosfatasa ácida que aquellas que son ineficientes (CIAT, 1985; M. Thung, comunicación personal), no obstante la actividad de la enzima fosfatasa ácida de todas las líneas se incrementó bajo condiciones de "stress" de humedad.

Hasta la fecha, los estudios que se han realizado en relación a la tolerancia de los rizobios de frijol a la baja concentración de P, han sido solo preliminares pero las diferencias entre cepas aparentemente sí existen. Beck y Munns (1984) encontraron que a 5 $\mu\text{moles de P}$ en el medio de cultivo, la acumulación de P varió de 0.26 a 0.46% del peso seco de la célula, resultando la cepa CIAT 45 superior a la USDA 2668 en el número de células producidas por ml a 0.06 $\mu\text{moles de P}$. Para rizobios de crecimiento rápido, Smart *et al.* (1984a) encontraron que la velocidad de absorción de P se maximiza a 20 $\mu\text{moles de P}$, esto es, de 10 a 180 veces más alta que lo obtenido en un medio con alta concentración de P. Aunque no existen estudios en rizobios de frijol, Beck y Munns (1985) reportan un dramático efecto del calcio sobre la capacidad de las células de *R. meliloti* para utilizar los fosfatos almacenados. Para este organismo, Smart *et*

al. (1984b) reportaron cinco diferentes proteínas periplásmicas, incluyendo la fosfatasa alcalina cuya actividad es reducida cuando las células crecen a bajos niveles de P. En *Escherichia coli* la fosfatasa alcalina, una porina exterior de la membrana y una proteína enlazada a un fosfato son todos componentes del regulón Pho (Wanner, 1987), pero no se han hecho intentos para determinar si la absorción de P está controlada en una forma similar en *R. leguminosarum* bv *phaseoli*.

Aún hay mucho trabajo que realizar si se desean determinar los factores que controlan los requerimientos relativos de P del hospedero y de *Rhizobium*, y la manera en que podría esto afectar el funcionamiento del nódulo. La selección de cultivares para tolerancia a baja concentración de fósforo debe iniciarse ya y deberá realizarse bajo condiciones en las cuales la planta dependa de la fijación de N₂. En *Lupinus* la morfología y desarrollo de la raíz ha sido un factor de importancia en la tolerancia a la baja concentración de fósforo, también es importante determinar las diferencias en la eficiencia de utilización de fósforo después de la asimilación. Para los estudios de *Rhizobium* es necesario determinar la frecuencia y severidad de la deficiencia de P en la rizósfera, los mecanismos de la asimilación eficiente de P y del almacenamiento y uso de este nutrimento, así como también la importancia de la suplementación de P, en relación a la persistencia y competitividad en el suelo.

Debe determinarse la contribución de la micorriza vesículo-arbuscular (MVA) al crecimiento de las plantas noduladas de frijol. Saito *et al.* (1983), reportaron que el porcentaje de colonización de la MVA en siembras de campo en el estado de Sao Paulo, varió de 13.3 a 83.3% con una media de 53%, el número de esporas varió de 4 a 65 por gramo de suelo. Saito *et al.* (1988) evaluaron 31 cultivares de frijol común en relación a la colonización natural con MVA, encontrando que el porcentaje de colonización a los 47 días después de la siembra varió de 12 a 51.1 y la acumulación total de P varió de 3.6 a 17.0 mg

por planta. Se presentó una alta correlación entre N y P total acumulados en estas plantas, que dependieron de N₂ para su nutrición. Silveira y Cardoso (1987), reportan al género *Glomus leptotichum* un endofito de frijol, superiora *G. macrocarpum*, *Gigaspora margarita* y *G. heterogama*.

Temperatura

El frijol es una planta que durante la siembra encuentra temperaturas por arriba de 30°C en los trópicos, hasta temperaturas cercanas al congelamiento en Canadá, Norte de Estados Unidos y Europa. La temperatura es, por tanto, un factor importante en la nodulación y fijación de N₂. Rennie y Kemp (1982) reportaron nodulación de *P. vulgaris* a temperaturas tan bajas como 10°C. A esta temperatura hubo un prolongado retardado en la aparición de los nódulos y claras diferencias en la respuesta de los cultivares. No hubo fijación aparente a temperaturas inferiores a 14°C en la raíz.

Los mismos autores (Rennie y Kemp, 1986), también reportaron diferencias entre cepas en relación a la nodulación a 14/23°C de temperatura nocturna/diurna. Thomas y Sprent (1984) también reportan nodulación en frijol a temperaturas tan bajas como 12.9°. En su estudio, el cultivar 194 produjo más y mayores nódulos y acumuló más N en la planta que el cultivar "Seafarer".

En el otro extremo, Piha y Munns (1987c) encontraron que las plantas de frijol que dependían de N₂ resultaron muy susceptibles a temperaturas tan altas como 34°C que las plantas suplementadas con fertilizante nitrogenado y además fueron más afectadas que las especies de caupi o soya que crecieron bajo las mismas condiciones. Las altas temperaturas causaron mínimo efecto sobre el número de nódulos, pero éstos fueron normalmente pequeños y de baja actividad específica. Estos autores también reportaron diferencias entre cepas, en relación a su tolerancia a la temperatura, la cepa CIAT 899 acumuló más N en la parte aérea a 33°C que las otras cepas probadas. También se han

reportado diferencias entre cepas, en relación a la sobrevivencia a 42°C (Gitonga *et al.* 1988), pero como ha sido indicado por LaFèvre y Eaglesham (1986) en soya, tal tolerancia no está necesariamente correlacionada con la inefectividad a estas temperaturas del suelo. Ya se ha documentado la susceptibilidad del plásmido al calor. Bajo condiciones de altas temperaturas en campo, Piha y Munns (1987c), encontraron que la distribución de nódulos en el perfil se alteró, reportando que el 40% de la ocurrencia se presentó abajo de los 20 cm de profundidad. Esto podría significar que la movilidad y competencia de *Rhizobium* es más importante bajo condiciones de altas temperaturas.

Competencia

Phaseolus vulgaris es un cultivo tradicional a través de gran parte de América Latina y Africa, cuyos registros arqueológicos en México y Perú, se remontan hasta los años 5000 a 5800 a.C. (Kaplan *et al.*, 1973). A raíz de ello, las poblaciones de *Rhizobium* en los suelos de áreas productoras de frijol son muy altas. Saito *et al.* (1983) reportaron conteos del número más probable de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* que variaron de 6.9×10^4 a 7.0×10^6 g⁻¹ de suelo en 16 suelos de Sao Paulo, mientras que en 50 suelos de Rio Grande do Sul, promediaron más de 1000 g⁻¹ (C. Vidor, comunicación personal). Similares resultados han sido obtenidos en México. Con estos niveles de cepas nativas en el suelo, la competencia por sitios de nodulación es inevitable. A pesar de esto, ha habido muy pocos estudios para evaluar diferencias entre cepas, y la mayoría de los estudios reportados han usado solamente un número limitado de cepas. Josephson y Pepper (1985) encontraron que la cepa Kim-5 resultó más competitiva que la cepa 36 o 90 aun cuando la rebasaron por un factor de 1000,000:1. Estos estudios se han complicado por la dificultad de obtener cepas de referencia marcadas con antibióticos que tengan las mismas propiedades de la cepa original y por la reactividad serológica cruzada en esta especie (Robert y Schmidt, 1985). Nosotros hemos usado un mutante

natural infectivo e infectivo de la cepa CC511, para evaluar la competitividad relativa de 54 cepas de frijol provenientes de Brasil, México y Ecuador. Se encontraron diferencias importantes entre cepas, las más competitivas fueron: UMR1084, UMR1165, UMR1384, UMR1125 y UMR1073 (L. Oliveira, comunicación personal). En este estudio, el desarrollo del peso seco de la planta estuvo estrechamente correlacionado con la competitividad y efectividad de la cepa del inoculante, cuando se aplicó en una relación 1:1 con el mutante infectivo UMR 1116. Esto permitió un rápido tamizado subsecuente de las cepas de acuerdo al desarrollo del peso seco de planta. Cuando las cepas seleccionadas por su habilidad competitiva fueron subsecuentemente tamizadas a diferentes temperaturas y niveles de pH, se evidenciaron los efectos ambientales sobre la ocupación de los sitios de infección. En relación al pH, los resultados de Voss *et al.* (1984) y Ramos y Boddey (1987) ya fueron antes mencionados. La mayoría de los estudios, comentados antes, fueron realizados bajo condiciones de invernadero o cámara de crecimiento. Ahora, esas cepas seleccionadas por su habilidad competitiva y eficiencia en la fijación de N₂ deben ser reevaluadas bajo condiciones de campo usando un amplio rango de cultivares. Ya se han iniciado estudios moleculares sobre las bases de competencia, y estos deberán contribuir al entendimiento de este fenómeno.

Control Biológico y Protección de la Semilla.

Debido a la reducida superficie de las unidades de producción de los agricultores y a la necesidad de usar constantemente la tierra, las pudriciones de la raíz son importantes limitantes que afectan tanto al rendimiento como a la fijación de N₂ en frijol. El tratamiento de la semilla es posible, pero a menudo se realiza con fungicida tóxico para *Rhizobium*. Graham *et al.* (1980) consiguieron que el Captán es altamente tóxico para los rizobios de frijol pero que el Thiram y el Pentaclorobenzeno mostraron toxicidad en función del periodo de exposición. Lennox y Alexander (1981) han usado ventajosamente la toxicidad de los fungicidas, tratando las

semillas con Thiram y aplicando inoculante cuyas cepas fueron resistentes a esta substancia. Una mayor proporción de nódulos de plantas de 21 días, provino de las cepas resistentes, siendo además efectiva. Sorprendentemente, este estudio no se ha continuado. También es sorprendente que, dado el interés en el área de control biológico, han habido muy pocos estudios sobre la interacción de *Rhizobium* y *Pseudomonas* en la rizósfera. Grimes y Mount (1984) encontraron que una especie de *Pseudomonas* sp. inhibía a los rizobios de frijol en medio de cultivo, pero no encontraron efectos sobre la nodulación o fijación de N_2 . Debido a que el efecto de *Pseudomonas* es secuestrar el Fe del suelo limitando su disponibilidad a los patógenos de la raíz (Kloepper *et al* 1980), se deberán realizar estudios con el fin de evaluar su potencial para control biológico en los suelos del trópico ricos en Fe.

CONCLUSIONES

Es necesario realizar más investigaciones para obtener el potencial de fijación de N_2 en la simbiosis *Phaseolus vulgaris*-*Rhizobium*. Parece ser que los recientes avances de la genética molecular facilitarán el progreso; sin embargo, es esencial que dichos avances sean enfocados a metas prácticas en las unidades de producción de frijol de los agricultores.

Durante esta última década, se ha visto un creciente interés en la fijación simbiótica de nitrógeno en frijol y es de esperar que, en los próximos 10 años, veamos un acelerado progreso hacia la resolución de las cuestiones aquí presentadas.

LITERATURA CITADA

- BECK, D.P. y D.N. MUNNS. 1984. Phosphate nutrition of *Rhizobium* sp. Appl. Environ. Microbiol. 47: 278-282.
- BECK, D.P. y D.N. MUNNS. 1985. Effect of calcium on the phosphorus nutrition of *Rhizobium meliloti*. Soil Sci. Soc. Amer. J. 49: 334-337.
- BLISS, F.A. 1985. Breeding for enhanced nitrogen fixation potencial of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: Nitrogen fixation and CO_2 metabolism. P.W. Ludden and J.E. Burris (Eds). Elsevier, pp. 303-310.
- BONETTI, R., R. NAZARETH, M.N.S. MONTANHEIRO y S.M.T. SAITO. 1984. The effects of phosphate and soil moisture on the nodulation and growth of *Phaseolus vulgaris*. J. Agric. Sci. (Camb.). 103: 95-102.
- CASSMANN, K.G., S.A. WHITNEY y R.L. FOX. 1981. Phosphorus requirements of soybean and cowpea as affected by mode of N nutrition. Agron. J. 73: 17-22.
- CIAT. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. 1984. Annual report, bean production program.
- CIAT. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. 1985. Annual report, bean production program.
- CUNNINGHAM, S.D. y D.N. MUNNS. 1985. Effects of rhizobial polysaccharide on pH and aluminum activity. Soil Soc. Amer. J. 48: 1276-1280.
- CUNNINGHAM, S.D. y D.N. MUNNS. 1984. Effects of rhizobial extracellular polysaccharide on solution phosphate levels of acid soils. Soil Sci. Soc. Amer. J. 49: 609-612.
- DUQUE, F.F., M.C.P. NEVES, A.A. FRANCO, VICTORIA, R.L. y R.M. BODDEY. 1985. The response of field grown *Phaseolus vulgaris* to *Rhizobium* inoculation and the quantification of N_2 fixation using ^{15}N . Plant and Soil 88: 333-343.

- FRANCO, A.A. y J.M. DAY. 1980. Effects of lime and molybdenum on nodulation and nitrogen fixation of *Phaseolus vulgaris* L. in acid soils of Brazil. Turrialba 30: 99-105.
- FRANCO, A.A. y D.N. MUNNS. 1982. Acidity and aluminum restraints on nodulation, nitrogen fixation and growth of *Phaseolus vulgaris* in solution culture. Soil Sci. Soc. Amer. J. 46: 296-301.
- GEPTS, P. y F.A. BLISS. 1987. Econ. botany. In Press.
- GITONGA, N.M., D. WIDDOWSON y S.O. KEYA. 1988. Interaction of *Phaseolus vulgaris* cultivars with thermo-tolerant isolates of *Rhizobium leguminosarum* bv *phaseoli* from kenyan soils. Workshop on: The contribution of biological nitrogen fixation to plant production. J. Bale *et al.* (Eds) Cisarua, Indonesia. p. 44.
- GLENN, A.R., R. KNUCKEY, y M.J. DILWORTH. 1986. Periplasmic proteins of *Rhizobium*: variation with growth conditions and use in strain identification. FEMS Microbiol. Letts. 35: 65-69.
- GRAHAM, P.H. 1981. Some problems of nodulation and symbiotic nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*; a review. Field Crops Res. 4: 93-112.
- GRAHAM, P.H., C. APOLITANO, R. FERRERA-CERRATO, J. HALLIDAY, E. LEPIZ, O. MENENDEZ, R. RIOS, S.M.T. SAITO, y S. VITERI. 1982. The International Bean Inoculation Trial (IBIT): Results for the 1978-1979 trial. In: BNF technology for tropical agriculture. P.H. Graham and S.C. Harris (Eds), CIAT, pp. 223-229.
- GRAHAM, P.H., K.J. DRAEGER y S.R. AARONS. 1988. Personal Communication.
- GRAHAM, P.H. y J. HALLIDAY. 1977. Inoculation and nitrogen fixation in the genus *Phaseolus*. Univ. Hawaii Coll. Trop. Agric. Misc. Publ. 145: 313-334.
- GRAHAM, P.H., G. OCAMPO, L.D. RUIZ y A. DUQUE. 1980. Survival of *Rhizobium* in contact with chemical seed protectants. J. Agron. 72: 626-627.
- GRAHAM, P.H. y J.C. ROSAS. 1977. Growth and development of indeterminate bush and climbing cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. inoculated with *Rhizobium*. J. Agric. Sci. (Camb.) 88: 503-508.
- GRAHAM, P.H. y S.R. TEMPLE. 1984. Selection for improved nitrogen fixation in *Glycine max* L. Merr. and *Phaseolus vulgaris* L. Plant and Soil 82: 315-327.
- GRAHAM, P.H., S.E. VITERI, F. MACKIE y A. PALACIOS. 1982. Variation in acid soil tolerance among strains of *Rhizobium phaseoli*. Field Crops Res. 5: 121-128.
- GRIMES, H.D. y M.S. MOUNT. 1984. Influence of *Pseudomonas putida* on nodulation of *Phaseolus vulgaris*. Soil Biol. Biochem. 16: 27-30.
- HOLL, F.B. y T.A. La RUE. 1975. Genetics of legume host plants. In: First Intern. Symp. N₂ Fixation. Washington State University. pp.391-399.
- HUNGRIA, M. y M.C.P. NEVES. 1986. Interacao entre cultivares de *Phaseolus vulgaris* e estirpes de *Rhizobium* na fixacao e transporte do nitrogenio. Pesq. Agropec. Bras. 21: 127-140.
- INNES, R.W., P.L. KUEMPEL, J. PLAZINSKI, H. CARTER-CREMERS, B.G. ROLFE, y M.A. DJORDJEVIC. 1985. Plant factors induce expression of nodulation and host-range genes in *Rhizobium trifolii*. Mol. Gen. Gent. 201: 426-432.
- JOSEPHSON, K.L. y I.L. PEPPER. 1985. Competitiveness and effectiveness of strains of *Rhizobium phaseoli* isolated from the Sonoran desert. Soil Biol. Biochem. 16: 651-655.

- KAPLAN, L., T.F. LYNCH, y C.E. SMITH. 1973. Early cultivated beans (*Phaseolus vulgaris*) from an intermontane Peruvian Valley. *Science* 179: 76-77.
- KLOPPER, J.W., J. LEONG, M. TIENZTE y M.N. SCHROTH. 1980. Enhanced plant growth by siderophores by plant-growth promoting rhizobacteria. *Nature* 286: 885-886.
- LaFEVRE, A.K. y A.R.J. EAGLESHAM. 1986. The effects of high temperatures on soybean nodulation and growth with different strains of Bradyrhizobia. *Can J. Microbiol.* 32: 22-37.
- LENNOX, L.B. y M. ALEXANDER. 1981. Fungicide enhancement of nitrogen fixation and colonization of *Phaseolus vulgaris* by *Rhizobium phaseoli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 41: 404-411.
- LIE, T.A. 1969. The effect of low pH on different phases of nodule formation in pea plants. *Plant and Soil* 31: 391-406.
- LOWENDORF, H.S. y M. ALEXANDER. 1983. Identification of *Rhizobium phaseoli* strains that are tolerant or sensitive to soil acidity. *Appl. Environ. Microbiol.* 45: 737-742.
- McFERSON, J., F.A. BLISS y J.C. ROSAS. 1982. Selection for enhanced N₂ fixation in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) *In: BNF technology for tropical agriculture.* P.H. Graham and S.C. Harris (Eds). CIAT, pp 39-44.
- MARTINEZ, E., M.A. PARDO, R. PALACIOS y M.A. CEVALLOS. 1985. Reiteration of nitrogen fixation gene sequences and specificity of *Rhizobium* in nodulation and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. *J. Gen. Microbiol.* 131: 1779-1786.
- MUNNS, D.N. 1968. Nodulation of *Medicago sativa* in solution culture. I. Acid-sensitive steps. *Plant and Soil* 28: 129-146.
- MUNNS, D.N. y A.A. FRANCO. 1982. Soil constraints to legume production. *In: BNF technology for tropical agriculture.* P.H. Graham and S.C. Harris (Eds). CIAT, pp. 133-152.
- PACOVSKY, R.S., H.G. BAYNE y G.J. BETHLENFALVAY. 1984. Symbiotic interactions between strains of *Rhizobium phaseoli* and cultures of *Phaseolus vulgaris* L. *Crop Sci.* 24: 101-105.
- PEREIRA, P.A.A., R.S. ARAUJO, R.E.M. DA ROCHA, y S. STEINMETZ. 1984. Capacidade de genótipos de feijoeiro de fixar N₂ atmosférico. *Pesq. Agropec. Bras.* 19: 811-815.
- PETERS, N.K., J.W. FROST y S.R. LONG. 1986. A plant flavone luteolin, induces expression of *Rhizobium meliloti* nodulation genes. *Science* 233: 977-980.
- PHILLIPS, D.A., E.J. BEDMAR, C.O. QUALSET, y L.R. TEUBER. 1985. Host legume control of *Rhizobium* function. *In: Nitrogen fixation and CO₂ metabolism.* P.W. Ludden and J.E. Burris (Eds). Elsevier, pp. 203-212.
- PIHA, M.I. y D.N. MUNNS. 1987a. Nitrogen fixation capacity of field grown bean compared to other grain legumes. *Agron. J.* 79: 690-696.
- PIHA, M.I. y D.N. MUNNS. 1987b. Nitrogen fixation potential of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) compared with other grain legumes under controlled conditions. *Plant and Soil* 98: 169-182.
- PIHA, M.I. y D.N. MUNNS. 1987c. Sensitivity of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) symbiosis to high soil temperature. *Plant and Soil* 98: 183-194.
- RAMOS, N.L.G. y R.M. BODDEY. 1987. Yield and nodulation of *Phaseolus vulgaris* and the competitiveness of an introduced *Rhizobium* strain: effect of lime, mulch and repeated cropping. *Soil Biochem.* 19: 171-177.

- RENNIE, R.J. y G.A. KEMP. 1982. Dinitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* at low temperatures: interaction of temperature, growth stage and time of inoculation. *Can J. Bot.* 60: 1423-1427.
- RENNIE, R.J. y G.A. KEMP. 1983a. N_2 fixation in field beans quantified by ^{15}N isotope dilution II. Effect of cultivars of beans. *Agron. J.* 75: 645-649.
- RENNIE, R.J. y G.A. KEMP. 1983b. N_2 fixation in field beans quantified by ^{15}N isotope dilution. I. Effect of strains of *Rhizobium phaseoli*. *Agron. J.* 75: 640-644.
- RENNIE, R.J. y G.A. KEMP. 1984. ^{15}N determined time course for N_2 fixation in two cultivars of field bean. *Agron. J.* 76: 146-154.
- RENNIE, R.J. y G.A. KEMP. 1986. Temperature-sensitive nodulation and nitrogen fixation of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* strains. *Can. J. Soil Sci.* 66: 217-224.
- ROBERT, F.M. y E.L. SCHMIDT. 1985. Somatic serogroups among 55 strains of *Rhizobium phaseoli*. *Can. J. Microbiol.* 31: 519-523.
- ROLFE, B.G., R.W. INNES, P.R. SCHOFIELD, J.W. WATSON, C.L. SARGENT, P.L. KUEMPEL, J. PLAZINSKI, H. CARTER-CREMERS, y M.A. DJORDJEVIC. 1985. Plant-secreted factors induce the expression of *R. trifolii* nodulation and host-range genes. *In: H.J. Evans et al.* (Eds) Nitrogen fixation research progress. Martinus Nijhoff, pp. 79-85.
- ROSAS, J.C. y F.A. BLISS. 1986. Host plant traits associated with estimates of nodulation and nitrogen fixation in common bean. *Hort. Sci.* 21: 287-289.
- RUSCHEL, A.P., P.B. VOSE, E. MANTSUI, R.L. VICTORIA, y S.M.T. SAITO. 1982. Field evaluation of N_2 fixation and N utilization by *Phaseolus* bean varieties determined by ^{15}N isotope dilution. *Plant and Soil* 65: 397-407.
- SAITO, S.M.T. 1982. Aviliacao em campo da capacidade de fixacao simbiotica de estirpes de *Rhizobium phaseoli*. *Pesq. Agropec. Bras.* 17: 999-1006.
- SAITO, S.M.T., E.C.S. MARTINS, J.R. FREITAS, y A.J. ROSTON. 1983. Ocurrencia natural de micorrhiza e *Rhizobium phaseoli* em aereas com feijoeiro. *Pesq. Agropec. Bras.* 18: 855-861.
- SAITO, S.M.T., P.M. SILVA, R. BONETTI, W.L. CABEZAS, y P.C.O. TRIBELIN. 1988. Personal Communication.
- SCHETTINI, T.M., W.H. GABELMAN, y G.C. GERLOFF. 1987. Incorporation of phosphorus efficiency from exotic germplasm into agriculturally adapted germplasm of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant and Soil* 99: 175-184.
- SCHUBERT, K.R. y G.J. RYLE. 1980. The energy requirements for nitrogen fixation in nodulated legumes. *In: Advances in legume science.* R.J. Summerfield and A.H. Bunting (Eds) Kew Botanical Gardens. pp. 85-96.
- SILVEIRA, A.P.D. y E.J.B.N. CARDOSO. 1987. Efeito do fosforo e da micorriza vesiculo-arbuscular na simbiose *Rhizobium*-feijoeiro. *R. Bras. Ci. Solo.* 11: 31-36.
- SMART, J.B., M.J. DILWORTH y A.D. ROBSON. 1984a. Effect of phosphorus supply on phosphate uptake and alkaline phosphatase activity in rizobia. *Arch. Microbiol.* 140: 281-286.
- SMART, J.B., M.J. DILWORTH y A.D. ROBSON. 1984b. Effect of phosphorus supply on periplasmic protein profiles in rhizobia. *Arch. Microbiol.* 140: 287-290.
- THOMAS, R.J. y J.I. SPRENT. 1984. The effect of temperature on vegetative and reproductive growth of a cold-tolerant and a cold sensitive-line of *Phaseolus vulgaris*. I. Nodulation, growth and partitioning of dry matter, carbon and nitrogen. *Ann. Bot.* 53: 579-588.

TREMBLAY, P.A. y R.W. MILLER. 1983. Cytoplasmic membrane of *Rhizobium meliloti* bacteroids. II. Funcional differentiation and generation of membrane potentials. Can. J. Biochem. Cell Biol. 62: 592-600.

TRIVELIN, P.C.O., R. VICTORIA, y S.M.T. SAITO. 1988. Personal Communication.

VARGAS, A.A.T. y P.H. GRAHAM. 1988. *Phaseolus vulgaris* cultivar and *Rhizobium* strain variation in acid-pH tolerance and nodulation under acid conditions. Field Crops Res. 19: 91-101.

VOSS, M., J.R.J. FREIRE y P.A. SELBACH. 1984. Efeito de nieveis de calcario no solo e na capacidade de competicao de estirpes de *Rhizobium phaseoli* par sitios de nodulacao. Pesq. Agropeq. Bras. 19: 433-439.

WANNER, B.L. 1987. Bacterial alkaline phosphatase gene regulation and the phosphate response in *Escherichia coli*. In: Phosphate metabolism and cellular regulation in microorganisms. A. Torriani-Gorini *et al.* (Eds). American Society for Microbiology. pp.12-19.

WEHRHAHN, C. y R.W. ALLARD. 1965. The detection and measurement of the effect of individual genes involved in the inheritance of a quantitative trait in wheat. Genetics 51: 109-119.

WESTERMANN, D.T., G.E. KLEINKOPF, L.K. PORTER y G.E. LEGGETT. 1981. Nitrogen sources for bean seed production. Agron. J. 73: 660-664.

PRODUCCION Y ESTADO ACTUAL DE LOS INOCULANTES PARA LEGUMINOSAS EN MEXICO

Gregorio Trujillo González

Fertilizantes Mexicanos, S.A. Morena No. 804, México, 03020 México, D.F.

RESUMEN

Se analizan el desarrollo y la trascendencia de la fertilización biológica de las leguminosas a nivel comercial en México desde 1952, y se discuten las características de los materiales y las condiciones óptimas para la elaboración, envasado, almacenaje, transporte y aplicación de inoculantes de alta calidad.

INTRODUCCION

Dentro de la dieta alimentaria de la población en México, las leguminosas que ocupan un lugar importante son: *Phaseolus vulgaris*, *Vicia faba*, *Arachis hypogaea*, *Cicer arietinum*, *Lens esculenta*, *Pisum sativum*, *Pachyrhizus erosus* y *Vicia lutea*.

Otras ocupan sitios de importancia en la industria y en la explotación agropecuaria, siendo éstas: *Glycine max*, *Medicago sativa*, *Vicia villosa* y *Trifolium*.

Para satisfacer su demanda interna, actualmente se siembran 3'384,572 ha, lo que representa el 16% de la superficie agrícola en México (Cuadro 1).

De esta superficie, el 28% se fertiliza con nitrógeno y fósforo, variando las dosis de nitrógeno de 30 a 60 kg ha⁻¹ dependiendo de la

leguminosa y de la región donde se siembre (SARH 1978; 1982; 1984). Así, la cantidad de fertilizante nitrogenado que se aplica en la siembra de las leguminosas es de 101,451 ton de sulfato de amonio, aproximadamente.

La producción mundial de fertilizantes no alcanza a cubrir la demanda, por lo que es necesario aplicar técnicas auxiliares que ayuden a la solución del problema. Una de éstas es la utilización de procesos microbianos, como el de la fijación biológica del nitrógeno atmosférico.

Cuadro 1. Superficie dedicada al cultivo de las leguminosas en México (SARH, 1985).

Leguminosa	Hectáreas
Frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	2 252 030
Alfalfa (<i>Medicago sativa</i>)	448 653
Soya (<i>Glycine max</i>)	329 303
Garbanzo (<i>Cicer arietinum</i>)	248 625
Haba (<i>Vicia faba</i>)	64 003
Chicharo (<i>Pisum sativum</i>)	14 848
Lenteja (<i>Lens esculenta</i>)	14 141
Veza-ebo (<i>Vicia villosa</i>)	8 963
Arvejon (<i>Pisum arvense</i>)	2 639
Jicama (<i>Pachyrhizus erosus</i>)	767
Trebol (<i>Trifolium</i>)	600
Total	3 384 572

Está comprobado que este proceso aporta por sí mismo la mayor cantidad del nitrógeno necesario para el desarrollo de la planta, a la vez que favorece la fertilidad del suelo, puesto que parte del nitrógeno fijado permanece en él disponible para posteriores cultivos. Aun cuando en la mayoría de los suelos, donde se siembran las leguminosas, existen estos microorganismos, algunas veces no son específicos para la leguminosa sembrada, no son eficientes o no se encuentran en número adecuado para establecer una óptima simbiosis; por lo que se hace necesaria la introducción de gran número de rizobias específicas y de alta eficiencia. Esto se logra mediante la aplicación, al momento de la siembra, de concentrados microbianos llamados inoculantes.

Un inoculante para leguminosas es un concentrado de bacterias del género *Rhizobium* que deberá tener una cantidad de 100×10^6 bacterias g^{-1} de producto. Las cepas que se usan deberán ser previamente seleccionadas, a fin de que trabajen eficientemente en las diversas condiciones en las que son sembradas las leguminosas.

El inoculante consta de dos partes: (1) una gran concentración de células de la o las cepas seleccionadas y (2) el soporte que sirve de transporte a las bacterias.

El soporte normalmente es turba, la cual permite la sobrevivencia y la reproducción de las bacterias cuando se mezclan. Sin embargo, existen diversas investigaciones en las que se busca un sustituto de la turba; actualmente no se han encontrado materiales que superen a la misma para este fin. La turba o soporte debe molerse hasta alcanzar un tamaño de partícula de 200 mallas (Roughley, 1970). Normalmente se usa turba esterilizada previamente, también puede usarse sin la esterilización pero esto disminuye la viabilidad de las bacterias.

La reproducción bacteriana normalmente se efectúa en fermentadores, sin embargo, también puede realizarse en garrafones de vidrio. Una vez que el caldo alcanza la concentración

adecuada, algunas veces de 10^{10} células ml^{-1} (Boiardi, comunicación personal, 1985) según la composición del medio, se mezcla con la turba molida esterilizada y neutralizada en una proporción que permita obtener un producto con una humedad final entre 45-50% (Roughley, 1970).

Antes de su empaque, el inoculante deberá madurar a temperatura ambiente durante 24-48 horas. El empaquetado puede ser mecánico o manual. El material de empaque deberá ser de polietileno con un grosor de 0.05 mm. En la bolsa de empaque deben indicarse las instrucciones de manejo y uso, leguminosa específica para lo que fue producido y fecha de caducidad. Una vez empacado, deberá incubarse a $28^{\circ}C$ durante dos semanas (Roughley, 1970).

El transporte para su distribución se debe hacer en camiones-refrigerador o bien durante la noche. El almacenamiento previo o su venta debe hacerse en lugares frescos bien ventilados y protegidos de los rayos solares.

En México, el uso de estas bacterias se remonta al año de 1905, cuando la Secretaría de Fomento elaboró un folleto de difusión técnica donde promovía el uso de un inoculante llamado NITRAGINA (Secretaría de Fomento, 1905a).

Los primeros estudios de los que se tienen referencia en México, sobre el tema *Rhizobium*-Leguminosas fueron los efectuados por Casas-Campillo 1943, 1947; Casas-Campillo y Guerrero (1948), Sánchez-Marroquin y Casas-Campillo (1944).

Durante los años de 1967 a 1975, no se obtuvieron resultados positivos en varios estudios efectuados en diversos centros de investigación para determinar la respuesta a la inoculación, usando productos comerciales para los cultivos de lenteja, frijol y garbanzo (SAG, 1967; 1972; 1974a, b; 1975). Sin embargo, en dichos trabajos no se consideró la evaluación de la viabilidad del inoculante.

Existe actualmente en México una serie de estudios en los que se demuestra que la inoculación de leguminosas produce rendimientos semejantes a los obtenidos cuando se aplica fertilizante nitrogenado. Rodríguez (1986) en un trabajo de selección de siete cepas de *Rhizobium phaseoli*, no encontró diferencias significativas entre cinco cepas usadas y el tratamiento fertilizado con 40 kg N ha⁻¹ en frijol de temporal, obteniendo un rendimiento máximo de 1833 kg ha⁻¹ para la mejor cepa y de 1423 kg ha⁻¹ para el tratamiento fertilizado.

Marini (1986) obtuvo respuesta a la inoculación de frijol de temporal en Huatusco, Ver. al presentarse un rendimiento de 1713, 1711 y 1750 kg ha⁻¹ en los tratamientos 60-60-0, 40-60-0 e inoculado más 60 kg de P₂O₅ ha⁻¹, respectivamente; con el testigo se obtuvo un rendimiento de 1196 kg ha⁻¹.

Otros autores mencionan también la respuesta a la inoculación de las leguminosas en trabajos de selección de cepas de *Rhizobium* en campo (Aveldaño y Ferrera-Cerrato, 1981; Cota *et al.*, 1985; Duran, 1985; Nathal, 1981; Orihuela *et al.*, 1985; Trujillo, 1975).

También, usando inoculantes comerciales, se han obtenido buenos resultados, así Herrera *et al.* (1987) evaluaron dos marcas comerciales de inoculantes para soya comparándolas con inoculantes producidos por organismos oficiales; encontraron que por lo menos un inoculante comercial era superior en cuanto a rendimiento de la soya. Lee *et al.* (1972), inoculando con un producto comercial, obtuvieron resultados semejantes a los obtenidos cuando se aplicaron 60 kg N ha⁻¹.

A pesar de las contadas evidencias de la respuesta positiva a la inoculación, la recomendación de usar inoculantes y fertilizantes nitrogenados conjuntamente (SARH, 1984), ha contribuido al descrédito de la práctica de inocular.

La producción de inoculantes en México se inició en 1952 cuando Casas-Campillo, C., Zapata, M. y Rodríguez, H., elaboraron

comercialmente inoculantes para los cultivos de soya, frijol, alfalfa, chícharo, lenteja y veza con el nombre comercial de RIZOBIN. Este era elaborado con cepas de *Rhizobium* nativas, seleccionadas previamente en coordinación con la Comisión Nacional del Maíz, usando como soporte turba de origen nacional y envasado en bolsas de polietileno. Este producto permaneció en el mercado durante cinco años (Casas-Campillo, comunicación personal, 1985).

En 1954 apareció en el mercado otro inoculante, llamado NITROBACTER, elaborado por los laboratorios Flora-Microbiana, S.A. No se encontraron datos sobre las leguminosas para las que se producía este inoculante. Su presentación era en latas con dosis suficiente para una hectárea, este producto desapareció del mercado por el año de 1960, aproximadamente (Rodríguez, H., comunicación personal, 1981).

En 1963, Empresas NITRAGIN inició la producción de inoculantes en la ciudad de Guadalajara, Jal., elaborando inoculantes para los cultivos de soya, garbanzo, frijol, y alfalfa. En el esquema de producción que tiene actualmente establecido, usa cepas seleccionadas por ellos mismos mediante trabajos de invernadero y campo (Nathal, 1981). Para la producción de las bacterias utilizan fermentadores de 3,500 l de capacidad y turba parcialmente estéril e importada de los Estados Unidos.

La mezcla la efectúan en forma mecánica, envasando el producto manualmente en bolsas de polietileno de 1 kg de capacidad y 0.03 mm de grosor. El control de la calidad es efectuado a través de diversas pruebas durante las diferentes etapas del proceso de elaboración, siendo éstas: número de células variables por ml, detección microscópica de contaminantes, pH, número más probable y humedad. La concentración mínima de rhizobias aceptada por ellos es de 100x10⁸ células g⁻¹ de producto. Periódicamente, envían muestras de sus lotes a Estados Unidos (Guzmán M.E., comunicación

personal, 1981). Su volumen de producción en 1986 fue de 500 toneladas, correspondiendo el 80% a inoculante para el cultivo de soya y el resto para frijol, chícharo, garbanzo y alfalfa (Guzmán M.E., comunicación personal, 1987). Elaboran dos tipos de inoculantes: granular (envasado en bolsas de papel con un peso de 10 kg) y en polvo (envasado en bolsas de 250 g y de 1 kg). En estas dos últimas presentaciones, el inoculante viene acompañado con un pesticida protector de la semilla, que no afecta a *Rhizobium*, llamado NITRACOAT, patente de NITRAGIN. La dosis recomendada para el caso del inoculante granular es de 10 kg ha⁻¹ y de 1 kg ha⁻¹ para el inoculante en polvo. La distribución del inoculante la efectúan a través de Bancos de Crédito Agrícola, Cooperativas de Agricultores y casas comerciales. El mayor volumen de ventas corresponde a los estados de Sonora, Tamaulipas y Chiapas (Guzmán M.E., comunicación personal, 1981).

Otra casa productora de inoculantes es Química Lucava S.A., ubicada en Cuautitlán, Edo. de México; el nombre comercial de su producto es LUCANIT y produce inoculante en polvo para el cultivo de soya. Para la producción usan fermentadores y como soporte turba importada de los Estados Unidos (Cárdenas, A., comunicación personal, 1981). El control de calidad es efectuado a través de las siguientes determinaciones: número de células por ml, detección microscópica de contaminantes y número más probable. Su volumen de producción en 1986 fue de 200 toneladas aproximadamente (Cárdenas, A., comunicación personal, 1987). El producto es envasado en bolsas de polietileno de 1 kg de capacidad y 0.03 mm de grosor. La dosis recomendada es de 1 kg de inoculante por hectárea.

El inoculante DIANITRO-FIX fue producido a partir de 1975. Actualmente, la casa que lo expende es SDS BIOTECH, que elabora inoculantes para los cultivos de frijol, soya, alfalfa y garbanzo en dos presentaciones: polvo y granular; envasándolo en bolsas de

polietileno de 0.03 mm de grosor y bolsas de papel, respectivamente. El soporte es turba importada. La dosis recomendada es de 1 kg de inoculante por hectárea. Esta empresa se encuentra ubicada en Ecatepec, Edo. de México.

Fertilizantes Mexicanos, S.A. produce el inoculante NITROBIOL para los cultivos de frijol, soya, cacahuete y garbanzo, empleando turba nacional y cepas seleccionadas. Esta selección se viene efectuando desde 1977 en diferentes estados de la República. Al iniciar las actividades, al igual que todos los productores de inoculantes, dependía de la importación de turba; ante esta limitante se dio a la tarea de buscar un sustituto, encontrando una turbera cuyo material tiene características que permiten sustituir la turba importada y que puede abastecer totalmente las necesidades nacionales. Algunas de las características de este material son: materia orgánica 67%, residuo insoluble en ácido 17%, pH 6.2, capacidad de retención de agua 240% (Trujillo, 1981). El período de sobrevivencia de cepas de *Rhizobium phaseoli* sobre este material se observa en el Cuadro 2.

Estudios posteriores muestran que las características de la turba nacional son semejantes a las de la turba de Argentina, España y Estados Unidos (Somasegaran, 1985), teniendo un excelente comportamiento con cepas de *Bradyrhizobium japonicum* (Córdova, 1985);

Cuadro 2. Sobrevivencia de *Rhizobium phaseoli* en turba nacional con diferentes contenidos de humedad (Trujillo, 1981).

Humedad	Células	Tiempo
%	g ⁻¹	días
48.8	3.5 x 10 ⁹	15
48.0	2.4 x 10 ⁸	30
47.0	1.7 x 10 ⁸	120
45.3	5.5 x 10 ⁷	180

además de que sirve también como soporte para la preparación de inoculantes de *Azospirillum* (Hernández y Ruiz, 1987). Fertilizantes Mexicanos produce inoculante en polvo, envasado en bolsas de polietileno de 500 g de capacidad y 0.03 mm de grosor. La dosis recomendada es de 0.5 kg ha^{-1} . Las pruebas de control de calidad que se efectúan son: pH, observación microscópica de contaminantes en el caldo, número más probable y humedad relativa.

Recientemente, Bio-Agro de México inició la producción de inoculantes para el cultivo de soya. La planta está ubicada en Cd. Obregón, Son.

En lo que se refiere a control de calidad, gubernamentalmente no existen en México normas oficiales que legislen la producción y venta de los inoculantes para leguminosas. El reglamento para la expedición de la licencia de comercialización de estos productos, solamente exige que se cumplan las especificaciones que el fabricante establece mediante solicitud por escrito, entregando muestras del producto a las que se les hace el análisis correspondiente. Esta licencia se renueva cada dos años sin costo alguno (SARH, 1985).

Desde el punto de vista económico, la inoculación de leguminosas es más barata que la fertilización nitrogenada. Actualmente, el kilogramo de nitrógeno tiene un costo de \$305.00, una dosis de 40 kg ha^{-1} tiene un valor de \$12,226.00 y su aplicación un costo de \$10,000.00; por otro lado un kilogramo de inoculante cuesta \$3,200.00, en algunos casos se aplica solo 0.5 kg ha^{-1} y el costo de aplicación es mínimo o nulo. Según Guerra y García (1985), con la inoculación de las leguminosas se tiene una menor inversión y se obtiene una relación beneficio/costo semejante a cuando se aplica fertilizante nitrogenado, con un coeficiente de ganancia aceptable.

Los problemas que se presentan en la aplicación de los inoculantes es, en algunos casos, la falta de nodulación; en el Valle de Mexicali se ha presentado este problema con soya. La razón de esto son las altas

temperaturas que se han registrado en estos suelos, temperaturas que llegan hasta 45°C . Está comprobado que temperaturas superiores a 40°C inhiben la formación de nódulos (Freire, 1975). Una de las maneras de resolver este problema es el de sembrar uno o dos meses antes de que se registren las altas temperaturas en el suelo; sin embargo, esto genera otros problemas. Otra posible solución es el de seleccionar cepas resistentes a altas temperaturas, trabajo que ya se ha comenzado a desarrollar.

Otro problema es la falta de nodulación cuando se inocula semilla tratada con fungicida. Una solución a esto es el uso de inoculantes granulares, sin embargo, el hacerlo representaría una elevación en el costo de la inoculación, que sería superior al de la fertilización nitrogenada ya que se recomiendan dosis de 10 kg ha^{-1} .

CONCLUSIONES

1. La inoculación es ocho veces más barata que la fertilización nitrogenada y es posible obtener rendimientos semejantes.
2. La producción actual de inoculantes para leguminosas solamente cubre el 25% de las necesidades.
3. La inoculación de las leguminosas en las que actualmente se aplica fertilizante nitrogenado, conlleva a que este último se pueda usar en otros cultivos que no tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, coadyuvando de esta manera al incremento de el área fertilizada.
4. La aplicación conjunta de inoculante y fertilizante nitrogenado inhibe la acción del primero y dicha recomendación genera un descrédito para los inoculantes.
5. Es necesario obtener material eficiente para las zonas problema.
6. Se debe incrementar la promoción del uso de microorganismos para la elaboración de biofertilizantes.

LITERATURA CITADA

- AVELDAÑO, S.R. y R. FERRERA-CERRATO.** 1981. Efecto de la inoculación de *Rhizobium phaseoli* en el rendimiento de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en el Valle de México. Resúmenes Seminario Fijación Biológica de Nitrógeno. México.
- CASAS-CAMPILLO, C.** 1943. El bacteriófago de *Rhizobium meliloti* en suelos de México. Bol. Direc. Agric. 3: 3-36.
- CASAS-CAMPILLO, C.** 1947. Presencia en el suelo de sustancias inhibitoras del crecimiento de *Rhizobium*. An. Esc. Nac. Ciencias Biológicas. 4: 339-353.
- CASAS-CAMPILLO, C.** 1947. Bacterias aeróbicas esporuladas con propiedades antagónicas para *Rhizobium*. Ciencia 8: 108. México.
- CASAS-CAMPILLO, C.** 1947. Efecto antibiótico para *Rhizobium* de una fracción orgánica del suelo. Ciencia 8: 168-171. México.
- CASAS-CAMPILLO, C. y D. GUERRERO.** 1948. Inactivación del bacteriófago de *Rhizobium meliloti* para bacterias aeróbicas esporuladas. Ciencia 8: 252-257. México.
- CORDOVA, V.R.** 1985. Evaluación de la turba nacional como soporte para inoculantes de leguminosas con cepas de *Rhizobium japonicum*. Tesis. Facultad de Química. UNAM. México.
- COTA, G.E., F.R. DE LA GARZA y G.R.M. RAMIREZ.** 1985. Selección de cepas de *Rhizobium japonicum* para el Estado de Tamaulipas. Memorias Tercera Reunión sobre Fijación Biológica del Nitrógeno. Facultad de Química. UNAM.
- DURAN, P.A.** 1985. Respuesta a la inoculación con *Rhizobium phaseoli* en la zona central de Veracruz. III Reunión de la Sociedad Nacional de Fijación Biológica de Nitrógeno. Resúmenes. Ed. Rosa María Ramírez Gama y Ma. Guadalupe Tsuzuki Reyes. México.
- FREIRE, J.R.** 1975. Inoculation of soybeans. In: Exploiting the legume-*Rhizobium* symbiosis in tropical agriculture. University of Hawaii, USA.
- GUERRA, G.J.A. y J.M. GARCIA.** 1985. Prueba comparativa de 4 fertilizantes químicos nitrogenados y una cepa específica de *Rhizobium phaseoli* en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Marín, N.L. Tesis Profesional. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- HERNANDEZ, P.S. y N.M. RUIZ.** 1987. Evaluación del comportamiento de cepas de *Azospirillum* en turba. Tesis. Universidad Nacional Autónoma de México.
- HERRERA, M.J., U.H. CHIRINOS y G.R.M. RAMIREZ.** 1987. Evaluación de cepas comerciales y experimentales de *Bradyrhizobium japonicum* sobre el rendimiento de dos cultivares de *Glycine max.* L. Memorias y resúmenes. 1er. Congreso Nacional de la Fijación Biológica del Nitrógeno. México. SONAFIBIN. 25-27 Feb. INIREB, Xalapa, Ver., México.
- MARINI, Z.L.** 1986. Respuesta del frijol (*Phaseolus vulgaris*) a la aplicación de 7 cepas de *Rhizobium phaseoli* y diferentes tratamientos de fertilización. Tesis Profesional. Universidad Veracruzana, Córdoba, Ver.
- LEE, V., B.A. GARCIA y F.E. VILLAREAL.** 1972. Determinación de la fertilización óptima-económica en el cultivo de la soya bajo diferentes sistemas de siembra. Cd. Delicias Chih. In: Centro de Investigaciones Agrícolas del Noroeste. Ed. Fertilización Programa de Suelos. Sección Fertilidad. Resultados de Investigación Agrícola Regional. Ciclos 1972-1977. Chihuahua, México.
- NATHAL, S.A.** 1981. Evaluación de diez cepas de *Rhizobium phaseoli* sobre tres variedades de frijol. Resúmenes. Seminario Fijación Biológica de Nitrógeno. México.

- ORIHUELA, G.J.A., S.R. MARQUEZ BERBER, S.H.F. GARCIA y U.L. SOLANO.** 1985. Evaluación de inoculantes en la variedad soya BM₂. III Reunión sobre Fijación Biológica del Nitrógeno. Resúmenes. Ed. Rosa María Ramírez Gama y Ma. Guadalupe Tsuzuki Reyes, México.
- RODRIGUEZ, L.G.** 1986. Evaluación de siete cepas de *Rhizobium phaseoli* en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Jamapa en el municipio de Acultzingo, Ver. Tesis Profesional. Universidad Veracruzana. Córdoba. Ver.
- ROUGHLEY, R.J.** 1970. The preparation and use of legume seed inoculants. *Plant and Soil* 32: 675-701.
- SANCHEZ-MARROQUIN, A. y C. CASAS-CAMPILLO.** 1944. Aislamiento, incidencia y caracterización del bacteriófago de *Rhizobium phaseoli*. An. Esc. Nac. Ciencias Biológicas. México.
- SAG. SECRETARIA DE AGRICULTURA Y GANADERIA.** 1967. El garbanzo, un cultivo importante en México. Folleto Misceláneo No. 16. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, México.
- SAG. SECRETARIA DE AGRICULTURA Y GANADERIA.** 1972. El cultivo de la lenteja en la región del Bajío. Circular CIAB No. 43. Instituto de Investigaciones Agrícolas. México.
- SAG. SECRETARIA DE AGRICULTURA Y GANADERIA.** 1974. El cultivo del frijol en el altiplano del Estado de Jalisco. Circular CIAB. No. 53. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. México.
- SAG. SECRETARIA DE AGRICULTURA Y GANADERIA.** 1974. El cultivo del frijol en la zona temporalera de Zacatecas. Circular CIANE No. 58. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. México.
- SAG. SECRETARIA DE AGRICULTURA Y GANADERIA.** 1975. Frijol, su cultivo en Chiapas, Circular CIASE No. 44. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. México.
- SARH. SECRETARIA DE AGRICULTURA Y RECURSOS HIDRAULICOS.** 1978. Programas de frijol-maíz. Informe técnico. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro de Investigaciones Agrícolas del Norte Centro. México.
- SARH. SECRETARIA DE AGRICULTURA Y RECURSOS HIDRAULICOS.** 1982. Aportaciones del INIA a la agricultura Mexicana en 1981. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, México, D.F.
- SARH. SECRETARIA DE AGRICULTURA Y RECURSOS HIDRAULICOS.** 1984. Guía para la asistencia agrícola. Área de influencia del Campo Agrícola Experimental Valle del Yaqui. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. México.
- SARH. SECRETARIA DE AGRICULTURA Y RECURSOS HIDRAULICOS.** 1985. Solicitud de registro en el laboratorio de fertilizantes. Dirección General de Normatividad de la Operación Agrícola.
- SARH. SECRETARIA DE AGRICULTURA Y RECURSOS HIDRAULICOS.** 1985. Programa Nacional Agrícola. México.
- SECRETARIA DE FOMENTO.** 1905a. Nitragina. Manera de aumentar las cosechas. Estación Agrícola Central. Circular. México.
- SECRETARIA DE FOMENTO.** 1905b. Preparación de inoculantes. Comisión de Parasitología Agrícola. Circular. México.
- SOMASEGARAN, P.** 1985. Inoculant production broth diluted liquid cultures of *Rhizobium* and autocleaved peat: evaluation of diluents, *Rhizobium* spp, peats, sterility requirements, storage and plant effectiveness. *Appl. Environ. Microbiol.* 50: 398-405.

TRUJILLO, G.G. 1975. El contenido protéico y la inoculación de la soya en la región de Chilpancingo, Gro. Tesis Profesional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. IPN.

TRUJILLO, G.G. 1981. Comportamiento de una turba nacional utilizada como soporte para inoculantes de leguminosas. Resúmenes 1er. Seminario Fijación Biológica del Nitrógeno. México.

