

**ESTIMACION DE BACTERIAS HETEROTROFICAS
DEL SUELO EN LA ASOCIACION FRIJOL-MAIZ
(Phaseolus vulgaris L. - Zea mays L.)
EN DERRAMADERO, SALTILLO, COAHUILA.**

ZOLA PATRICIA JAIME SALINAS

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
MAESTRO EN CIENCIAS EN SUELOS**



**Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro**

PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenavista, Saltillo, Coah.

Diciembre de 1988.

Tesis elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial para obtener al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN SUELOS

COMITE PARTICULAR

Asesor principal:



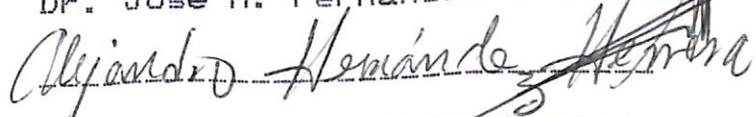
M.C. Mercedes de la Garza Curcho.

Asesor:

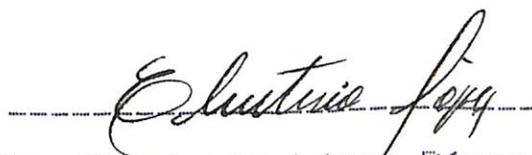


Dr. José M. Fernández Brondo.

Asesor:



M.C. Alejandro Hernández Herrera.



Dr. Eleuterio López Pérez.

Subdirector de Asuntos de Postgrado

Universidad Autónoma Agraria
"ANTONIO NARRO"



BIBLIOTECA

Buenavista, Saltillo, Coahuila. Diciembre de 1988.

DEDICATORIA

*A DIOS, POR SUPUESTO;
A LA MEMORIA DE MIS PADRES,
Y EN ESPECIAL A MIS
PEQUEÑOS Y GRANDES AMORES*

AGRADECIMIENTOS

*A TODAS Y CADA UNA DE LAS
PERSONAS E INSTITUCIONES QUE
COLABORARON EN LA REALIZACION DE
ESTE TRABAJO
GRACIAS!*

*EL RESULTADO CONSEGUIDO NO ME
PRODUCE UNA SATISFACCION ABSOLUTA,
PUES ELLO INDICARIA UNA FALTA
DE AUTOCRITICA, PERO SI UN
LEGITIMO ORGULLO.*

COMPENDIO

Estimaciones de bacterias heterotróficas del suelo en la asociación frijol - maíz (Phaseolus vulgaris L - Zea mays L.) en Derramadero, Saltillo, Coahuila.

por

Zoila Patricia Jaime Salinas

MAESTRIA

SUELOS

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO COAHUILA. DICIEMBRE 1988

M.C. MERCEDES DE LA GARZA CURCHO. Asesor

Palabras claves: Inoculación, Fertilización, Biodegradado,
Frijol, Maíz, Rhizobium, Azospirillum,
Estimaciones.

El nitrógeno está considerado como uno de los elementos esenciales para la producción de cualquier cultivo, siendo las fuentes más importantes de este nutrimento los fertilizantes químicos, cuyos costos se han incrementado de un modo alarmante, en los últimos años debido a la crisis energética, en una proporción de un 1171.75 por ciento para el sulfato de amonio y un 765.86 por ciento para la urea. Esto ha ocasionado una disminución

en el uso de estos materiales en la agricultura, lo cual ha originado la búsqueda de otras alternativas más accesibles. Considerando lo anteriormente expuesto se estableció un experimento en Derramadero, Saltillo, Coahuila, con el objeto de evaluar el efecto de la inoculación de cepas de rhizobia, fertilización química y uso del biodegradado líquido obtenido de la fermentación anaeróbica del estiércol de bovino, sobre la población bacteriana heterotrófica del suelo, componentes de rendimiento, rendimiento y su redituabilidad económica en el sistema de asociación frijol - maíz.

El Cañón de Derramadero es una zona de precipitación irregular en cuanto a cantidad y época, con heladas de noviembre a febrero; clima seco, semi-cálido y extremoso. El suelo con el que se trabajó es propio para cualquier tipo de cultivo, clasificado como franco - arcillosa, medianamente alcalino, mediano en contenido de materia orgánica y de nitrógeno total, medianamente pobre en fósforo, muy rico en potasio y sin problemas de salinidad.

El diseño experimental utilizado fué bloques al azar con cuatro repeticiones. Se evaluaron doce tratamientos con la Variedad de frijol Pinto Americano consistentes en: los fertilizados químicamente 40-40-0 y 0-40-0; el fertilizante biodegradado (FB) con 250 l/ha; FB + 0-40; los inoculados en las épocas de siembra y plántula con las cepas de Rhizobium phaseoli resistentes a estreptomycin que fueron C-4, N-3 y C-4+N-3 y fertilizados además con su respectiva dosis de FB + 0-40; el inoculado solamente con C-4+N-3 y el testigo.

Con la especie de maíz Lucio Blanco (AN-361) los tratamientos fueron 9: los fertilizados químicamente 160-80-0 y 0-80-0; el FB (750 l/ha); FB+0-80; los

inoculados a la semilla con las cepas de Azospirillum sp ; A. lipoferum, y, A. brasilense y la mezcla de las tres cepas con sus respectivas dosis de FB+O-80; y el testigo.

Durante un año se realizaron estimaciones bacterianas al suelo, en muestras que fueron tomadas previas a la siembra y durante el desarrollo de ambas especies a 0.10 m de distancia del pie de las plantas y cultivo, obteniéndose un efecto negativo con la aplicación de cualquier tipo de fertilizantes sobre la población bacteriana heterotrófica.

De los componentes de rendimiento, sólo el peso de las 100 semillas de frijol fué estadísticamente significativo, lo cual se debió al efecto de la aplicación de fertilizante biodegradado. Sin embargo, el incremento en el rendimiento no detectó diferencia. El cultivo de maíz no fué evaluado debido a una helada temprana que aconteció en la etapa de llenado de grano causándole daños irreversibles.

Económicamente los fertilizantes aplicados no aumentaron la producción al nivel que los hicieran redituables, sólo cuatro de doce tratamientos obtuvieron ganancias mínimas.

ABSTRACT

Bacterial heterotrophic estimations of soil in the bean - maize imbrication (Phaseolus vulgaris L. - Zea mays L.) in Derramadero, Saltillo, Coahuila, Mexico.

por

Zoila Patricia Jaime Salinas

MASTER

SOILS

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO COAHUILA. Diciembre 1988

M.C. MERCEDES DE LA GARZA CURCHO Asesor

Key words: Inoculation, Fertilization, Biodegradated manure, Bean, Maize, Rhizobium, Azospirillum, Estimation.

Nitrogen is considered one of the essential elements in the production of any crop. The most important sources of this nutrient are chemical fertilizers. However, their cost has been increased in an alarming manner in the last few years due to the energetic crisis. In the past three years there has been an increase in a high proportion, 1171.75 percent for ammonium sulphate, and 765.86 percent for urea. Therefore, this has diminished their use in agriculture and has intensified the search for other materials and technics which might produce more

accessible alternatives. For these reasons, an experiment was carried out in Derramadero, Saltillo, Coahuila, México to make the following evaluations: 1st. The effect inoculating rhizobia strains to beans and Azospirillum to maize; 2nd. To compare the use of chemical fertilizers vs. liquid biofertilizer obtained from anaerobic fermentation manure, both on heterotrophic bacterial population of soil. 3rd. To determine yield components and general production and 4th. To establish the economical profit in the bean-maize imbrication system.

Derramadero Canyon is an irregular pluvial precipitation zone, if it is considered in relation to quantity and freezing seasons from November to February. It has a dry climate, semi-warm and extreme. The soil in which the experiment was placed is suitable for any type of crop. It is classified clay loam texture, moderately alkaline, middle in organic and total nitrogen content, moderately poor in phosphorous, very rich in potassium and without salinity problems.

Experimental design was random blocks with four replications. Twelve treatments with Phaseolus vulgaris Var. American Pinto were evaluated; the treatments were: chemically fertilized 40-40-0 and 0-40-0; biodegraded fertilizer (FB) 250 l/ha; and other with FB plus 0-40-0; Inoculation during sowing and seedling stages with Rhizobium phaseoli estreptomycin resistant strain, labelled as C4 and N3 and a mixture of these C4+N3, besides all of them received FB+0-40-0; inoculated with C4+N3 rhizobia strains in seedling stage; and control.

The genotype Lucio Blanco (AN-361) maize was used in nine treatments: chemically fertilized 160-80-0 and 0-80-0; the FB 750 l/ha; the FB+0-80-0; the inoculated only in seed with Azospirillum sp., A. lipoferum, A. brasilense and the mixture of three strains with their corresponding doses of FB+0-80-0 and the last treatment as control was used.

Bacterial heterotrophic estimations of soil were made during a year. The samples were taken previous sowing and during the development of both cultures at 0.10 m of distance from the foot of the plant and from uncultivated areas. A negative effect on the heterotrophic bacterial population was obtained when any fertilizer was used.

With respect to yield components, only the weight of a hundred bean seeds was statistically significant in the treatment with biodegraded fertilizer. However, the increase in yield did not detect any difference. Unfortunately, the yield of maize crop was not evaluated because an early freezing, which occurred in the full grain stage, caused an irreversible injury.

From an economical point of view, the applications of fertilizers did not increase the production. Only four of the twelve treatments gave minimal profits.

INDICE DE CONTENIDO

	Página
INDICE DE CUADROS.	xiii
INDICE DE FIGURAS.	xvi
INDICE DE GRAFICAS	xvii
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS.	2
HIPOTESIS.	2
REVISION DE LITERATURA	3
ASOCIACION DE CULTIVOS	3
ANAEROBIOSIS DEL ESTIERCOL DE BOVINOS.	4
FIJACION DE NITROGENO ATMOSFERICO.	7
COMPONENTES DE RENDIMIENTO	10
MATERIALES Y METODOS	13
LOCALIZACION DEL SITIO EXPERIMENTAL.	13
CARACTERISTICAS DEL SITIO EXPERIMENTAL	13
CLIMA.	13
SUELO.	16
AGUA DE RIEGO.	16
TRATAMIENTOS	16
DISEÑO EXPERIMENTAL.	22
PREPARACION DEL INOCULANTE	26
<u>Rhizobium phaseoli</u>	26
<u>Azospirillum</u>	27
PREPARACION DEL BIOFERTILIZANTE.	29
PRACTICAS CULTURALES.	29
PREPARACION DEL TERRENO	29
MUESTREO DE CAMPO	31
INOCULACION	31
SEMILLA.	31
PLANTULA	32
FERTILIZACION.	32
QUIMICA.	32
BIODEGRADADO LIQUIDO	33

SIEMBRA.	33
DESHIERBES	34
FLAGAS, ENFERMEDADES Y DEFICIENCIAS	34
RIEGOS	35
VARIABLES MEDIDAS.	35
FRIJOL	35
COMPONENTES DE RENDIMIENTO.	36
MAIZ	37
ESTIMACIONES BACTERIANAS	37
TOMA DE MUESTRAS DE SUELO	38
PREPARACION DEL MEDIO DE CULTIVO	38
ESTERILIZACION DEL MATERIAL.	40
TECNICA DE ESTIMACIONES.	40
CONTEO DE COLONIAS	43
RESULTADOS	44
ESTIMACIONES BACTERIANAS	44
ANALISIS FISICO-QUIMICO DEL SUELO.	60
NITROGENO TOTAL (%).	64
FOSFORO ASIMILABLE (kg/ha)	64
pH	64
CULTIVO DE FRIJOL.	65
NUMERO DE NODULOS.	65
ALTURA DE PLANTA	66
MATERIA SECA	68
COMPONENTES DEL RENDIMIENTO.	70
ANALISIS ECONOMICO	74
CULTIVO DE MAIZ.	76
DIAMETRO DE CAÑA	76
MATERIA SECA	78
COSECHA.	78
DISCUSION.	80
CONCLUSIONES ✓	88
SUGERENCIAS. ✓	90
LITERATURA CITADA. ✓	91
APENDICE	101

INDICE DE CUADROS

		Página
CUADRO 1	Distribución de la temperatura y precipitación en la región de Derramadero, Saltillo, Coahuila. Durante el Ciclo de estudio 1986-1987.	15
CUADRO 2	Análisis del agua de riego del Ejido Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera - Verano 1986.	17
CUADRO 3	Tratamientos aplicados al cultivo de frijol, variedad Pinto Americano. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera - Verano 1986	19
CUADRO 4	Tratamientos aplicados al cultivo de maíz, variedad Lucio Blanco (AN-361). Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Verano - Otoño 1986.	21
CUADRO 5	Población bacteriana de cepas mutantes de <u>Rhizobium phaseoli</u> resistente a la estreptomycin al momento de ser inoculado el frijol, (semilla y plántula). Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera - Verano 1986.	28
CUADRO 6	Población bacteriana de cepas de <u>Azospirillum</u> al momento de ser inoculada la semilla de maíz Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Verano - Otoño 1986	30

CUADRO 7	Composición del medio de cultivo propuesto por Thorton (1957), utilizado en las estimaciones de bacterias heterotróficas del suelo.	39
CUADRO 8	Diluciones requeridas para estimar las poblaciones bacterianas heterotróficas del suelo por el método IMSS	42
CUADRO 9	Concentración de datos de las estimaciones bacterianas realizadas en los doce tratamientos estudiados durante un año en Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986- 1987	45
CUADRO 10	Características Físico - Químicas del suelo. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera - Verano 1986.	62
CUADRO 11	Resultados de los análisis químicos del suelo en los diversos muestreos realizados durante el desarrollo de los cultivos asociados de frijol - maíz y sin cultivo en Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987.	63
CUADRO 12	Media de número de nódulos por planta de 4 muestreos realizados en diferentes etapas del cultivo de frijol Pinto Americano. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera - Verano 1986.	67
CUADRO 13	Media de altura de planta de 4 muestreos realizados en diferentes etapas del cultivo de frijol Pinto Americano en Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera - Verano 1986	69
CUADRO 14	Media de peso de materia seca por planta en 4 muestreos realizados en diferentes etapas del cultivo de frijol Pinto Americano en Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera - Verano 1986.	71

CUADRO 15	Análisis de los componentes de rendimiento de frijol Pinto Americano. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera - Verano 1986	72
CUADRO 16	Costos de producción de los tratamientos evaluados en el experimento de estimaciones bacterianas en Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera - Verano 1986. . . .	75
CUADRO 17	Media del diámetro de la caña (mm) en los muestreos realizados en diferentes etapas del cultivo de maíz Lucio Blanco (AN-361). Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Verano - Otoño 1986	77
CUADRO 18	Peso de materia seca por planta (g), en los muestreos realizados en diferentes etapas del cultivo de maíz Lucio Blanco (AN-361). Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Verano - Otoño 1986	79
CUADRO A2	Análisis del fertilizante líquido proveniente de la fermentación anaeróbica del estiércol de bovino. Martínez 1982.	103

INDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 Localización del sitio experimental	14
FIGURA 2 Distribución de los tratamientos para el cultivo de frijol var. Pinto Americano	23
FIGURA 3 Distribución de los tratamientos para el cultivo de maíz var. Lucio Blanco (AN-361)	24
FIGURA 4 Arreglo y dimensiones de la parcela experimental para las dos especies en estudio.	25
FIGURA A1 Descripción cronológica del desarrollo del experimento de estimaciones bacterianas	102

INDICE DE GRAFICAS

	Página
GRAFICA 1	Climograma de Gausson del área de estudio. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987. 47
GRAFICA 2	Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas del testigo y el tratamiento fertilizado químicamente con nitrógeno y fósforo. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987. 48
GRAFICA 3	Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas del testigo y el tratamiento fertilizado con biofertilizante. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987. . . 50
GRAFICA 4	Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas del testigo y el tratamiento fertilizado con fósforo. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 -1987 51
GRAFICA 5	Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas del testigo y el tratamiento fertilizado con sus respectivas dosis de fósforo y biofertilizante. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987. . . 53

GRAFICA 6	Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas al aplicar biofertilizante y/o fósforo. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987	54
GRAFICA 7	Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas al aplicar fósforo y/o biofertilizante. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987	55
GRAFICA 8	Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas al aplicar fósforo y biofertilizante solos. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987.	57
GRAFICA 9	Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas del testigo y los tratamientos inoculados en semilla con <u>Rhizobium</u> y <u>Azospirillum</u> . Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987.	58
GRAFICA 10	Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas del testigo y los tratamientos fertilizados e inoculados en plántula con <u>Rhizobium</u> . Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987.	59
GRAFICA 11	Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas del testigo y los tratamientos fertilizados e inoculados con la mezcla de las cepas de <u>Rhizobium</u> y <u>Azospirillum</u> . Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987	61

GRAFICA A3 Costo de dos de los fertilizantes
nitrogenados químicos más importantes por
su consumo a nivel nacional. 104

INTRODUCCION

El costo de los fertilizantes a aumentado de una manera alarmante debido a la crisis energética. En los primeros cinco años de esta década el Sulfato de Amonio aumentó un 464.65 por ciento y la Urea un 578.49 por ciento, y en los últimos tres años el incremento se disparó en 1171.75 por ciento y 765.86 por ciento respectivamente, Esto ha despertado el interés mundial para disminuir la dependencia de los cultivos a los fertilizantes químicos.

Por otro lado, también se busca una mejor aprovechabilidad del recurso suelo, aumentando la producción por superficie, principalmente de los granos básicos como son frijol y maíz los cuales forman parte de nuestra dieta alimenticia.

Tomando en cuenta lo anterior, en este trabajo se evalúan algunas alternativas de solución; primero, otras fuentes que proporcionen los nutrimentos necesarios, por ejemplo el fertilizante biodegradado anaeróbico líquido de bovino, los inóculos de Rhizobium phaseoli para frijol y Azospirillum para maíz, teniendo como punto de comparación las dosis de fertilizante químico recomendada para cada especie y el testigo que coincide con lo realizado por el agricultor. Y la segunda, un uso mayor del suelo utilizando

el sistema de asociación de cultivos frijol - maíz. En base a esto se plantearon los siguientes objetivos e hipótesis.

OBJETIVOS

1. Evaluar el efecto de la inoculación y fertilización química y biodegradado anaeróbico líquido sobre la sobrevivencia de las bacterias heterotróficas del suelo.
2. Evaluar económicamente el inoculante y los fertilizantes biodegradado y químico .
3. Determinar el efecto de los tratamientos sobre el rendimiento y sus componentes.
4. Evaluar el sistema de asociación frijol-maíz como una alternativa para el aprovechamiento del recurso suelo.

HIPOTESIS

1. Las bacterias introducidas tienen mayor efectividad para nodular que las cepas nativas.
2. El fertilizante biodegradado anaeróbico líquido es más económico que el químico.
3. El peso de la semilla aumenta utilizando cepas de rhizobia y fertilizante biodegradado anaeróbico líquido.
4. La asociación frijol - maíz, incrementa la población bacteriana heterotrófica del suelo.

REVISION DE LITERATURA

Asociación de Cultivos

Las áreas abiertas al cultivo cada vez son más insuficientes para satisfacer la demanda de alimentos. Este fenómeno no sólo es a nivel nacional sino mundial, por lo que se está prestando una mayor atención a la producción por superficie a través de asociaciones, relevos e intercalados de cultivos, principalmente frijol - maíz (Lépiz 1974). Estas prácticas, realizadas desde épocas precortesianas se han copiado de la naturaleza haciéndoles modificaciones que resulten ventajosas desde el punto de vista agrícola.

Platero (1975) consideró como asociación de cultivos cuando 2 o más especies vegetales se desarrollan en el mismo suelo, coincidiendo en todo o en parte de su ciclo vegetativo, así como en los requerimientos climáticos, bióticos y edáficos, desde la germinación hasta la cosecha de las especies.

En el lapso de 1968 a 1973 Lépiz, (1974) realizó una serie de ensayos, en los cuales asoció frijol con maíz bajo diferentes densidades de siembra y dosis de fertilización concluyendo que la ganancia combinada de ambos cultivos en asociación supera sistemáticamente a la

obtenida al sembrar frijol o maíz sólo. Estos datos fueron corroborados por Pérez (1975) y Campos (1980) en el estado de Jalisco; Beracoechea (1977) en Puebla, y Vidal (1980) en Nayarit. En 1978 Lépiz comparó los sistemas de siembra asociados e intercalados con los monocultivos y determinó que la mayor producción económica se obtuvo con la asociación. El segundo lugar lo ocuparon los intercalados, y finalmente los monocultivos.

Sin embargo, no todos los resultados han sido tan halagueños, Solórzano reportó en 1977 que bajo condiciones de temporal en el estado de Aguascalientes, las producciones en kilogramos por hectárea y pesos por hectárea de maíz - frijol asociados no superaron en ninguno de los casos a las siembras de maíz y frijol sólo.

Anaerobiosis del Estiércol de Bovinos

El biofertilizante es otro aspecto importante en este estudio y es por esto que a continuación se explica en que consiste, qué contiene y las experiencias que se han tenido con el producto en la zona.

Baquedano et al, (1979) describieron a la "Digestión anaeróbica" como el proceso de estabilización de la materia orgánica en un medio sin oxígeno, principalmente a partir de dos grupos de bacterias; acidificantes y metanógenas.

Dicho proceso se puede separar en tres etapas.

- a) Licuefacción de la materia orgánica.
- b) Formación de ácidos alifáticos.
- c) Formación de gas metano.

Dichos autores mencionaron además que durante el proceso se producen los ácidos acético, propiónico y butírico los cuales pasan a ser sustrato de las bacterias metanógenas, otra función del grupo acidificante es el de eliminar el oxígeno del medio (interior del digestor) condición necesaria para la vida de dichas bacterias que son anaeróbicas obligadas. Asimismo, estas bacterias eliminan los desechos ácidos y evitan que el medio se torne muy ácido e impida la sobrevivencia del grupo de bacterias acidificantes y la producción de metano ya que sólo es posible si existe equilibrio entre las dos poblaciones.

Las principales sustancias que se acumulan en ausencia de oxígeno son: bióxido de carbono, hidrógeno, etanol y ácidos acético, fórmico, succínico, butírico y láctico lo cual es característico de la ruptura anaeróbica de la molécula de celulosa (Alexander, 1980).

Los residuos de la fermentación contienen nutrimentos mayores (N, P, K) y menores, vitaminas, hormonas y materia orgánica para el crecimiento vegetal (Arias, 1978), además ácidos orgánicos alifáticos (acético, propiónico y butírico), en concentraciones apreciables. Estos últimos compuestos, por ser fitotóxicos

y ocasionar quemaduras, deben ser diluidos antes de que el biofertilizante sea aplicado al suelo (Lynch, 1979).

Entre las ventajas que posee el biofertilizante mencionado podemos enumerar (Pichardo, 1980).

- a) Mayor cantidad de nitrógeno que la materia prima original, en base a materia seca.
- b) Mejoramiento de los suelos (residuos orgánicos).
- c) No posee bacterias patógenas o semillas de malas hierbas, ya que son eliminadas en el proceso de degradación.
- d) No posee malos olores como el estiércol fresco
- e) La fermentación anaeróbica del estiércol de bovino tarda aproximadamente de 25 a 30 días durante el verano y poco más de un mes en el otoño.

Diversas evaluaciones del biofertilizante, realizados en la UAAAN arrojaron los siguientes resultados:

- a) la dilución adecuada del fertilizante líquido fue de 1:75 para el cultivo de soya, bajo condiciones de invernadero (Martínez, 1982); b) con dos aplicaciones de 125 l/ha, una al momento de la siembra y otra después de 30 días, los rendimientos de frijol en suelos calcáreos fueron 352.5 kg/ha mayores que el testigo (Abencerraje, 1984); c) 300 l/ha es la dosis recomendada por Mendoza (1985), para frijol ejotero; d) la concentración óptima para Chile, en

invernadero, fué de 1:25 (Beltrán, 1986); y, e) 750 l/ha es la dosis adecuada para maíz, aplicado parcialmente a la siembra y después de 30 días (Mendoza, 1986).

Fijación de Nitrógeno Atmosférico

Ha pasado casi un siglo desde que Hellriegel y Wilfarth demostraron que en los nódulos de las raíces de las leguminosas tiene lugar la fijación biológica del nitrógeno. Actualmente, ese proceso bioquímico está considerado como el segundo en importancia después de la fotosíntesis (Whyte et al, 1955).

Aunque la asociación simbiótica entre las leguminosas y el Rhizobium es el sistema más desarrollado y más sofisticado para la fijación de nitrógeno atmosférico, no es el único, otro tipo de fijación biológica de nitrógeno se lleva a cabo por bacterias que crecen en la rizósfera de las raíces de ciertos pastos y gramíneas (Eulow y Döbereiner en 1975; Day y Döbereiner (1976) y Döbereiner et al, (1976). Estas bacterias pertenecen al género Azospirillum (Tarrand et al, 1978 y Bergey, 1984) y no forman nódulos sino que se desarrollan dentro de la raíz y/o sobre su superficie (Döbereiner 1977a y Monzon 1983).

Dommergues y Mangenot (1970) observaron que en diversas gramíneas el Azospirillum prefiere la zona de alargamiento de la raíz y de las raíces secundarias, explicándose que ésto se debe a la intensa actividad

metabólica y elevada secreción de exudados que caracteriza a esos sitios. Según Monzon (1983) en raíces de trigo las bacterias entran por esos mismos sitios y luego pasan al tejido cortical para posteriormente ubicarse en el xilema, cuando la nitrogenasa empieza su actividad.

Algo similar sucede cuando se presenta la asociación leguminosa - Rhizobium, con la diferencia de que después de penetrar las bacterias al sistema radical del hospedero, empiezan a producir ácido indolacético (AIA), entre otras sustancias. Dichas sustancias causan enrizamiento y deformación de los pelos radicales, formando un hilo de infección que después se multiplica hasta formar el nódulo (Hardy, 1971).

La especificidad del binomio leguminosa-Rhizobium es muy marcada, ya que cada especie de este género de bacterias sólo puede asociarse generalmente con una especie particular de leguminosa (Moreno, 1982). En contraste con esta situación se encontraron 61 cepas de Azospirillum lipoferum en raíces de sorgo, pastos, maíz y trigo (Tarrand et al, 1978).

Las bacterias del género Rhizobium pueden persistir en los suelos por varios años, aún en ausencia de la planta hospedera. Sin embargo, rara vez se les encuentra en suelos que no hayan sido cultivados con alguna leguminosa. Estas bacterias se mueren en el suelo lentamente y son distribuidas por las semillas, por el

suelo y por las aguas de riego (Waksman, 1963). Döbereiner (1976 y 1977a), encontró bacterias de Azospirillum lipoferum en más del 50 por ciento de los países tropicales.

Según Graham y Hubbell (1974) la simbiosis leguminosa - rhizobia es la mayor fuente de nitrógeno atmosférico fijado. Date (1973), sugirió una fijación media de entre 100 y 200 kg/ha/año con leguminosas forrajeras; ésto sería equivalente a la aplicación de más de 500 kg de sulfato de amonio por hectárea, por año. Döbereiner (1976 y 1977b), encontró una ganancia de 30 a 40 kg de nitrógeno por hectárea en cultivos inoculados con Azospirillum lipoferum, equivalente a un potencial de fijación de 1 kg de nitrógeno por hectárea por día (Döbereiner y Day, 1974).

En un estudio realizado por Albrecht et al, (1981), con diferentes líneas de Zea mays y otras especies inoculadas con Azospirillum brasilense, se muestra un incremento en el peso de la planta y porcentaje de nitrógeno, aumentando de 14 a 15 kg de nitrógeno por hectárea. Janseen (1972), obtuvo resultados muy similares al trabajar con Phaseolus vulgaris L., encontrando un total de 9 a 12 kg/ha de nitrógeno atmosférico fijado durante el ciclo.

Para intervenir en el proceso de fijación de nitrógeno es importante tomar en cuenta una serie de factores, que van desde el manejo del inoculante en el

laboratorio hasta la inoculación y siembra de la semilla (Graham 1977 y Moreno 1982), sin olvidar que el suelo donde se pretende inocular también posee cepas nativas que competirán con las bacterias introducidas. Graham y Halliday (1977), sugirieron que los experimentos sobre fijación de nitrógeno se establezcan en terrenos que no hayan estado ocupados por leguminosas por lo menos durante 5 años anteriores al inicio del experimento para asegurar que la respuesta que presentan los materiales sea debida al efecto de las cepas introducidas. El acatamiento de esta sugerencia fué prácticamente imposible en nuestro estudio, ya que se trabajó en una zona agrícola sometida a explotación intensiva mediante la siembra de cultivos de frijol y maíz

Según Freire (1976), un inoculante de buena calidad debe proporcionar 10^5 a 10^6 células viables por semilla, se requiere un mínimo de 2×10^5 rhizobias por semilla para una nodulación eficiente bajo condiciones moderadamente buenas, y se necesita mayor cantidad de inóculo cuando las condiciones son desfavorables.

Componentes de Rendimiento

Los componentes de rendimiento resultan de la interacción de varios procesos de crecimiento y desarrollo de la planta. El máximo rendimiento se obtiene cuando los factores ambientales, tanto bióticos (competencia) como abióticos (agua, luz, nutrientes), permiten la máxima

expresión de cada uno de los componentes del rendimiento (Nienhuis and Singh, 1986).

En relación con esto, Crothers y Westerman, (1976) mencionaron que se pueden lograr incrementos en el rendimiento mediante un manejo adecuado de la densidad de población, evitando además competencia entre plantas ajenas al cultivo. De acuerdo a estos autores, la densidad óptima es variable según el hábito de crecimiento del cultivo. En relación con esto último, Nienhuis and Singh en 1986, encontraron que el rendimiento se incrementa significativamente de manera curvilínea con el incremento en la densidad de población, tanto en plantas de crecimiento determinado como indeterminado.

El rendimiento de semilla en frijol, expresado en peso seco de semilla por planta, puede considerarse como el producto de tres componentes: número de vainas/planta, número de semillas/planta y peso seco de semilla (Nienhuis and Singh, 1986). Existiendo una alta correlación en el número de vainas y rendimiento. Frousios, (1970) mencionó que al disminuir el espacio entre plantas la producción por planta disminuye, indicándonos que existe aumento en la producción en proporción al aumento en la población de plantas.

Respecto al efecto de las leguminosas sobre los componentes de rendimiento de las gramíneas asociadas Francis, Flor y Prager (1978), citados por Barrera en 1980,

informaron que las disminuciones en la magnitud de los componentes del rendimiento de maíz bajo asociación con frijol de mata y guía, son nulas o de poca cuantía.

MATERIALES Y METODOS

Localización del Sitio Experimental

El trabajo de investigación se inició durante el ciclo Primavera-Verano de 1986 en terrenos del Ejido Derramadero, localizado en la parte sur del Estado de Coahuila, perteneciente al municipio de Saltillo, específicamente en la granja de los ejidatarios. Esta localidad queda comprendida dentro de la región agrícola conocida como "El Cañón de Derramadero". Geográficamente queda a $25^{\circ} 17'$ latitud norte y $101^{\circ} 17'$ longitud oeste respecto al Meridiano de Greenwich con una altitud sobre el nivel del mar de 1770 metros (Figura 1).

Características del Sitio Experimental

Clima.

El Cañón de Derramadero está considerado como una zona de precipitación pluvial irregular en cuanto a cantidad y época, con heladas de Noviembre a Febrero y ocasionalmente algunas tempranas o tardías que causan graves daños a los cultivos de la región (Cuadro 1).

Esta región tiene un clima seco, semi-cálido con invierno muy extremo, con lluvias en verano y sequías breves en esta temporada y escasa precipitación invernal

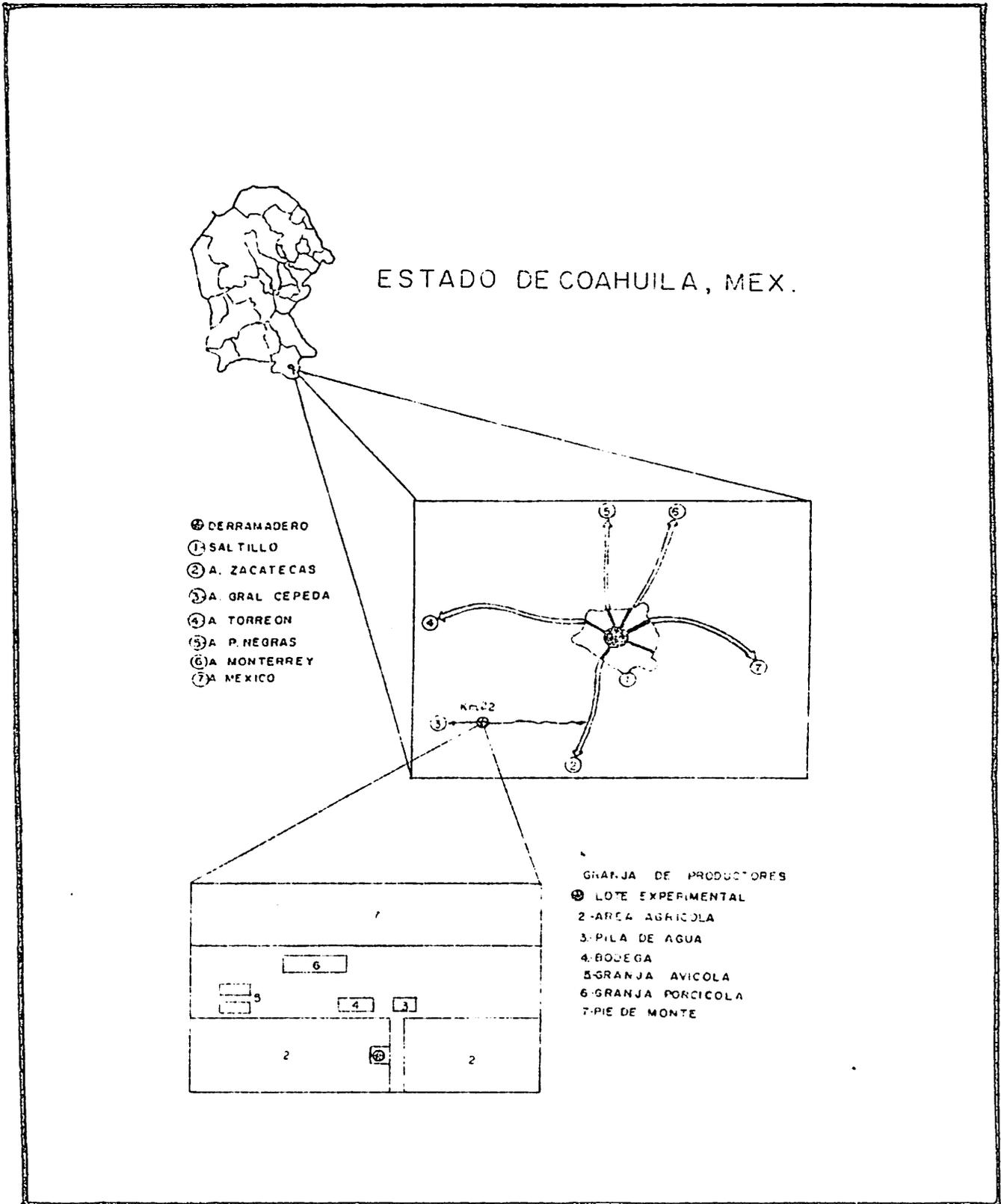


FIGURA 1. Localización del sitio experimental.

CUADRO 1. Distribución de la Temperatura y Precipitación en la región de Derramadero, Saltillo, Coahuila, durante el ciclo de estudio 1986 - 1987.

MESES	TEMPERATURA °C			PRECIPITACION (mm)
	MAXIMA	MINIMA	MEDIA	

1986				
ABRIL	35	5.0	16.9	12.0
MAYO	34	6.0	18.6	17.0
JUNIO	32	12.0	18.7	154.5
JULIO	32	7.0	17.7	111.0
AGOSTO	38	9.0	18.7	105.2
SEPTIEMBRE	31	9.0	15.6	176.7
OCTUBRE	31	-2.0	14.3	11.0
NOVIEMBRE	30	-3.5	13.2	4.3
DICIEMBRE	29	-5.0	10.2	4.6
1987				
ENERO	25	-6.0	9.5	4.0
FEBRERO	25	-5.0	10.7	3.4
MARZO	26	-3.0	11.7	0.0
ABRIL	30	3.0	13.8	3.9
MAYO	36	9.0	18.2	5.7

Datos proporcionados por la estación meteorológica de la Escuela Técnica núm. 12 de Derramadero, Saltillo, Coahuila.

(BSo hw"(e')) según la clasificación de Koppen modificada por García.

Suelo.

Los suelos de las partes bajas son de origen aluvial, con pendientes de 0 a 3 por ciento, lo que provoca una erosión hídrica laminar y posee buen drenaje natural.

Agua de Riego.

El agua de riego que se utiliza en la granja de los ejidatarios es bombeada del subsuelo. En el Cuadro 2 se presentan los resultados de los análisis químicos, según la clasificación del Laboratorio de Salinidad de Estados Unidos. (Diagnóstico y Rehabilitación de Suelos Salinos y Sódicos, 1982).

Tratamientos

En los Cuadros 3 y 4 se muestran los tratamientos para frijol y maíz, respectivamente.

Para el cultivo de frijol los tratamientos a evaluar fueron doce y la variedad que se utilizó fue Pinto Americano, inoculada con cepas de Rhizobium phaseoli resistentes a estreptomycin; el primer tratamiento a considerar fue la fertilización química (N y P) con una dosis de 40 kg/ha de ambos nutrimentos; el segundo consistió en la fertilización fosfatada más aplicación del

CUADRO 2. Análisis del agua de riego del Ejido Derramadero,
Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera-Verano 1986.

DETERMINACION	METODO	VALORES OBTENIDOS
Conductividad Eléctrica (mmhos/cm)	Puente de Wheat- stone	1.057
pH	Potenciómetro	7.88
Carbonatos (meq/l)	Titulación	0.42
Bicarbonatos (meq/l)	Titulación	4.20
Calcio (meq/l)	Titulación	6.00
Magnesio (meq/l)	Titulación	4.00
Cloruros (meq/l)	Titulación	3.60
Sulfatos (meq/l)	Titulación	5.32
Sodio (meq/l)	Titulación	1.73
Potasio (meq/l)	Titulación	0.69
C_s	Altamente salina, no puede usarse en suelos con drenaje deficiente.	
S_1	Bajo en sodio, puede usarse con la mayoría de cultivos, con poca probabilidad de alcanzar niveles peligrosos de sodio intercambiable.	

biofertilizante; al tercero se le aplicó biofertilizante sólo; el cuarto tratamiento fué inoculado con la cepa C-4 en semilla con su respectiva dosis de fertilizante fosfatado y de biofertilizante; el quinto consistió en inocular la semilla con la cepa N-3, su dosis de fosfato y biofertilizante; en el sexto se inoculó la semilla con la mezcla de las cepas C-4 y N-3, se aplicó el fertilizante fosfatado y biofertilizante; el séptimo, octavo y noveno tratamientos fueron iguales a los tres anteriores respectivamente, sólo con la diferencia de que éstos fueron inoculados en plántula; al décimo se le aplicó sólo la fertilización fosfatada; el undécimo sólo fué inoculado con la mezcla de las cepas en plántula y por último el doceavo fué el testigo que además coincide con lo que realiza el agricultor de la región.

Cabe aclarar que en los tratamientos donde se aplicó la fertilización nitrogenada y/o fosfatada, se realizaron al momento de la siembra y en el fondo del surco. La dosis fué de 40 kg/ha para ambos fertilizantes utilizando sulfato de amonio (20.5 por ciento) como fuente de nitrógeno y para fósforo el Superfosfato de Calcio Triple (46 por ciento de $P_2 O_5$). Además, la dosis de biofertilizante fué de 250 l/ha aplicando mitad a la siembra y el resto treinta días después, diluído en el agua de riego.

La segunda especie utilizada fué el maíz variedad Lucio Blanco (AN-361) cuya característica principal es ser precoz, con este material se evaluaron 9 tratamientos que

CUADRO 3 Tratamientos aplicados al cultivo de frijol, variedad Pinto Americano. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera - Verano 1986.

No	N kg/ha	P	FERTILIZANTE BIODEGRADADO l/ha	INOCULANTE+
1	40*	40**	-----	-----
2	0	40	250***	-----
3	0	0	"	-----
4	0	40	"	C-4 (s)++
5	0	40	"	N-3 (s)
6	0	40	"	C-4 + N-3 (s)
7	0	40	"	C-4 (p)+++
8	0	40	"	N-3 (p)
9	0	40	"	C-4 + N-3 (p)
10	0	40	-----	-----
11	0	0	-----	C-4 + N-3 (p)
12	TESTIGO ^			

* Aplicado al momento de la siembra, utilizando como fuente el Sulfato de Amonio.

** Pentóxido de Fósforo utilizando como fuente el Superfosfato de Calcio Triple, aplicado al momento de la siembra.

*** 125 l/ha aplicados al momento de siembra y 125 l/ha 30 días después, diluidos en agua.

+ Cepas de Rhizobium phaseoli resistentes a la estreptomycin (C-4 y N-3).

++ Inóculo aplicado a la semilla al momento de sembrar.

+++ Inóculo aplicado a la plántula 30 días después de sembrado.

^ Sin aplicación de insumos, semejante a lo que hace el agricultor.

consistieron en primer lugar en probar la dosis de fertilización química recomendada para este cultivo la cual es 160-80-0; el segundo tratamiento consistió en fertilizar químicamente con fósforo y aplicar el fertilizante biodegradado; el tercero sólo con biodegradado; al cuarto se le aplicó las dosis de fosfato, biodegradado e inoculación de la semilla con la cepa de Azospirillum sp.; el quinto fué similar al anterior sólo varía en la cepa, la cual fué de Azospirillum lipoferum; al sexto tratamiento se le hizo la aplicación de fósforo más biodegradado y la mezcla de las 3 cepas de Azospirillum (A. sp; A. lipoferum; A. brasilense); sólo fósforo contenía nuestro séptimo tratamiento; en octavo se inoculó con la cepa de Azospirillum brasilense con su correspondiente dosis de fósforo y biodegradado; por último, el noveno fué el testigo que en esta ocasión también coincidió con el del agricultor ya que éste no aplica nada de insumos.

Como nota aclaratoria se menciona que la dosis de 160 kg de nitrógeno se aplicó mitad a la siembra y la otra mitad 30 días después, utilizando sulfato de amonio (20.5 por ciento) y el fósforo se aplicó totalmente al momento de la siembra empleando como fuente el superfosfato de calcio triple (46 por ciento de $P_2 O_5$). Por último, la dosis de biofertilizante que se utilizó fué 750 l/ha aplicando la mitad al momento de la siembra y el resto 30 días después, diluidos en el agua de riego.

CUADRO 4. Tratamientos aplicados al cultivo de maíz variedad Lucio Blanco (AN-361). Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Verano - Otoño 1986.

No	FERTILIZANTE		INOCULANTE+
	N	P	
	kg/ha		
1	160*	80**	-----
2	0	80	750***
3	0	0	"
4	0	80	"
5	0	80	"
6	0	80	"
7	0	80	-----
8	0	80	"
9	TESTIGO ++		-----

* Aplicado mitad a la siembra y el resto 30 días después, utilizando como fuente el Sulfato de Amonio.

** Pentóxido de Fósforo, utilizando como fuente el Superfosfato de Calcio Triple, aplicados al momento de la siembra.

*** Aplicados mitad a la siembra y el resto 30 días después diluidos en agua.

+ Inoculación a la semilla con Azospirillum.

++ Sin aplicación de insumos, semejante a lo realizado por el agricultor.

Diseño Experimental

En ambos experimentos los tratamientos se arreglaron en un diseño de bloques al azar con 4 repeticiones. La distribución de los tratamientos para ambos experimentos se muestran en las Figuras 2 y 3 y el arreglo de la parcela experimental en la Figura 4.

La parcela experimental para el cultivo de frijol constó de 8 surcos de 5 m de largo, separados 0.60 m. Los surcos 1,3,6 y 8 se utilizaron de bordos de competencia; el 2 y 7 se emplearon para los muestreos que se realizaron cada 15 días después de la emergencia y los surcos centrales 4 y 5 se tomaron para evaluar rendimiento y sus componentes dejando 0.50 m de cabecera en ambos extremos.

Para el cultivo de maíz la parcela experimental fué de 6 surcos de 5 m de largo, separados entre sí 0.80 m. Los surcos 1,2,5 y 6 se utilizaron para los muestreos de plántulas y los surcos centrales se dejaron para evaluar el rendimiento y sus componentes.

Las repeticiones estuvieron delimitadas por bordes de contención y entre bloques se dejó un espacio de 1 m para evitar confusión entre tratamientos.

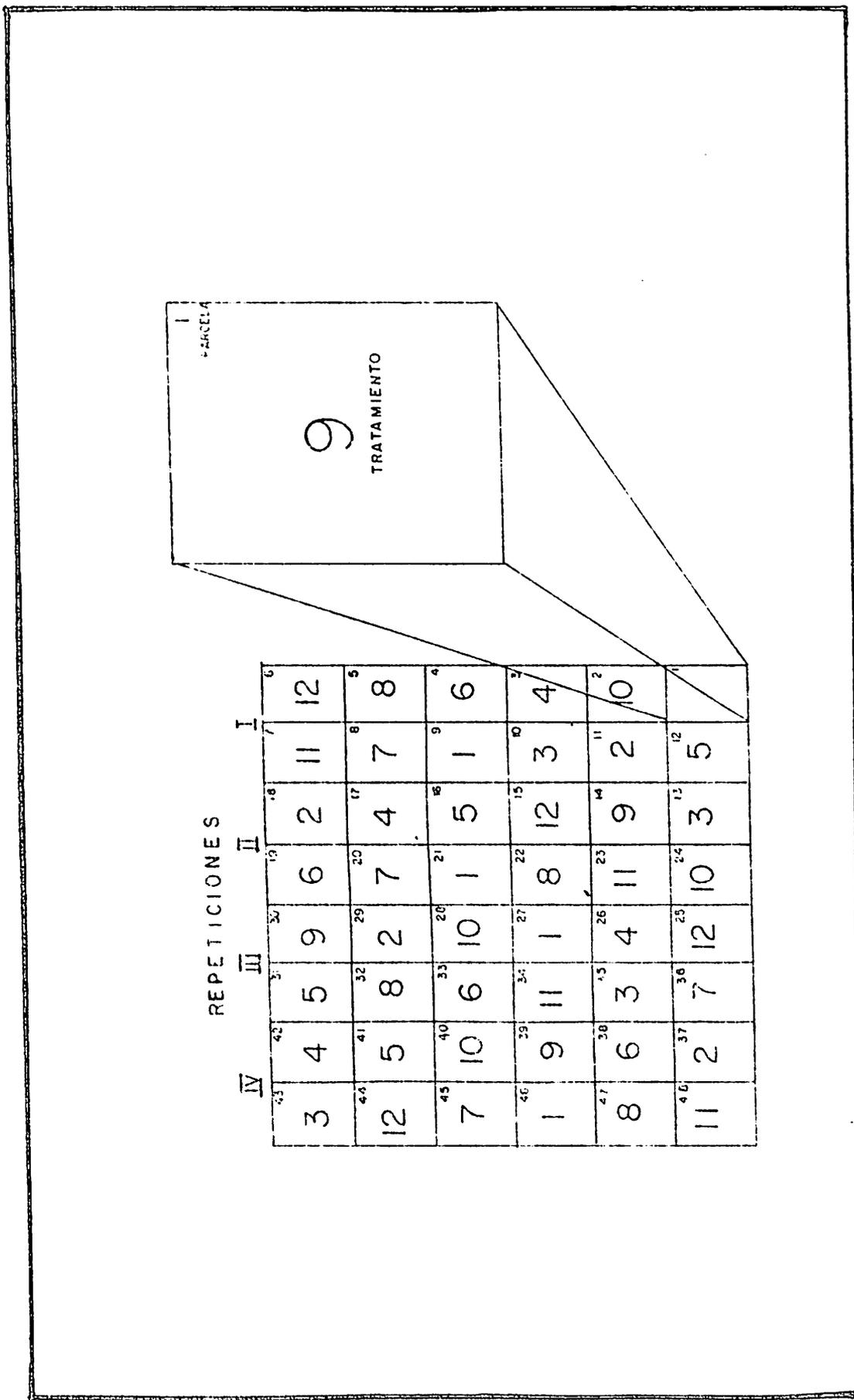


FIGURA 2. Distribución de los tratamientos para el cultivo de frijol var. Pinto Americano.

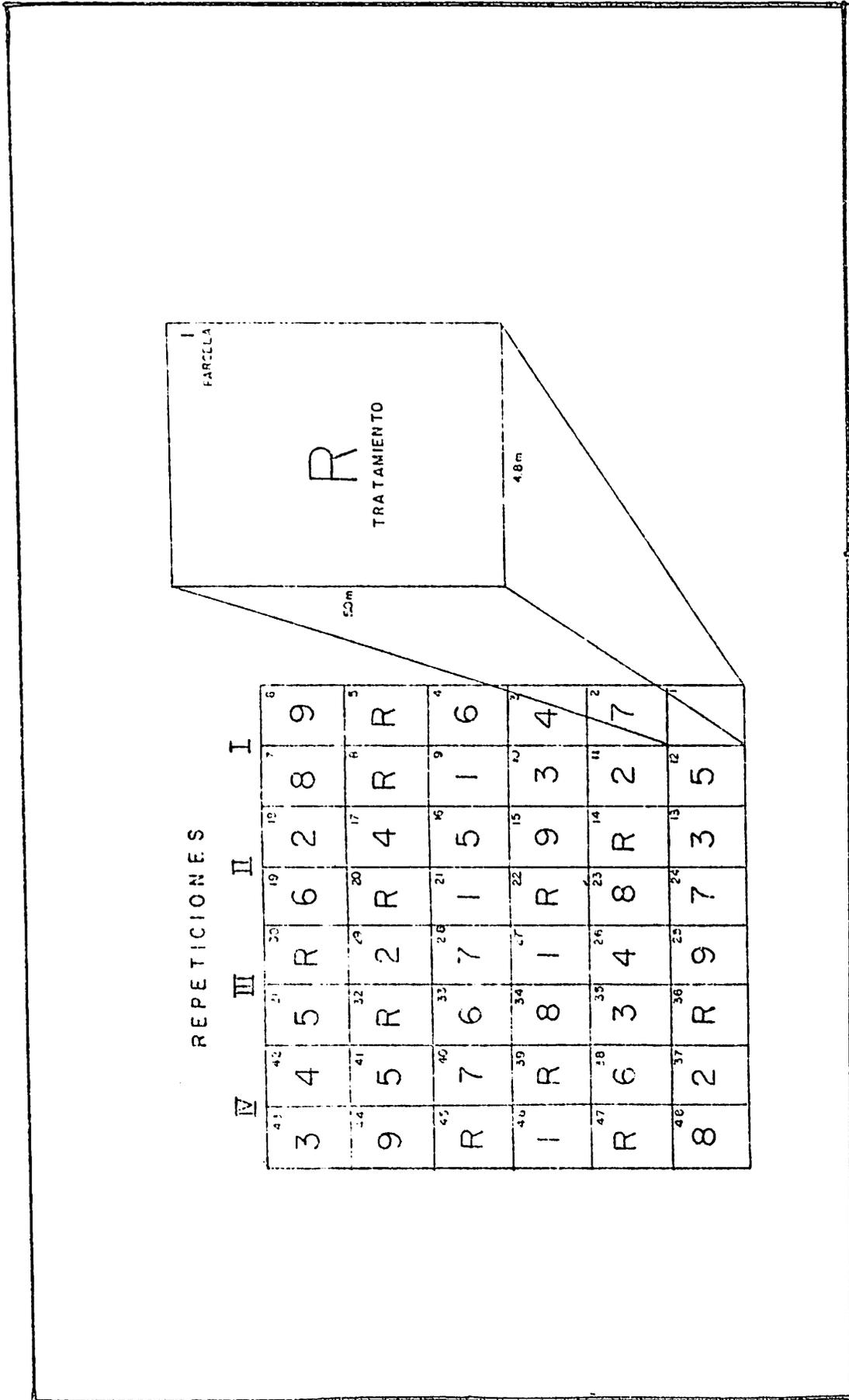


FIGURA 3. Distribución de los tratamientos para el cultivo de maíz var. Lucio Blanco (AN-361).

Preparación del Inoculante

Rhizobium phaseoli.

La primera etapa de este trabajo consistió en preparar el inóculo de Rhizobium phaseoli. Esta etapa se realizó en el laboratorio particular de la M.S. Mercedes de la Garza Curcho.

Se utilizaron las dos mejores cepas mutantes resistentes a la estreptomina según los resultados obtenidos por Peña en 1984. El origen de estas cepas es el siguiente: La cepa N-3 (Narro-3) fué aislada de nódulos de frijol cultivado en el área de influencia de la UAAAN y conservada en medio ELMA*. La cepa C-4 fué proporcionada por la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional y conservada en tubo de ensayo con medio inclinado de ELMA.

Estas cepas se multiplicaron masivamente en cajas de petri que contenían medio ELMA con 150 microgramos (μg) de estreptomina por mililitro. Con hisopos estériles se sembró en la superficie del medio y se incubó durante 96 horas a una temperatura de 32°C . Para cosechar el cultivo bacteriano, se le agregaron 10 ml de agua corriente estéril y con un boliagitador se removió suavemente todo el cultivo que había crecido. Esta cosecha se refrigeró en frascos estériles de 50 ml con tapón de rosca que contenían perlas de vidrio.

-----*

Extracto de Levadura Manitol Agar.

Cinco días antes de inocularse las semillas y plántulas de frijol se realizaron las estimaciones bacterianas por mililitro para conocer la población del inóculo que debía ser aplicada. En plántula se igualó la población bacteriana a 3.4 millones de bacterias por mililitro Cuadro 5.

Azospirillum.

Las cepas que se utilizaron para este trabajo ya habían sido probadas por Mendoza (1986) en la región de Derramadero, Coah. Las cepas de Azospirillum brasilense y A. lipoferum fueron proporcionadas originalmente por la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, mientras que la cepa de Azospirillum sp. fué aislada en un trabajo preliminar realizado en invernadero por la misma autora.

Las cepas se reprodujeron masivamente por separado, en cajas con agar nutritivo, se sembraron en superficie con hisopo estéril, incubándose a una temperatura entre 28 y 30°C en un ambiente microaerofílico durante 72 horas; la cosecha de bacterias fué similar a la realizada con Rhizobium phaseoli.

Después de cosechar se realizó el recuento viable de las 3 cepas de Azospirillum en agar nutritivo, con el objeto de igualar la población bacteriana en el inóculo.

El tiempo de generación de estas bacterias es más corto que las del género Rhizobium y después de un intervalo de 36 horas se hizo un conteo viable por

CUADRO 5. Población bacteriana de cepas mutantes de Rhizobium phaseoli resistente a la estreptomicina al momento de ser inoculado el frijol (semilla y plántula). Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera - Verano 1986.

CEPAS	BACTERIAS* 10^6 ml^{-1}
SEMILLA	
C-4	2.2
N-3	2.8
C-4 + N-3	2.5
PLANTULA	
C-4	4.7
N-3	3.4
C-4 + N-3	3.4

* al momento de la aplicación.

mililitro, ver Cuadro 6. En base a estos datos se realizaron las diluciones con agua de la llave previamente esterilizada con el fin de que el inóculo de las cepas tuviera una misma población (300 millones por mililitro) la cual se usó para inocular el grano de maíz al momento de la siembra.

Preparación del Biofertilizante

El biofertilizante se obtuvo con 3 meses de anticipación a la siembra, siguiendo el procedimiento sugerido por Martínez en 1982.

Por las bajas temperaturas que se presentaron durante los meses de invierno y principios de primavera el digestor se dejó trabajar durante poco más de un mes ; lapso en el cual la digestión terminó. Una vez transcurrido este proceso, se separaron los líquidos de los lodos. A este paso se le llama también "ordeña del digestor".

Los líquidos se guardaron en bidones hermeticamente cerrados en lugares frescos, mientras que los lodos fueron embolsados en plástico negro y enterrados para su posterior utilización.

Prácticas Culturales

Preparación de Terreno.

Previo a la siembra, se chapeo el terreno, se barbechó a una profundidad de 0.40 m y se hicieron dos pasos de rastra cruzada. Posteriormente se levantaron los

CUADRO 6. Población bacteriana de cepas de Azospirillum al momento de ser inoculada la semilla de maíz. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Verano - Otoño 1986.

CEPAS	BACTERIAS* 10 ⁶ ml ⁻¹
<u>Azospirillum brasilense</u>	520
<u>Azospirillum lipoferum</u>	300
<u>Azospirillum</u> sp.	150

* al momento de la aplicación.

bordos de contención de aproximadamente 0.50 m de altura con una distancia entre bordos de 30 m para después surcar a una distancia de 0.60 m entre surcos y 0.20 m de profundidad.

Muestreo de Campo.

Después de la preparación del terreno se delimitó el área experimental y se tomaron 2 muestras de suelo por cada repetición a una profundidad de 0-0.30 m, para conocer las características físico-químicas y estimar la población bacteriana inicial.

Inoculación.

Se realizaron dos maneras de inocular; una a la semilla y otra a la plántula. A continuación, se explica detalladamente las dos técnicas usadas.

Inoculación a la Semilla

En bolsas de plástico se colocó la cantidad de semillas necesarias para sembrar cada una de las parcelas experimentales; 400 semillas para el frijol y 140 para el maíz.

Se agregaron 30 ml de inóculo de Rhizobium y 20 ml de inóculo de Azospirillum por bolsa, para los tratamientos correspondientes del experimento de frijol y maíz respectivamente, (ver Cuadros 3 y 4). Se agitó la semilla en su bolsita para que quedara completamente humedecida con el inóculo y se procedió a la siembra.

Inoculación en Plántula

Este proceso sólo se hizo en frijol, ya que para el maíz, Mendoza (1986), comprobó que era mejor inocular la semilla.

Un mes después de la siembra del frijol, se realizó la inoculación a los tratamientos indicados en el Cuadro 3. Tomándose en cuenta el recuento viable efectuado antes de la inoculación, se igualó la población bacteriana a 3.4 millones por mililitro, utilizando 1 ml de la cepa N-3 y 0.72 ml de la cepa C-4, para hacer la mezcla de inoculantes se tomó la mitad de las cantidades mencionadas, se diluyeron en un litro de agua utilizada para riego y se distribuyeron en el fondo del surco, inmediatamente se procedió a tapar.

Fertilización.

Se utilizaron 2 tipos de fertilizantes: el químico y el biodegradado anaeróbico líquido así como 2 modos de aplicación.

Fertilización Química

Para la fertilización presiembra, el fertilizante nitrogenado y/o fosfatado se colocó en el fondo y a lo largo del surco, cubriéndose con una pequeña capa de suelo para evitar el contacto directo con la semilla.

Para la segunda fertilización nitrogenada, 30 días después de la siembra del maíz, se hizo un pequeño surco

con el azadón a unos 0.10 m de distancia del pie de la planta, y se depositó el fertilizante en el fondo del surco, cubriéndolo con una ligera capa de suelo.

Fertilización con Biodegradado Líquido.

Las dosis de fertilizante biodegradado que se aplicaron fueron recomendadas por Abencerraje (1984) y por Mendoza (1986) para frijol y maíz respectivamente. Para ambas especies la aplicación fué mitad a la siembra y mitad 30 días después.

Se calcularon las cantidades parciales de biofertilizante que se aplicarían por surco y se diluyeron en 3 y 5 litros de agua de riego para la primera y segunda aplicación respectivamente. Mediante la dilución se distribuyó mejor el biofertilizante evitando además quemaduras a la semilla y/o a la plántula.

Siembra.

El 24 de mayo de 1986 se sembró el frijol, la siembra se hizo a chorrillo en el fondo del surco dejando una distancia entre semillas de 0.10 m aproximadamente.

El 23 de julio se sembró el maíz, los surcos de esta especie quedaron intercalados con el frijol marcándose los surcos manualmente con azadón para depositar la semilla en el fondo de los mismos. La distancia entre semillas fué aproximadamente de 0.50 m dejando 2 semillas en cada golpe, (Figura 4 y A1).

Deshierbes.

El primer deshierbe, se realizó manualmente a los 25 días de la siembra del frijol, el segundo deshierbe se hizo un mes después del primero, antes de sembrar el maíz y el tercero se efectuó 30 días después de la siembra de maíz, (Figura A1). Las principales malezas que se presentaron fueron: Quelite (Amaranthus spp) y Coquillo (Cyperus spp).

Plagas, Enfermedades y Deficiencias.

Las plagas que se presentaron en el cultivo de frijol un mes después de la siembra fueron; Chicharrita, (Empoasca spp) y la Doradilla (Diabrotica balteata Le Conte) controladas con una mezcla de insecticidas* asperjados al follaje. El cultivo de maíz fué atacado por el gusano cogollero (Spodoptera frugiperda) a los 30 días de sembrado, esta plaga se controló con 2 aplicaciones foliares de la mezcla anterior, ver Figura A1.

Ambos cultivos estuvieron libres de enfermedades durante todo el ciclo de vida.

Se presentaron deficiencias de fierro en la época de floración del frijol, y en el maíz a los 40 días de sembrado. Para corregirlas, se aplicaron al follaje Quelatos de Fierro (2 kg/ha), ver Figura A1.

-----*
Sevín 80% PH (1 kg/ha) + Malatión 1000E (1 l/ha)

Riegos.

El cultivo de frijol fué completamente de temporal. Sólo se aplicó un riego por gravedad al cultivo de maíz, un mes después de la siembra, el 25 de Agosto, por haberse presentado buena precipitación durante su ciclo de crecimiento, (ver Cuadro 1).

VARIABLES MEDIDAS.

En el transcurso de la investigación se tomaron los siguientes datos:

Frijol.

* A los 10 días de la siembra se realizó el conteo de plántulas, para estar seguros de tener una densidad aproximada de 165,000 plantas por hectárea.

* A los 33 días después de la siembra se inició una serie de cuatro muestreos, (uno cada 15 días) para evaluar la nodulación, altura de la planta y peso seco del vástago. De los surcos laterales 2 y 7 de la parcela experimental (Figura 4), se sacaron cuidadosamente 10 plantas completas, sacudiéndole la tierra adherida al sistema radical encima de un tamiz de 1mm. En seguida se contó el número de nódulos de cada una de las raíces. A estas mismas plantas se les midió la altura, del ápice de crecimiento hasta la base del tallo y se les separó la parte aérea para evaluar el peso seco del vástago (el material vegetal se secó en una estufa a 65°C durante 3 días).

* Las muestras de suelo, realizadas simultáneamente con las muestras de plantas y raíces se tomaron con una barrena tipo "Lord" a una distancia de 0.10 m del pie de las plantas y a una profundidad de 0 a 0.30 m.

Componentes del Rendimiento.

Estos fueron evaluados al momento de la cosecha, a los 82 días después de la siembra, el 14 de Agosto de 1986.

* Vainas por Planta: Al momento de la cosecha se tomaron 10 plantas al azar y se les contó el número de vainas.

* Semillas por Vaina: Se tomaron al azar 10 vainas de cada una de las parcelas experimentales y se contó el número de semillas por vaina.

* Peso de 100 Semillas: De cada una de las parcelas experimentales se tomaron al azar 100 semillas de frijol para pesarlas.

* Rendimiento: Se cosecharon las vainas de las plantas de los surcos centrales de la parcela experimental (Figura 4), dejando 0.50 m de cabecera en ambos extremos. Posteriormente, las plantas se metieron en un costal y se golpearon con una vara para que se salieran las semillas de frijol. Luego se procedió a limpiar de basura y tierra a la semilla para pesarla, tomar el porcentaje de humedad y corregir dicho dato para expresarlo en kilogramos por

hectárea. El rendimiento se expresó en kilogramos por hectárea, al 12 por ciento de humedad.

Maíz.

* A los 10 días de la siembra se realizó el conteo de plántulas para confirmar una densidad aproximada de 26,000 plantas por hectárea.

* Las muestras de suelos se tomaron siguiendo la misma técnica de muestreo mencionada en el cultivo de frijol.

* Aproximadamente a 0.10 m de la base del tallo se tomó el diámetro del mismo mediante un vernier.

* Las plantas que se tomaron para medir la altura se pusieron a secar en la estufa a una temperatura de 65°C durante 3 días.

* La cosecha no se llevó a cabo debido a que una helada temprana acontecida el 28 de Octubre acabó con el cultivo, el cual tenía en esa fecha 97 días de sembrado y se encontraba en la etapa de llenado de grano.

Estimaciones Bacterianas

Las estimaciones bacterianas del suelo corresponden a las bacterias heterotróficas aeróbicas mesofílicas presentes en el mismo.

Toma de Muestras de Suelo.

La muestra de suelo se depositó en bolsas de plástico las cuales no deben exponerse directamente a los rayos solares. Debido a lo numeroso de las muestras, se cribó el suelo de cada una con una malla de 2 mm tomándose una muestra representativa de 50 g, la cual se mantuvo en refrigeración (4°C). Previo a la siembra se realizaron las mezclas de suelo de las 4 repeticiones de cada tratamiento con el fin de estimar sólo 12 muestras en lugar de 48 para reducir costos.

Preparación del Medio de Cultivo.

El medio de cultivo que se utilizó para las estimaciones de bacterias del suelo, fué el de Thorton, citado por Allen (1957), (Cuadro 7), el cual se preparó de la siguiente manera: En un vaso de precipitado, se disuelven en 100 ml de agua destilada el Fosfato de Potasio Dibásico, el Nitrato de Potasio y la Bacto-Asparagina; en un segundo vaso el Cloruro de Calcio y el Cloruro de Sodio y en el tercer vaso el Sulfato de Magnesio junto con el Manitol; mientras que el Agar Bacteriológico se suspende aproximadamente en 500 ml de agua destilada, se pone en baño maría, hasta que se incorpore. Luego, se le van agregando el contenido de cada uno de los 3 vasos previamente disueltos, con un boliagitador se le agrega el Tricloruro de Fierro y el Azul de Bromotimol, por último, se completa el volumen a 1 litro y se ajusta el pH entre 7 y 7.5 .

CUADRO 7. Composición del medio de cultivo propuesto por Thorton (1957), utilizado en las estimaciones de bacterias heterotróficas del suelo.

Fosfato de Potasio Dibásico (K_2HPO_4)	1.0	g
Nitrato de Potasio (KNO_3)	0.5	g
Bacto-Asparagina	0.5	g
Cloruro de Calcio ($CaCl_2$)	0.1	g
Cloruro de Sodio ($NaCl$)	0.1	g
Sulfato de Magnesio ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.2	g
Manitol	1.0	g
Tricloruro de Hierro ($FeCl_3$)	0.002	g
Agar Bacteriológico	15.0	g
Azul de Bromotimol	1.0	ml
Agua destilada para completar	1000.0	ml

Una vez preparado el medio de cultivo, se distribuyó en botellas de boca angosta de 250 ml de capacidad, y tapón de rosca. Teniendo cuidado que el volumen del medio no excediera de 200 ml, y se esterilizó en autoclave a 15 libras de presión durante 15 minutos.

Esterilización del Material.

En el laboratorio de Microbiología de Suelos se emplean 3 métodos de esterilización, su selección depende de la clase de material con el que se vá a trabajar (vidrio o plástico). Este paso es sumamente importante ya que un material contaminado imposibilita las estimaciones bacterianas y la conservación de las cepas en estudio.

En el presente trabajo sólo se utilizaron 2 métodos: El método de Vapor a Presión y el de Calor Seco. El primero se usó para esterilizar los medios de cultivo, las botellas con 90 ml de agua del grifo (que se utilizaron como diluyente) y para esterilizar las cajas Petri de vidrio antes de lavarlas. El segundo se utilizó para esterilizar todo el material de vidrio, es decir, cajas Petri, boliaquitadores y pipetas previamente preparadas.

Técnicas de Estimaciones.

Para realizar las estimaciones bacterianas se seleccionó el método IMSS* aplicado al suelo, (De la Garza 1974).

.....*

Instituto Mexicano del Seguro Social.

Por cada muestra de suelo, en el método IMSS se necesitan estériles, 100 ml de medio de Thorton, 8 cajas Petri, 6 botellas con 90 ml de diluyente, 5 pipetas de 10 ml y una de 1 ml graduadas a 0.1 y 0.01 respectivamente, y boliagitadores.

La botella que contiene el medio de Thorton se funde en baño maría y se reparte en las cajas Petri mediante técnicas asépticas bacteriológicas, se dejan reposar hasta que se solidifique el medio y se incuban en la estufa bacteriológica con la tapa hacia abajo en paquetes de 4, envueltas con papel estraza durante 48 horas, a una temperatura entre 28 y 30°C y así se comprueba su esterilidad.

Después se procede a realizar las diluciones, para lo cual se enumeran del 1 al 6 las botellas con diluyente, se pesan 10 g de la muestra de suelo en estudio, la cual se agrega a la botella número 1, se agita manualmente durante 3 minutos, luego se toman 10 ml de la dilución 1×10^0 y se agregan a la botella número 2 teniendo así una dilución de 1×10^{-2} , se procede a agitar y al cabo de 3 minutos se realiza la secuencia anterior hasta la botella número 6 con lo que se obtienen diluciones 1×10^0 hasta 1×10^{-6} (Cuadro 8). Se pesan 10 g de la muestra para determinarle humedad.

Con la pipeta de 1 ml se deposita en 2 de las cajas Petri con medio de Thorton, 0.1 ml de la dilución mayor 1×10^{-6} en cada una, y así hasta la dilución 1×10^{-9} .

CUADRO 8. Diluciones requeridas para estimar las poblaciones bacterianas heterotróficas del suelo por el método IMSS.

		BOTELLA CON		DILUCION	
		DILUYENTE *			
10 g de Suelo	+	90	ml	1×10^0	(I)
(I) 10 ml	+	90	ml	1×10^{-2}	(II)
(II) 10 ml	+	90	ml	1×10^{-3}	(III)
(III) 10 ml	+	90	ml	1×10^{-4}	(IV)
(IV) 10 ml	+	90	ml	1×10^{-5}	(V)
(V) 10 ml	+	90	ml	1×10^{-6}	(VI)

* Agua de la llave, previamente esterilizada.

En seguida, con un boliagitador se distribuye en toda la superficie el inóculo de la dilución mayor a la menor. Se deja reposar aproximadamente 10 minutos mientras se absorbe el inóculo en el medio y se incuba en la estufa, con la tapa hacia abajo a una temperatura mesofílica (28 a 30°C) durante 5 días; pasado este tiempo se procede al conteo de colonias.

Conteo de Colonias.

El número de colonias se estima de la siguiente manera: primero se dividen las cajas en cuadrantes; luego, se cuentan cada una de las colonias que se desarrollaron en la superficie del medio de cultivo, asumiendo que una colonia proviene de una sola célula bacteriana (Divo, 1971).

En las estimaciones bacterianas se deben escoger las cajas que presenten colonias entre 30 y 300, ya que un número menor de 30 no es representativo y una cifra mayor a 300 se considera innumerable, (Allen, 1957). Además, la diferencia entre las 2 repeticiones por dilución no debe ser mayor a 10 colonias para poder promediarlas y considerar la estimación aceptable. Una vez que se obtuvo el promedio de las colonias, se multiplica por 10 para expresarlo a 1 ml y por la dilución, luego se corrige con el factor de humedad para estimar la población por gramo de suelo seco.

RESULTADOS

A continuación se presentan las estimaciones bacterianas y sus correspondientes muestreos de suelos. Lo anterior se refiere a la etapa de laboratorio, además, se incluye el trabajo de campo de ambas especies, que abarca lo correspondiente a la nodulación, altura, materia seca, rendimiento y los componentes del mismo en el caso del primer cultivo; diámetro de caña y materia seca para el segundo.

Estimaciones Bacterianas.

Se realizaron 18 muestreos de suelos durante un año, para estimar las poblaciones bacterianas en diferentes etapas de desarrollo de los cultivos, y en ausencia de éstos (ver Cuadro 9).

El primer muestreo se realizó al inicio del estudio, los siguientes 4 se tomaron a partir de los 33 días después de la siembra del frijol, la sexta muestra fue posterior a la cosecha, los siguientes 6 muestreos se tomaron estando el cultivo de maíz en pie, el intervalo de todos los muestreos fue de 2 semanas, los 6 muestreos

CUADRO 9 Concentración de datos de las estimaciones bacterianas realizadas en los doce tratamientos estudiados durante un año en Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987.

ODS.	33	42	56	70	97	98	112	126	140	154	168	196	224	252	280	322	364
No TRATAMIENTOS TEMP & C	30.0	21.4	20.3	22.0	21.8	20.1	21.9	20.4	20.9	16.3	14.1	13.4	10.6	9.0	10.7	11.6	13.0
FRIJOLINAZ PP. MM	17.0	59.5	33.0	64.0	37.0	41.0	58.3	64.7	45.7	2.5	7.5	6.0	2.0	2.0	3.4	0.0	7.3
MILLONES DE BACTERIAS POR GRAMO DE SUELO SECO																	
1	40.0	25.8	40.3	40.9	67.1	21.2	21.8	28.2	26.0	30.1	23.8	27.4	32.0	10.6	17.6	47.3	37.6
2	40.0	14.6	31.7	47.7	50.6	28.7	51.2	51.8	33.5	30.5	38.5	37.6	14.6	10.6	28.4	43.3	33.6
3	40.0	32.7	33.6	40.3	61.9	37.9	43.3	49.4	31.9	31.0	35.2	41.1	38.6	22.3	28.0	43.0	36.9
4	40.0	26.0	33.3	36.4	51.1	46.0	31.5	30.5	43.3	55.4	36.0	39.6	23.2	39.0	38.2	45.5	40.9
5	40.0	37.8	52.3	46.5	75.3	39.8	72.3	71.4	36.1	32.0	35.8	38.5	29.6	42.1	24.1	34.6	44.0
6	40.0	31.5	37.4	63.2	88.1	26.4	72.3	45.2	40.4	30.7	27.6	30.8	41.4	35.4	32.5	40.6	67.4
7	40.0	29.6	67.8	74.7	90.8												
8	40.0	27.1	23.9	32.0	41.4												
9	40.0	19.5	62.1	43.7	56.4												
10	40.0	40.5	47.7	35.8	47.6	30.6	26.2	25.4	21.7	42.8	38.7	38.1	28.8	29.8	38.0	32.7	43.8
11	40.0	29.6	49.4	54.5	90.8	61.9	60.9	42.9	63.9	53.6	37.9	34.7	55.6	39.7	38.1	38.2	55.2
12	40.0	62.3	75.6	81.4	112.5	41.5	30.1	31.8	28.9	65.5	41.2	43.0	39.6	36.0	32.0	38.5	29.8

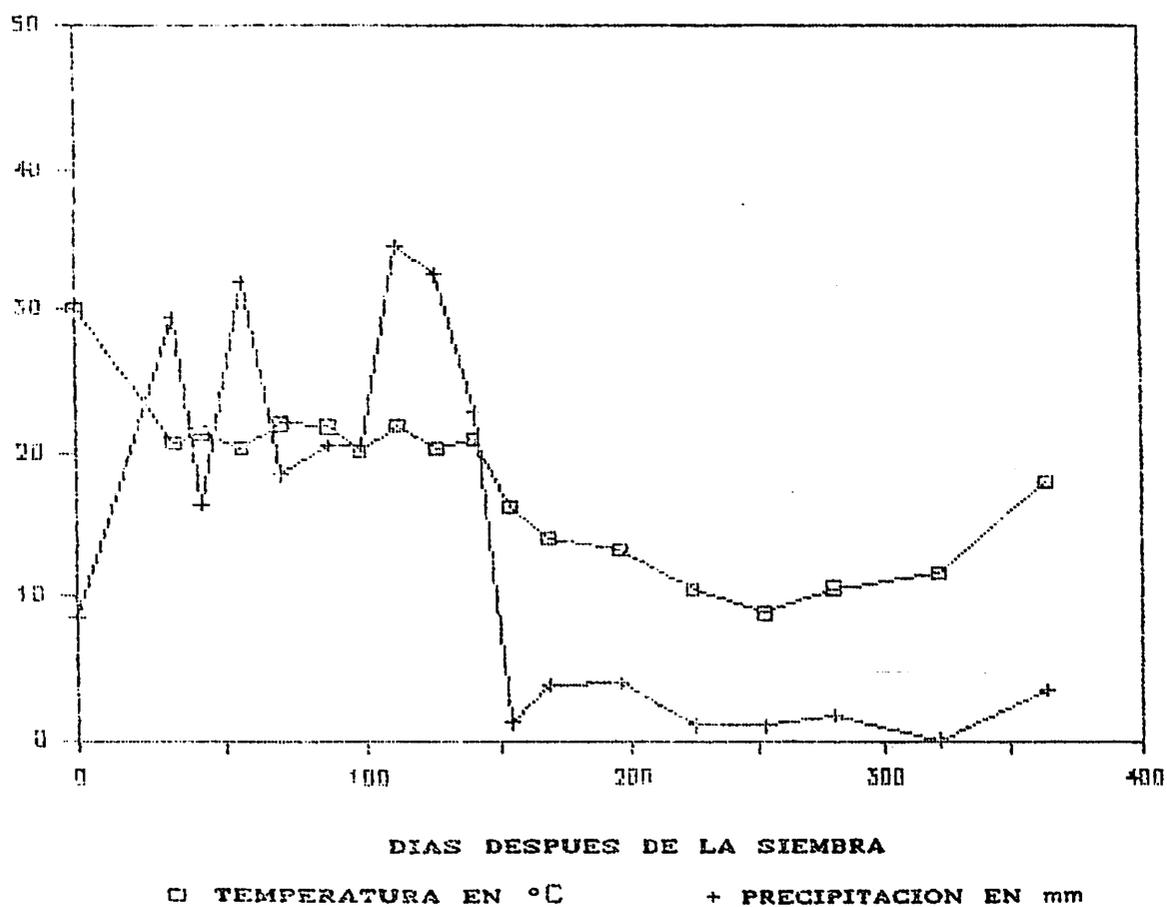
* DIAS DESPUES DE LA SIEMBRA
HELADA

restantes se tomaron sin cultivo y estuvieron espaciados, cada 4 semanas los primeros 4 muestreos, y 6 semanas los restantes. Estas estimaciones son presentadas a continuación por medio de gráficas.

En la Gráfica 1 se muestran las curvas de valores medios de temperatura y precipitación mensual que prevalecieron durante el tiempo de estudio; se puede ver que en la época de desarrollo del frijol se tuvieron épocas con buena y baja precipitación, debido a lluvias torrenciales mal distribuidas, esto corrobora los datos del Cuadro 1. Entre los 100 y 140 días después de la siembra estando el maíz en pleno desarrollo, se presentó otra época con buena humedad, posterior a esta fecha, según la gráfica de Gausse la precipitación que cayó fue casi nula, considerándose como época seca. Comparando estos dos parámetros (precipitación y temperatura) con las curvas de estimaciones bacterianas, se observa que las más altas poblaciones se presentaron cuando las condiciones fueron húmedas, con temperaturas mesofílicas y estando presente la planta hospedera.

En la Gráfica 2 se observan las estimaciones bacterianas del tratamiento fertilizado con la dosis química nitrogenada y fosfatada recomendadas para cada uno de los cultivos, las cuales son comparadas con la curva del testigo. En la época de desarrollo de los cultivos la población bacteriana nativa que se estima en el testigo

TEMPERATURA Y PRECIPITACION



GRÁFICA 1. Climograma de Gausen del área de estudio. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987.

siempre es superior, manteniéndose así por más de 250 días, o sea mientras tuvo hospedero. El testigo queda al final del estudio con la misma población inicial, mientras que el fertilizado químicamente con nitrógeno merma su población en un 25 por ciento. Esto nos indica que hay un efecto negativo al aplicar fertilizante químico nitrogenado sobre las poblaciones bacterianas nativas.

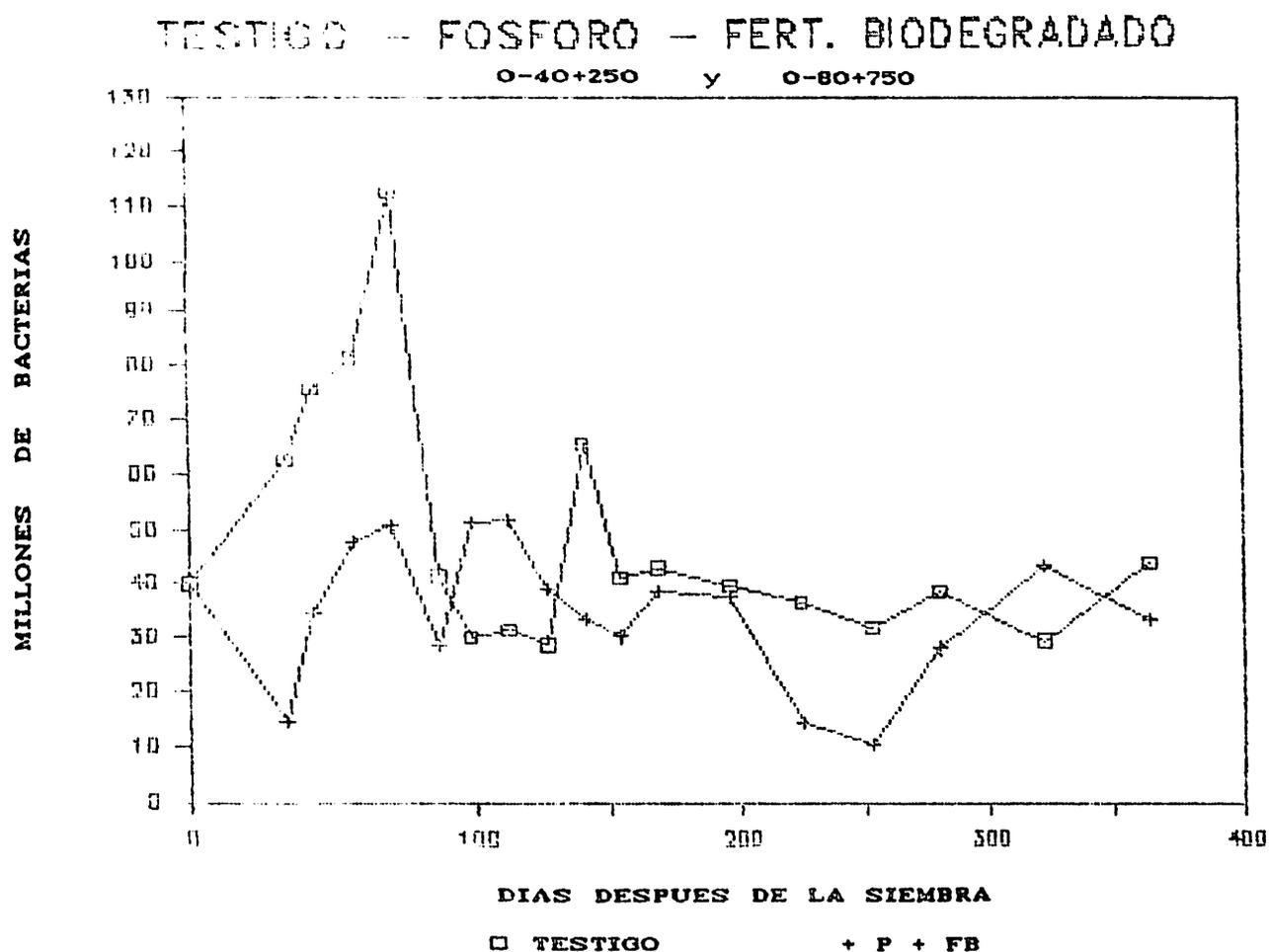
La población estimada en el tratamiento con biofertilizante se compara con el testigo en la Gráfica 3, observándose una estimación bacteriana inferior a la del testigo en la época de desarrollo del frijol, incrementándose en los primeros 4 muestreos realizados cuando está en pie el maíz, para al final quedar aproximadamente con la población inicial para un nuevo ciclo de siembra.

La siguiente comparación es para observar el efecto del fósforo teniendo como base el testigo. Cuando sólo se aplica el fósforo, en el primer mes la población permanece constante, presentándose fluctuaciones ligeras cuando está el frijol, y al inicio del ciclo del maíz se presenta al igual que en el testigo una merma en la población para después ir aumentando y finalmente quedar con una estimación aproximada de 74 millones de bacterias por gramo de suelo seco, lo que representa un 75 por ciento de incremento en la población (ver Gráfica 4).

El testigo se compara con el tratamiento fertilizado con fósforo más biofertilizante en la Gráfica 5, observándose nuevamente el efecto negativo de los fertilizantes sobre la población nativa en la época en que estuvo el frijol en pie, aumentando alrededor de los 100 días para posteriormente bajar y permanecer así hasta el final de las estimaciones.

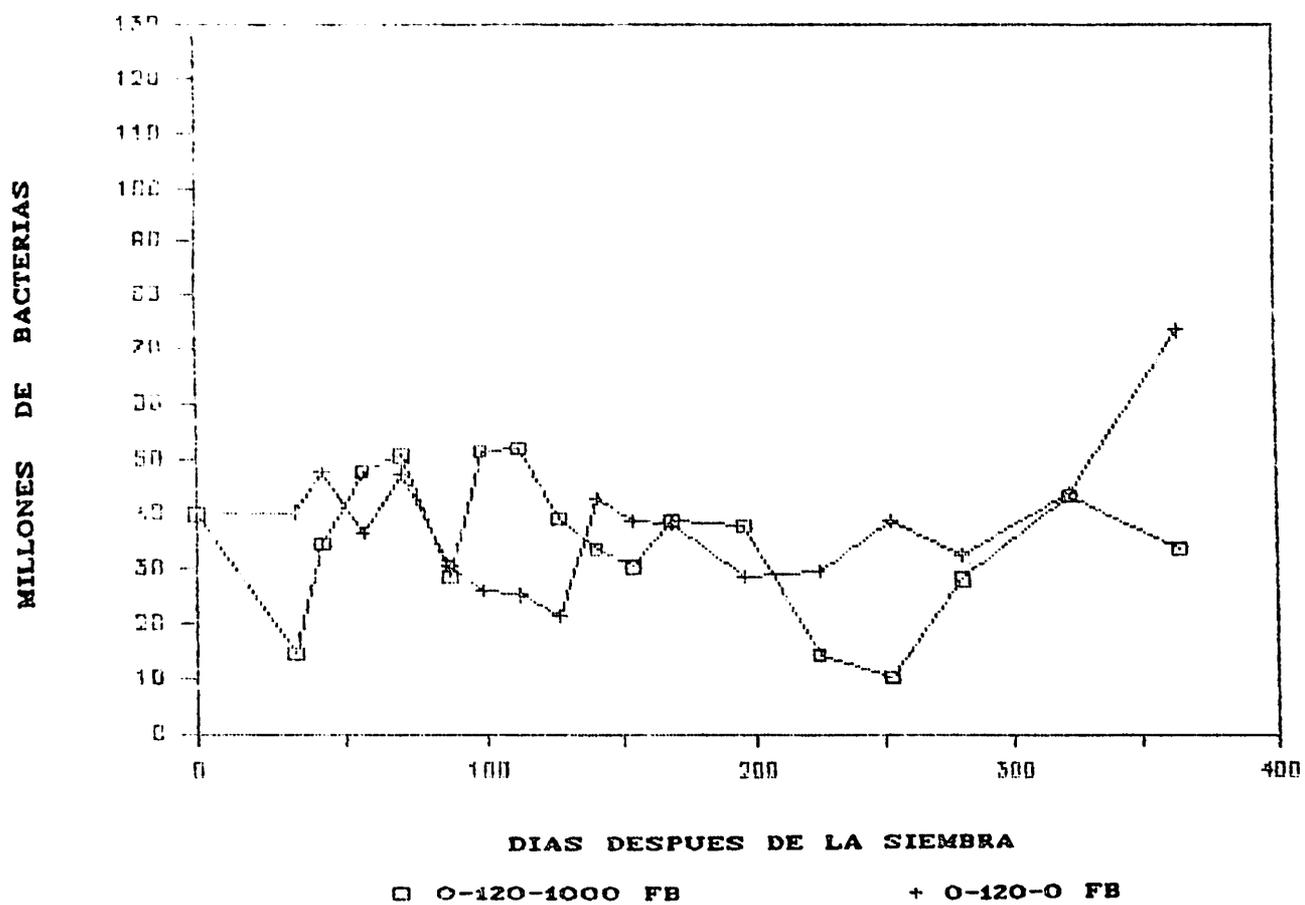
En la Gráfica 6 se observa el efecto del biofertilizante sobre las poblaciones bacterianas; al aplicarse acompañado de fósforo causan una baja considerable en la población aumentando ligeramente para quedar al final aproximadamente con la población inicial. Las fluctuaciones en la población son menores cuando se aplica sólo fósforo, manteniéndose alrededor de la población inicial para al final incrementándose en un 75 por ciento al final.

Otra comparación fué la aplicación de fósforo más biofertilizante y biofertilizante sólo. En la Gráfica 7 se observa que la aplicación de cualquiera de los 2 tratamientos merman la población inicial, presentándose fluctuaciones similares durante el resto del ciclo y reportando las estimaciones mínimas alrededor de los 250 días cuando no se tiene cultivo y las temperaturas son mínimas al igual que la humedad, para finalmente quedar con la misma población inicial.



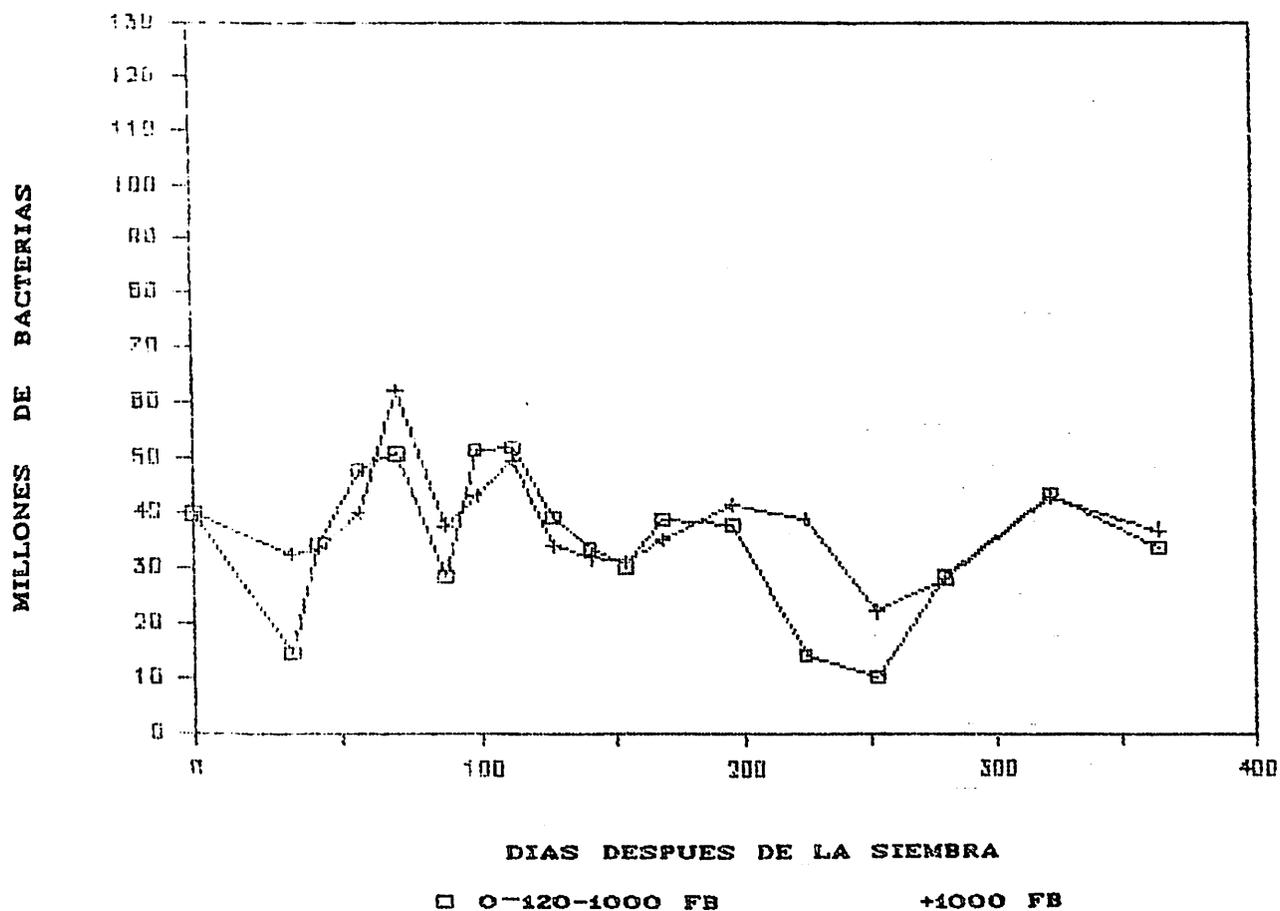
GRAFICA 5 Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas del testigo y el tratamiento fertilizado con sus respectivas dosis de fósforo y biofertilizante. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987.

FERTILIZANTE BIODEGRADADO



GRAFICA 5 Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas al aplicar biofertilizante y/o fósforo. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987.

FOSFORO



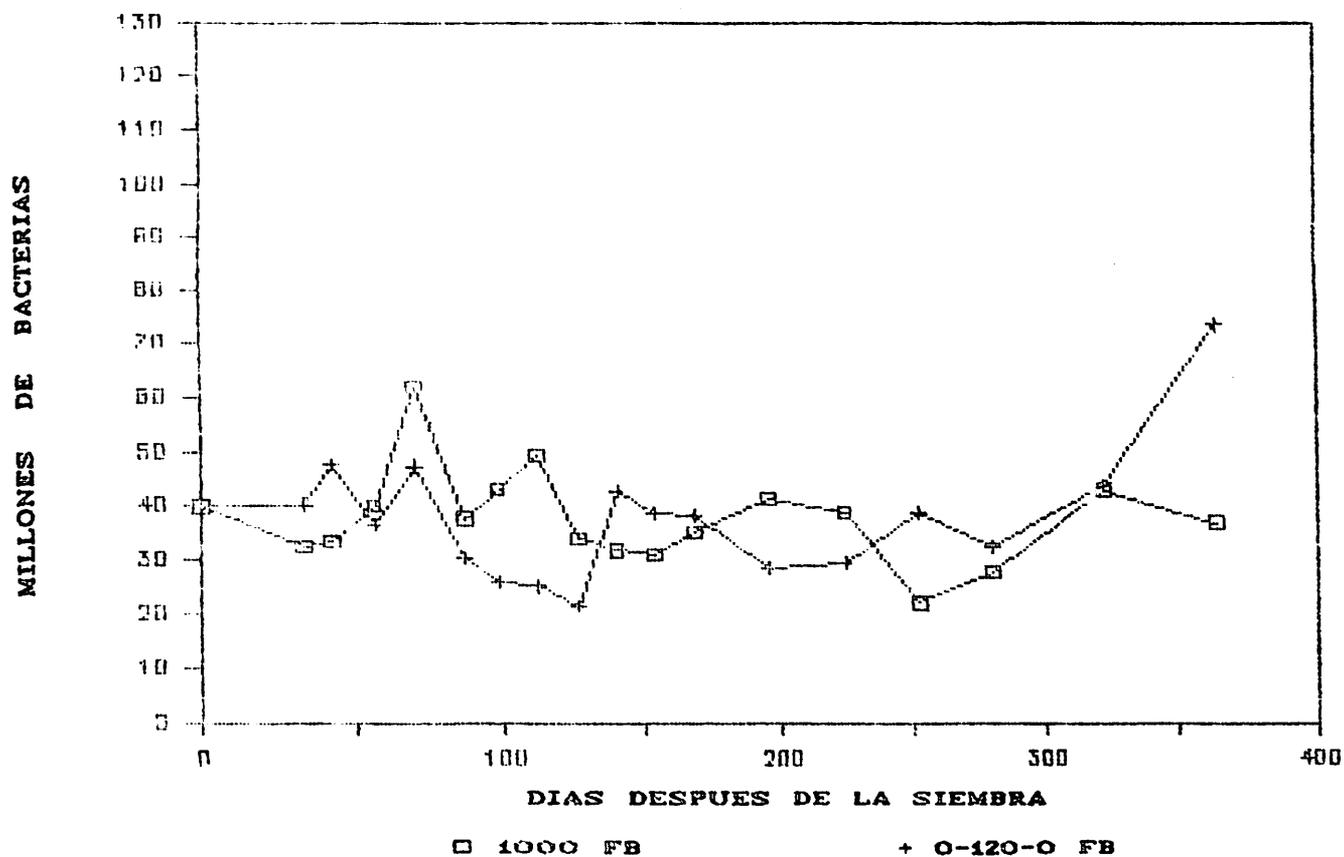
GRAFICA 7 Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas al aplicar fósforo y/o biofertilizante. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987.

La aplicación de fósforo o biofertilizante solos hacen que la población bacteriana fluctúe alrededor de la estimación inicial, no mostrando efecto sobre ésta la presencia o ausencia de los cultivos, cuantificándose una población superior en un 75 por ciento cuando se aplica fósforo y manteniéndose igual al aplicarse el biofertilizante, (ver Gráfica 8).

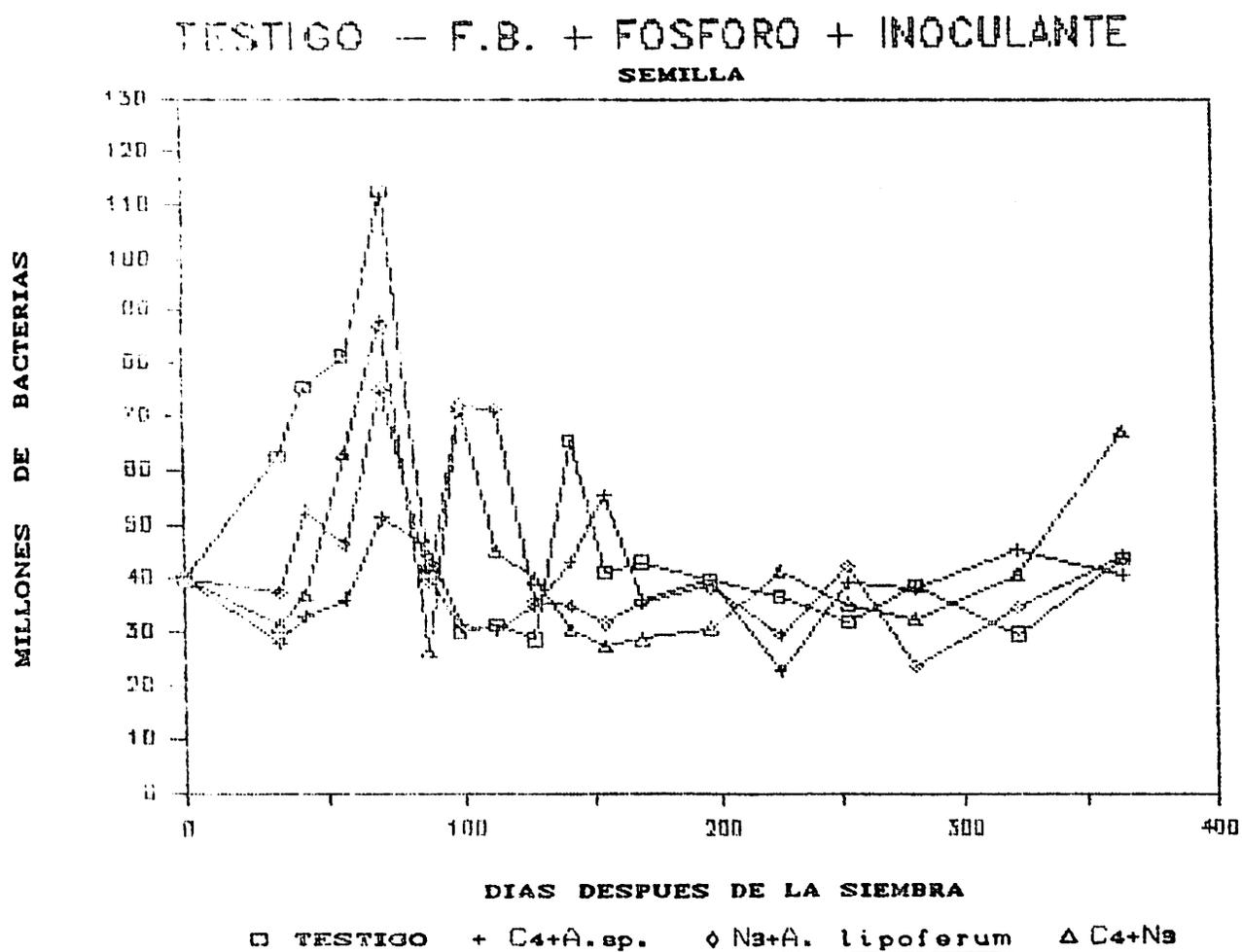
En este estudio también se evaluó la época de aplicación de las cepas de Rhizobium. En la Gráfica 9 se comparan con el testigo las curvas de estimaciones bacterianas de los tratamientos de frijol inoculados con las cepas C-4, N-3, C-4 + N-3 (p), y de maíz inoculadas con las cepas de Azospirillum sp., A. lipoferum y A. brasilense fertilizados con las dosis respectivas de fósforo y biofertilizante. Nótese el efecto negativo de la aplicación de insumos en el primer mes, después la fluctuación de todos los tratamientos es muy similar, pero al final sobresale el inoculado con la mezcla de las cepas de Rhizobium y la cepa de A. brasilense con una población estimada de 108 millones por gramo de suelo seco.

Otra época de aplicación del inóculo de Rhizobium fué en plántula, estos tratamientos sólo se evaluaron con el frijol, observándose al inicio el efecto negativo de los insumos sobre la población y el incremento en más de un 100 por ciento, que presentó la aplicación de la cepa C-4, (ver Gráfica 10).

FERTILIZANTE BIODEGRADADO – FOSFORO



GRAFICA 8 Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas al aplicar fósforo y biofertilizante solos. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987.



GRAFICA 7 Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas del testigo y los tratamientos inoculados en semilla con Rhizobium y Azospirillum. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987.

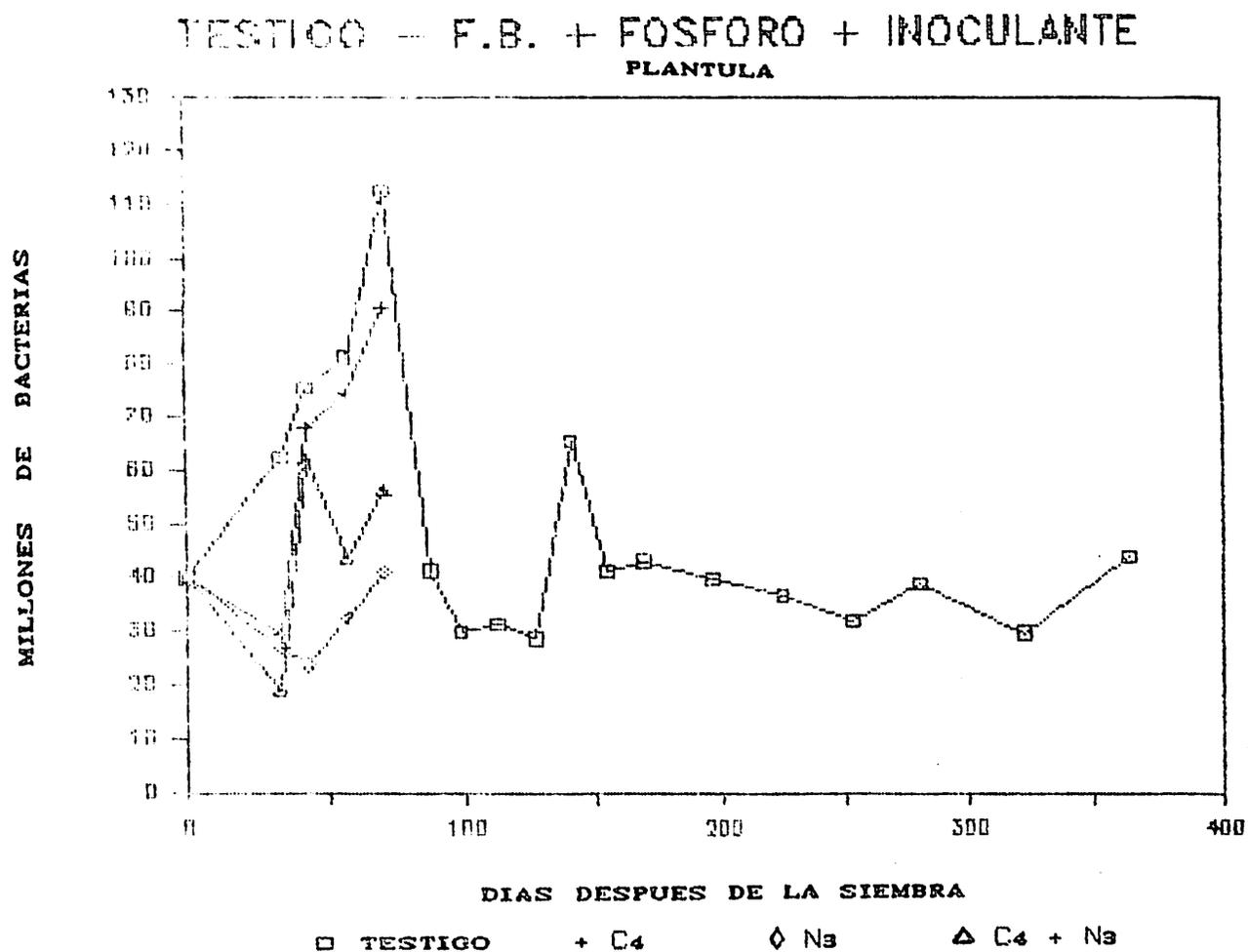


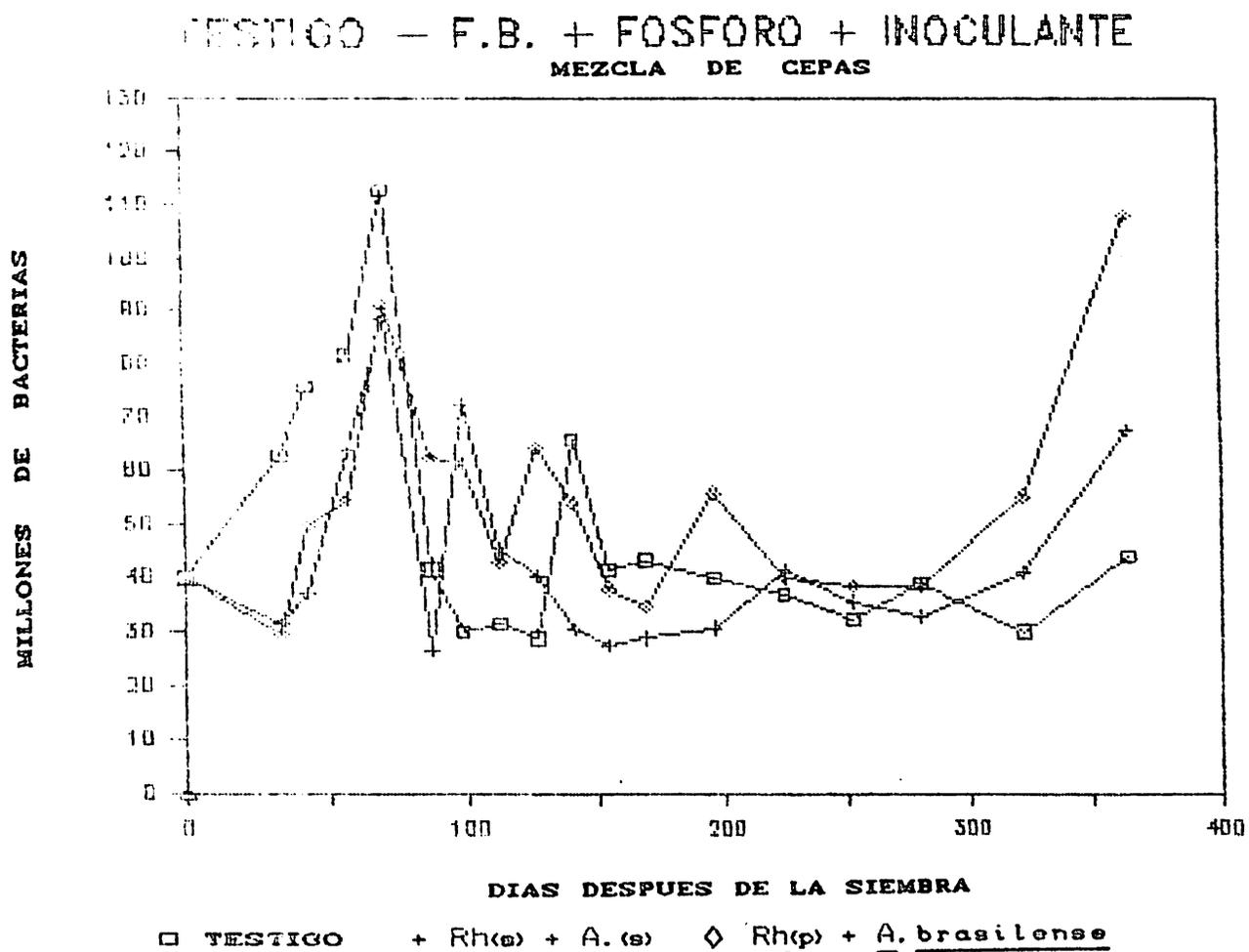
GRAFICO 10 Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas del testigo y los tratamientos fertilizados e inoculados en plántula con Rhizobium. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987.

En la Gráfica 11 se comparan las estimaciones de los tratamientos inoculados con las mezclas de las dos cepas de Rhizobium y las tres cepas de Azospirillum; aplicadas en las dos épocas la primera y sólo en semilla la segunda. Nuevamente se observó el efecto de los insumos al inicio, para posteriormente alcanzar una población de más de 80 millones en la época de desarrollo del frijol, luego fluctúan, sobresaliendo el tratamiento inoculado en plántula con la mezcla de Rhizobium y Azospirillum brasilense contándose con más de 100 millones de bacterias para el siguiente ciclo.

Análisis Físico - Químicos del Suelo

Los resultados iniciales del análisis físico - químicos del suelo indican que éste es propio para cualquier tipo de cultivo y permiten clasificarlo como Franco , medianamente alcalino, medio en materia orgánica y nitrógeno total, medianamente pobre en fósforo, muy rico en potasio, no salino y con una densidad aparente de 1.49 (ver Cuadro 10).

En el Cuadro 11 se muestran los resultados de los análisis que se realizaron a los muestreos de suelos tomadas en diferentes etapas fenológicas de los cultivos de frijol y maíz y sin cultivo. Los elementos analizados fueron: nitrógeno total (porcentaje), fósforo asimilable (kg/ha) y pH.



GRAFICA 11 Distribución y comparación durante un año de las poblaciones bacterianas del testigo y los tratamientos fertilizados e inoculados con la mezcla de las cepas de Rhizobium y azospirillum. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986 - 1987.

CUADRO 10. Características Físico - Químicas del Suelo.
 Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo
 Primavera - Verano 1986.

PROFUNDIDAD		0 - 30	cm
CARACTERISTICAS		CLASIFICACION	
Textura		Franca Arcillosa	
pH	7.9	Medianamente Alcalino	
Materia Orgánica (%)	1.88	Mediano	
Nitrógeno Total (%)	0.1931	Mediano	
Fósforo Asimilable (kg/ha)	17.62	Medianamente Pobre	
Potasio (kg/ha)	366.0	Muy Rico	
Conductividad Eléctrica (mmhos/cm)	0.9	Suelo no Salino	
Densidad Aparente (g/cm)	1.49		

CUADRO 11 Resultados de los análisis químicos del suelo en los diversos
muestreos realizados durante el desarrollo de los cultivos
asociados de frijol - maíz y sin cultivo en Derramadero,
Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera 1986-1987.

TRATAMIENTOS	33	42	55	70	87	98	112	126	140	154	160+	196	224	252	280	322	364	
FRIJOL MAIZ	005H																	
METRENO TOTAL (C2)																		
1	1/1	2484	2141	2173	2371	2402	2468	2435	2239	2075	2370	2435	2370	2365	2255	2370	2468	2402
2	2/2	2517	2304	2271	2729	2435	2468	2435	2549	2124	2402	2271	2320	2320	2271	2402	2468	2419
3	3/3	2533	2321	2286	2484	2517	2517	2451	2190	2124	2320	2206	2304	2419	2337	2353	2500	2432
4	4/4	2556	2108	2004	2402	2353	2435	2435	2173	2092	2320	2173	2271	2306	2239	2366	2517	2460
5	5/5	2435	2521	2386	2304	2337	2517	2417	2108	2110	2337	2222	2255	2419	2222	2419	2451	2402
6	6/6	2271	2255	2304	2304	2304	2500	2500	2115	2124	2402	2157	2255	2320	2190	2366	2500	2419
7	7/-	2451	2239	2306	2354	2435												
8	8/-	2435	2386	2304	2451	2402												
9	9/-	2615	2255	2353	2566	2468												
10	10/7	2484	2337	2549	2501	2435	2533	2484	2124	2092	2370	2255	2271	2353	2271	2353	2534	2451
11	11/8	2501	2337	2501	2386	2582	2468	2549	2190	2239	2206	2435	2255	2353	2255	2337	2549	2435
12	12/9	2549	2371	2255	2451	2549	2451	2419	2206	2092	2337	2173	2337	2353	2173	2419	2451	2451
	MEDIA	2487	2281	2339	2442	2435	2480	2450	2210	2119	2340	2250	2290	2360	2240	2380	2490	2430
	FOSFORO ASIMILABLE (kg/ha)																	
1	1/1	24.66	10.31	12.11	17.49	19.73	21.97	13.00	25.70	17.26	18.61	17.26	10.31	13.90	11.21	23.54	31.39	30.49
2	2/2	25.78	11.88	8.52	16.14	16.59	19.73	15.69	32.73	14.35	13.00	17.49	31.84	13.00	5.61	18.16	33.85	26.90
3	3/3	19.28	17.49	11.66	17.49	16.59	25.78	21.97	22.42	16.59	15.02	15.69	7.85	10.09	19.06	16.59	24.66	24.66
4	4/4	19.73	15.69	9.19	14.35	24.21	31.16	28.70	33.85	22.87	24.21	15.14	13.90	10.09	12.11	17.26	39.46	37.67
5	5/5	16.59	16.14	9.19	15.69	22.87	30.49	33.85	40.36	18.61	25.78	15.90	16.82	10.54	14.35	13.00	29.15	33.85
6	6/6	23.77	18.61	13.00	15.69	17.49	53.81	26.46	41.48	31.16	33.18	19.73	22.87	15.69	24.21	18.16	34.75	34.75
7	7/-	25.78	17.26	11.88	21.97	23.77												
8	8/-	17.49	16.14	10.31	18.16	14.35												
9	9/-	18.16	16.59	10.31	13.00	21.97												
10	10/7	19.28	18.61	13.00	22.42	31.83	23.77	15.69	32.73	20.85	39.24	20.40	8.52	21.90	17.26	13.00	24.21	26.90
11	11/8	18.16	19.73	19.73	21.30	22.42	25.78	25.78	39.46	41.70	28.25	25.78	44.84	16.59	19.73	20.18	47.08	39.24
12	12/9	28.70	13.00	17.49	17.49	19.73	19.28	22.87	22.87	16.59	21.97	21.97	26.90	15.69	11.88	26.46	28.70	23.54
	MEDIA	21.45	15.96	12.20	17.60	20.96	27.97	22.67	32.41	22.22	24.36	18.71	20.43	14.10	15.05	18.48	32.50	30.69
	PH																	
1	1/1	7.60	7.70	7.50	7.50	7.60	7.60	7.95	7.70	8.00	7.70	7.65	7.15	6.85	7.35	7.45	7.48	7.35
2	2/2	7.60	7.60	7.60	7.80	7.70	7.55	8.00	7.85	8.00	8.00	7.75	7.25	7.10	7.45	7.29	7.35	7.30
3	3/3	7.60	7.70	7.60	7.90	7.60	7.70	7.95	7.80	8.15	7.60	7.60	7.57	6.95	7.40	7.35	7.30	7.30
4	4/4	7.60	7.70	7.50	7.70	7.60	7.70	8.05	7.75	8.00	7.95	7.65	7.20	6.25	7.50	7.60	7.25	7.31
5	5/5	7.60	7.70	7.40	7.90	7.70	7.60	7.60	7.90	8.15	7.90	7.71	7.18	6.22	7.45	7.35	7.37	7.30
6	6/6	7.60	7.70	7.60	7.80	7.60	7.45	7.60	7.90	7.95	7.80	7.75	7.25	6.40	7.49	7.61	7.40	7.43
7	7/-	7.50	7.80	7.70	7.70	7.70												
8	8/-	7.60	7.80	7.70	7.70	7.60												
9	9/-	7.60	7.70	7.60	7.70	7.60	7.60	7.70	7.75	8.05	7.65	7.50	7.30	6.85	7.50	7.32	7.48	7.30
10	10/7	7.60	7.70	7.60	7.60	7.60	7.60	7.70	7.75	8.05	7.65	7.50	7.20	6.35	7.50	7.40	7.35	7.21
11	11/8	7.70	7.70	7.70	7.60	7.70	7.70	7.95	7.95	7.95	7.95	7.60	7.20	7.15	6.25	7.20	7.28	7.49
12	12/9	7.60	7.60	7.60	7.90	7.60	7.60	7.80	7.80	7.95	7.95	7.66	7.25	6.68	7.32	7.40	7.36	7.33
	MEDIA	7.60	7.70	7.60	7.70	7.60	7.60	7.79	7.79	7.96	7.96	7.66	7.25	6.68	7.32	7.40	7.36	7.33

MM 0 0DS
*Días Después de la Siembra.
+ Helada.

Nitrógeno Total (%).

En el Cuadro 11 el análisis de suelos reportó una media que fluctuó de 0.2119 a 0.2490 por ciento y según clasificación es un suelo medianamente rico en por ciento de nitrógeno total.

Fósforo Asimilable (kg/ha).

La cantidad de fósforo que contenían las muestras fluctuó de 12.20 a 32.58 kg/ha en promedio, quedando clasificado en términos de muy pobre a medio, con probable respuesta del cultivo a la aplicación de este elemento.

pH.

De ligero a medianamente alcalino es lo que reportan los análisis sobre el pH del suelo en las parcelas del experimento.

Comparando los resultados de los análisis en diferentes etapas de los cultivos y sin éste presentados en el Cuadro 11, con los que se obtuvieron en el análisis previo a la siembra Cuadro 10; en lo que se refiere a nitrógeno total (por ciento) y fósforo asimilable (kg/ha) se observó un ligero aumento quedando como medianamente rico y de pobre a medio respectivamente. El pH bajó de medio (7.9) a ligeramente alcalino (7.6) factor que favorece a las poblaciones bacterianas.

La siguiente información es la obtenida a nivel campo.

Cultivo de Frijol

Número de Nódulos.

En el Cuadro 12 se presenta la media del número de nódulos correspondiente a los 4 muestreos que se realizaron en diferentes etapas fenológicas del cultivo de frijol. Como puede observarse, en el primer muestreo no se incluyen los tratamientos inoculados en plántula ya que la inoculación fué posterior, por lo tanto no se realizó el análisis estadístico, sin embargo, sólo el tratamiento fertilizado químicamente reportó una influencia negativa en la formación de nódulos en comparación con los inoculados en semilla y los fertilizados con fósforo y/o biodegradado, los cuales son muy semejantes al testigo.

En el segundo muestreo se observó que el número de nódulos aumentó en los tratamientos inoculados con las cepas individuales (C-4 y N-3), cuando se aplican en plántula y permanece igual cuando se mezclan y se fertilizan con fósforo y biodegradado, en cambio, disminuyó el número cuando sólo se aplicó la mezcla de las cepas. El testigo reportó una de las más altas cifras en nódulos en comparación con el químico nitrogenado.

Después de la floración se llevó a cabo el tercer muestreo, el cual no reportó significancia estadística, sin

embargo, al comparar las épocas de aplicación la cepa C-4 y la mezcla de ambas cepas arrojaron un mayor número de nódulos al inocularse en plántula; la cepa N-3 permaneció igual tanto en semilla como en plántula. El número de nódulos en el testigo y en el químico nitrogenado baja en tanto que el fosfatado presentó una de las cifras más altas.

El último muestreo de nódulos se realizó en la época de madurez fisiológica del cultivo, respecto a los tratamientos inoculados, la cepa C-4 fué mejor en semilla, la N-3 permaneció igual y la mezcla de ambas cepas aplicada en plántula fué mejor. El biodegradado sólo superó numéricamente al inoculado con la cepa C-4 (s), al testigo y al fertilizado con fósforo más biofertilizante, pero no fué estadísticamente significativo.

En general, se puede decir que el mayor número de nódulos por planta se obtuvo en el primer muestreo y fué disminuyendo durante el desarrollo del cultivo, sin encontrarse diferencia alguna entre tratamientos.

Altura de Planta.

El segundo parámetro evaluado en el transcurso del ciclo vegetativo del cultivo fué la altura. Se puede observar que a los 33 días se llevó a cabo el primer muestreo y por no tener todos los tratamientos completamente establecidos no se realizó el análisis

CUADRO 12. Media de número de nódulos por planta de 4 muestreos realizados en diferentes etapas fenológicas del cultivo de frijol Pinto Americano. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera-Verano 1986.

NUMERO DE NODULOS POR PLANTA									
No	TRATAMIENTOS				DIAS DE LA SIEMBRA				
	N	P	FB	INOC	33	42	56	70	
1	40	40	---	-----	3	4	1	1	c
2	0	40	250	-----	13	8	7	6	a
3	0	0	"	-----	9	6	4	7	a
4	0	40	"	C-4(s)	13	5	4	6	a
5	0	40	"	N-3(s)	10	7	7	4	c
6	0	40	"	C-4+N-3(s)	13	6	4	4	c
7	0	40	"	C-4(p)		6	8	5	b
8	0	40	"	N-3(p)		10	7	4	c
9	0	40	"	C-4+N-3(p)		6	5	5	b
10	0	40	--	-----	12	7	8	5	b
11	0	0	--	C-4+N-3(p)		4	4	3	c
12	TESTIGO				12	9	4	6	a
C.V. %						72.3	60.9	27.23	
Análisis de Varianza						NS	NS	*	

* columnas seguidas con diferente letra son estadísticamente diferentes a una probabilidad de $p=0.05$ de acuerdo a la prueba de Duncan.

estadístico. En los tres muestreos posteriores no se detectó estadísticamente diferencia significativa, sin embargo, en el segundo muestreo, todos los tratamientos inoculados en plántula presentaron una mayor altura junto con el químico nitrogenado, (ver Cuadro 13).

En el tercer muestreo no se observó en general un aumento considerable en altura respecto al anterior muestreo, y siguen siendo las cepas individuales aplicadas en plántula mejores que cuando se aplican en semilla, no así cuando se mezclan ambas y se fertilizan. En cambio la mezcla de cepas sin fertilizar y el testigo se clasificaron entre las de mayor altura superando considerablemente al tratamiento fertilizado químicamente.

Por último, en el cuarto muestreo, las medias de altura mostraron una menor fluctuación entre tratamientos. En general, se puede decir que el efecto con los diversos fertilizantes e inóculos no demostró diferencia al medir este parámetro.

Materia Seca.

En el Cuadro 14 se presenta la media de los pesos de materia seca de los 4 muestreos realizados al cultivo de frijol, ninguno de ellos reportó diferencia estadística entre tratamientos. En general el incremento mayor de materia se obtuvo entre el segundo y tercer muestreo, los cuales correspondieron a las épocas de floración y

CUADRO 13. Media de altura de planta de 4 muestreos realizados en diferentes etapas del cultivo de frijol Pinto Americano en Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera - Verano 1986.

					ALTURA DE PLANTA (cm)			
No TRATAMIENTOS					DIAS DE LA SIEMBRA			
N	F	FB	INOC		33	42	56	70
1	40	40	---	----	9	22	22	24
2	0	40	250	----	10	21	26	25
3	0	0	"	----	10	19	26	27
4	0	40	"	C-4(s)	10	20	25	22
5	0	40	"	N-3(s)	10	20	25	24
6	0	40	"	C-4+N-3(s)	10	21	27	26
7	0	40	"	C-4(p)		22	32	27
8	0	40	"	N-3(p)		23	30	24
9	0	40	"	C-4+N-3(p)		22	25	26
10	0	40	---	----	10	21	26	26
11	0	0	---	C-4+N-3(p)		24	30	27
12	TESTIGO				10	21	30	27
C.V %						16.4	16.9	19.9
Análisis de Varianza						NS	NS	NS

formación y llenado de vainas respectivamente. Al cuantificar el cuarto muestreo el incremento fué menor en comparación con los muestreos anteriores.

Al comparar las épocas de aplicación de inóculo en los 3 muestreos, en general, se observó un mayor peso en los tratamientos inoculados en plántula.

Componentes del Rendimiento.

Al momento de la cosecha se tomaron una serie de datos correspondientes a los componentes de rendimiento (Cuadro 15). El número de vainas por metro cuadrado mostró que no hay diferencia estadística entre tratamientos. Sin embargo, el testigo fué superado aproximadamente con 28 vainas por el tratamiento inoculado con la cepa N-3 en plántula y fertilizado con fósforo y biofertilizante. Este último fué el que presentó mayor número de vainas, seguido por el biofertilizante sólo y el inoculado con la cepa C-4 en plántula y fertilizado.

Respecto al dato de semillas por vaina fué muy uniforme entre tratamientos, sólo el fertilizado con fósforo presentó 3 semillas por vaina, pero no fué estadísticamente significativo.

Se observó una respuesta significativa en los tratamientos fertilizados con biodegradado al evaluar el peso de 100 semillas, independientemente del inóculo

CUADRO 14. Media de peso de materia seca por planta en 4 muestreos realizados en diferentes etapas del cultivo de frijol Pinto Americano en Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera - Verano 1986.

MATERIA SECA POR PLANTA (g)								
No	TRATAMIENTOS				DIAS DE LA SIEMBRA			
	N	P	FB	INOC	33	42	56	70
1	40	40	---	----	7	26	40	54
2	0	40	250	----	7	28	51	52
3	0	0	"	----	7	29	46	59
4	0	40	"	C-4(s)	6	25	44	46
5	0	40	"	N-3(s)	7	26	46	47
6	0	40	"	C-4+N-3(s)	8	29	51	58
7	0	40	"	C-4(p)		28	56	59
8	0	40	"	N-3(p)		30	50	59
9	0	40	"	C-4+N-3(p)		29	54	58
10	0	40	---	----	7	27	49	58
11	0	0	---	C-4+N-3(p)		29	50	57
12	TESTIGO				7	25	50	55
C.V. %						22.5	18	32
Análisis de Varianza						NS	NS	NS

CUADRO 15 Análisis de los componentes de rendimiento de frijol Pinto Americano. Derramadero, Saltillo, Coahuila. Ciclo Primavera - Verano 1986.

No	TRATAMIENTOS		F.B.	INOCULANTE	VAINAS /a-2	SEMILLAS x VAINA	PESO 100 SEMILLAS (g)	PESO SEMILLA g/a-2	REND. kg/ha
	N	P							
1	40	40	----	-----	90.77	4	26.90 b	66.72	667.2
2	0	40	250	-----	90.40	4	28.33a	64.27	642.7
3	0	0	"	-----	101.59	4	28.73a	63.02	630.2
4	0	40	"	C-4(s)	95.41	4	28.40a	64.05	640.5
5	0	40	"	N-3(s)	99.00	4	28.63a	60.80	608.0
6	0	40	"	C-4 + N-3(s)	99.32	4	28.60a	69.14	691.4
7	0	40	"	C-4(p)	101.74	4	28.33a	64.98	649.8
8	0	40	"	N-3(p)	108.09	4	29.75a	73.65	736.5
9	0	40	"	C-4 + N-3(p)	98.83	4	27.93a	63.82	638.2
10	0	40	----	-----	98.27	3	26.93 b	58.87	588.7
11	0	0	----	C-4 + N-3(p)	90.41	4	26.80 b	62.09	620.9
12	T E S T I B O				80.56	4	25.90 b	50.48	504.8
C.V.%					16.6	10.8	3.68		13.34
ANALISIS DE VARIANZA					N.S.	N.S.	*		N.S.

* columnas seguidas con diferente letra son estadísticamente diferentes a una probabilidad de $p=0.05$ de acuerdo a la Prueba de Duncan

utilizado y la época de aplicación. El resto de tratamientos fueron estadísticamente iguales al testigo.

Al evaluar el peso de semilla en gramos por metro cuadrado y kilogramos por hectárea no detectó diferencia estadística. Sin embargo, se observó que el tratamiento inoculado en plántula con la cepa N-3, fertilizado con fósforo y biofertilizante superó con 45.1 kg/ha al tratamiento inmediato inferior y con 231.7 kg/ha al testigo que corresponde al mínimo rendimiento.

La inoculación en plántula con las cepas individuales fueron ligeramente superiores a las inoculadas en semilla. En cambio la mezcla de cepas aplicadas en semilla y fertilizadas resultaron mejores que cuando se inoculó a la plántula con y sin fertilizante.

El testigo presentó el menor rendimiento (504.8 kg/ha), observándose una respuesta positiva en los tratamientos 3 y 10, donde únicamente se suministró biofertilizante (630.2 kg/ha) y fósforo (588.7 kg/ha) respectivamente, al aplicarse éstos juntos logran aumentar ligeramente el rendimiento a 642.7 kg/ha. El rendimiento obtenido con la dosis de fertilizante químico superó a 9 de los 12 tratamientos evaluados, quedando por debajo de la producción de los tratamientos inoculados con la mezcla de las cepas aplicadas en semilla y fertilizadas, así como de la cepa N-3 aplicada en plántula.

En general se puede decir que el rendimiento estuvo determinado por el peso de las semillas, ya que el resto de los componentes fueron estadísticamente iguales.

Análisis Económico.

En el Cuadro 16 se muestran los costos de producción por hectárea de los doce tratamientos estudiados con el cultivo de frijol variedad Pinto Americano. Como se puede observar los costos se dividieron en insumos aplicados y labores realizadas; primero se tomó en cuenta la preparación del terreno y el valor de la semilla, considerando que se puede sembrar la semilla criolla o la mejorada, además, el control de malezas, los insecticidas y el fertilizante foliar, así como su aplicación y los gastos de la cosecha. Estos son costos que se aplicaron a todos los tratamientos, siendo los diversos fertilizantes utilizados y su aplicación los que marcaron la diferencia entre los costos de producción.

Al contabilizar los costos de producción de cada tratamiento, el testigo absoluto fué el menos costoso con \$153,000.00 y \$153,800.00 para las semillas criolla y mejorada respectivamente; seguida del inoculado solamente con la mezcla de cepas en plántula con \$167,000.00 y \$167,800.00. Los tres tratamientos inoculados en plántula y fertilizados con fósforo y biodegradado fueron los de mayor costo de producción con \$255,700.00 y \$256,500.00.

En general se puede decir que el rendimiento estuvo determinado por el peso de las semillas, ya que el resto de los componentes fueron estadísticamente iguales.

Análisis Económico.

En el Cuadro 16 se muestran los costos de producción por hectárea de los doce tratamientos estudiados con el cultivo de frijol variedad Pinto Americano. Como se puede observar los costos se dividieron en insumos aplicados y labores realizadas; primero se tomó en cuenta la preparación del terreno y el valor de la semilla, considerando que se puede sembrar la semilla criolla o la mejorada, además, el control de malezas, los insecticidas y el fertilizante foliar, así como su aplicación y los gastos de la cosecha. Estos son costos que se aplicaron a todos los tratamientos, siendo los diversos fertilizantes utilizados y su aplicación los que marcaron la diferencia entre los costos de producción.

Al contabilizar los costos de producción de cada tratamiento, el testigo absoluto fué el menos costoso con \$153,000.00 y \$153,800.00 para las semillas criolla y mejorada respectivamente; seguida del inoculado solamente con la mezcla de cepas en plántula con \$167,000.00 y \$167,800.00. Los tres tratamientos inoculados en plántula y fertilizados con fósforo y biodegradado fueron los de mayor costo de producción con \$255,700.00 y \$256,500.00.

Debajo de los costos de producción de cada tratamiento se anotaron los kilos por hectárea ponderados, en seguida, se observó el costo de la producción, tomando como base el precio vigente al momento de la cosecha de \$350.00 kilo. Al comparar ambas cifras se detectó que de los 12 tratamientos sólo 4 reportaron ganancias, o sea; el inoculado con las dos cepas (C-4 + N-3) en plántula con \$50,315 seguido por el biofertilizado con \$45,570; el tercer lugar corresponde al testigo con \$23,680 y por último el inoculado en plántula con la cepa N-3, fertilizado con biofertilizante y fósforo. Cabe aclarar que este último tratamiento fué el de mayor rendimiento pero debido a los insumos aplicados mermaron sus ganancias. Los 8 tratamientos restantes reportaron pérdidas desde \$36,900 a \$ 7,710.

Cultivo de Maíz

Diámetro de Caña.

El diámetro de caña fué uno de los parámetros medidos en la segunda especie. Los muestreos fueron tomados cada 2 semanas a partir de los 27 días de sembrado el maíz variedad Lucio Blanco (AN-361); en total se tomaron 7 muestreos y al parecer el efecto de la fertilización química, biodegradado e inoculación en las diferentes etapas de muestreo entre tratamientos no se detectó significancia. Cuadro 17.

Materia Seca.

Las evaluaciones de materia seca fueron hechas el mismo día en que se tomó la medida del diámetro de caña; se recogieron 6 muestras en total a las que se les realizó su análisis de varianza correspondiente, los cuales se aprecian en el Cuadro 18. Estadísticamente ningún muestreo fue significativamente diferente entre tratamientos, sin embargo, entre el primero y segundo muestreos se observó una mayor producción de materia seca, así como a los 66 y 80 días fechas que coincidieron con el inicio y final de la floración, después la producción de materia seca disminuyó al presentarse la primera helada temprana de la temporada.

Cosecha

Debido a la helada que se presentó en una etapa crítica de la planta, aproximadamente a los 93 días de sembrado, cuando el cultivo estaba en pleno llenado de grano no fue posible llegar a cosecha por su pérdida total.

DISCUSION

La discusión se presenta de acuerdo a las secciones señaladas en el capítulo anterior.

Estimaciones Bacterianas.

Se observó una época dentro de nuestro ciclo de estudio en la cual se encontraron combinados tres factores importantes para la población bacteriana: temperatura, humedad y hospedero; condiciones que afectan, entre otras, a los microorganismos del suelo (Gómez, 1963). Mckee, en 1961 y Cuautle, en 1979 encontraron que era determinante la influencia de la humedad en la fijación de nitrógeno, restringiéndose ésta cuando la humedad es deficiente. Asimismo, temperaturas máximas diurnas superiores a los 32°C o inferiores a los 18°C perjudican seriamente la eficiencia nodular (Guss y Döbereiner 1972). Graham, en 1977, añadió que es importante la presencia del hospedero y la cepa apropiada para que el ciclo de vida de las bacterias sea completo y activo.

En las Gráficas de la 2 a la 5 se muestran las comparaciones de las poblaciones bacterianas del testigo con los tratamientos que recibieron dosis de fertilizante

químico o biodegradado, en todas ellas se observó que las bacterias heterotróficas nativas recibieron los beneficios de temperatura, humedad y hospedero; sobre todo cuando estuvo presente el frijol. Al no existir hospedero y al mínimo de temperatura y humedad las poblaciones fluctuaron ligeramente manteniéndose iguales que al inicio del ciclo .

En cambio, todos los tratamientos fertilizados que se compararon con el testigo mostraron disminución en las poblaciones, aún cuando se presentaron condiciones favorables para su desarrollo, corroborando lo mencionado por Franco y Döbereiner en 1967; y Chávez et al en 1978, que la presencia de altos niveles de nitrógeno contenidos en el suelo o por fertilización química produce efectos contrarios en las poblaciones heterotróficas, fijación y nodulación, limitando la contribución del nitrógeno por fijación simbiótica para el desarrollo de las plantas. Al contrario, al adicionar nitrógeno en pequeñas cantidades, en suelos que carecen de este elemento, se puede favorecer el desarrollo de los nódulos y estimular la fijación de nitrógeno atmosférico Graham y Halliday, 1977.

En las tres Gráficas siguientes se compararon los efectos producidos en la población por el biofertilizante y el fósforo sólo o combinados. En todos ellos se observó un efecto negativo inmediato a la aplicación y una ligera recuperación cuando se tenían condiciones óptimas de temperatura, humedad y hospedero; sin embargo, en la mayor

parte del tiempo las poblaciones fluctuaron por debajo de la estimación inicial. Estos resultados corroboran lo mencionado anteriormente por Chavez et al, en 1978.

Alexander en 1980, reportó que la comunidad subterránea compite con el cultivo por el fósforo, sobre todo cuando éste es limitado y se espera respuesta a su aplicación. Cuando la cantidad de fosfato es alta no existe competencia. Esto coincidió con las estimaciones del tratamiento fosfatado; al momento de su aplicación el elemento fué suficiente para abastecer a las bacterias y a la planta. Cuando se sembró el maíz, la competencia por el elemento se tradujo en una disminución de la población y al desaparecer la competencia todo el elemento presente o convertido de orgánico a formas inorgánicas fué para su desarrollo.

Las tres últimas Gráficas muestran las comparaciones de las estimaciones del testigo con los tratamientos inoculados con las cepas de Rhizobium phaseoli para frijol en 2 épocas y Azospirillum para maíz y fertilizados con fósforo y biodegradado. Nuevamente, se corrobora lo mencionado por Chavez et al, en 1978; que el alto contenido de nitrógeno en el suelo más la fertilización química y con biodegradado nulifican la actividad de las bacterias inoculadas y las nativas.

Análisis Físico - Químicos del Suelo.

Al comparar las características químicas iniciales (Cuadro 10), con las obtenidas a través del desarrollo de los cultivos asociados de frijol y maíz y sin cultivo (Cuadro 11), se observó un incremento en promedio en el contenido de nitrógeno total (por ciento) y en fósforo asimilable (kg/ha); ésto coincidió con lo mencionado anteriormente. En lo que respecta a nitrógeno, éste se incrementó debido a las aplicaciones químicas y del biodegradado pero inhibió la capacidad fijadora de las cepas nativas e introducidas. En cambio, el fósforo aplicado sirvió para suministrar la deficiencia detectada inicialmente. La variación del pH que se detectó de mediano a ligeramente alcalino se debió más bien al número de muestras promediadas, ya que los tratamientos evaluados en ningún momento pueden considerarse como mejoradores del suelo.

Cultivo de Frijol.

La inoculación no tuvo un efecto positivo en el número de nódulos, como puede observarse en el Cuadro 12. Esto pudiera atribuirse a que las cepas nativas presentaron una capacidad infectiva similar a las introducidas. El testigo nos señaló con certeza la existencia de cepas nativas ya que en ausencia de inoculación hubo nodulación, aclarando que no se consideró la efectividad de éstas.

El efecto de la fertilización química sobre el número de nódulos fué negativo, debido a que la concentración de nitrógeno en el suelo más la aplicada fué inhibitoria para el Rhizobium coincidiendo con lo reportado por Graham en 1977.

Analizando el Cuadro 13, la altura de planta es muy uniforme, atribuyéndose ésto a los altos contenidos de nutrientes existentes en el suelo que no permitieron valorar los efectos que producen los fertilizantes o inoculantes aplicados.

La inoculación y fertilización no produjeron un efecto que presentara diferencias significativas, (Cuadro 14) en el contenido de materia seca. Esto puede atribuirse a que el contenido de nitrógeno en el suelo era alto y además que las cepas nativas de rhizobia eran muy infectivas y efectivas, por lo tanto la biomasa producida por el cultivo de frijol fué muy uniforme entre tratamientos al igual que la eficiencia fotosintética.

Respecto al número de semillas por vaina y número de vainas por planta, son variables poco influenciada por el ambiente y dependen directamente de la variedad utilizada; ésto concuerda con lo mencionado por Barrera 1977, quien agregó que existe una relación entre el número de semillas producidas y su peso; menor número de semillas con mayor peso, como efecto de una menor competencia interna por los fotosintatos acumulados. Sin embargo, esto

no coincidió con lo reportado en el Cuadro 15, más bien se detectó una influencia directa entre biofertilizante y el peso de las 100 semillas, lo que se puede atribuir al contenido de nutrientes que posee dicho fertilizante (Martínez, 1982).

En cuanto a rendimiento se refiere, se observó una variación de 504.8 a 736.5 kg/ha, no detectándose diferencia estadística significativa. Sin embargo, este incremento puede atribuirse a la influencia de lo evaluado en el tratamiento 8, Cuadro 15. Los buenos rendimientos estimados en el testigo se atribuyen principalmente a dos factores; primero, los altos contenidos de nutrientes que posee el suelo de esa localidad y segundo, a la población bacteriana nativa, la cual a su vez proporciona nitrógeno a través de la fijación y por la biomasa de las bacterias que es fácilmente asimilable. Los rendimientos del tratamiento fertilizado con fósforo solamente, se explican por la respuesta que se esperaba de antemano a su aplicación, ya que éste interviene en la síntesis de proteínas, aumenta la nodulación y por lo tanto el rendimiento de grano.

El tratamiento fertilizado con la dosis recomendada de nitrógeno y fósforo fué comparable con los tratamientos que se fertilizan con fósforo y/o biofertilizante, asumiéndose que el biofertilizante proporcionó la cantidad de nitrógeno requerido para el buen desarrollo de la planta, sin menospreciar lo que proporcionó el suelo. Estas fuentes de nutrientes más la

población bacteriana nativa hicieron que no se manifestara el efecto de la inoculación artificial aplicada en la semilla y a la plántula.

En el Cuadro 16 se presentan los costos de producción de cada uno de los tratamientos, diferenciándose sólo en el costo de los fertilizantes y su aplicación .

Los costos de los fertilizantes (sulfato de amonio y super fosfato de calcio triple) e inóculo fueron calculados de acuerdo al precio que tenían en el mercado cuando se utilizaron. El precio del biofertilizante se estimó tomando en cuenta la materia prima (estiércol y agua) más la mano de obra para poner a funcionar el digestor.

Sólo cuatro de los doce tratamientos reportaron ganancias, siendo de poca consideración, ya que la utilización y aplicación de los fertilizantes no aumentaron los rendimientos para que amortiguara esta inversión. Sólo los tratamientos que recibieron biofertilizante e inóculo aplicado en plántula muestran ganancias más atractivas. El testigo se encuentra entre los tres mejores tratamientos económicamente hablando, aparentemente se debe a lo mencionado anteriormente, a la buena calidad del suelo y a la alta población bacteriana nativa.

En el Cuadro 17 y 18 se observan las medias del diámetro de la caña y materia seca, respectivamente,

evaluadas en el cultivo de maíz. Estos datos mostraban un desarrollo normal del cultivo sin reportar influencia de los tratamientos evaluados hasta el momento en el que ocurrió la helada temprana que causó daños irreversibles en la fase de llenado de grano.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en el presente estudio se confirmó lo siguiente:

La sobrevivencia de las bacterias heterotróficas del suelo se vieron afectadas negativamente por la aplicación de fertilizantes, tanto químicos como del biodegradado anaeróbico líquido, mientras que las bacterias introducidas no mostraron su potencial debido a que fueron también fertilizadas con el biodegradado.

El efecto de los fertilizantes químicos, biológicos e inóculo sobre el rendimiento y sus componentes del cultivo de frijol, se vieron enmascarados por la mezcla que de ellos se hicieron y por la buena calidad del suelo con que se trabajó.

Los fertilizantes e inóculos combinados así como su aplicación aumentaron los costos de producción haciéndolos incosteables al no incrementarse proporcionalmente el rendimiento, y sólo son justificables cuando se aplican individualmente el biofertilizante o el inóculo.

De los componentes de rendimiento, sólo el peso de las 100 semillas de frijol fué estadísticamente significativo, lo cual se debió al efecto de la aplicación del fertilizante biodegradado.

La evaluación del sistema de asociación frijol - maíz no se llegó a determinar debido a la helada temprana que se presentó.

SUGERENCIAS

En base a los análisis de los resultados obtenidos, así como las experiencias derivadas u observadas en el desarrollo del experimento, pueden hacerse una serie de sugerencias para futuras investigaciones sobre el tema, sin pretender de ninguna manera, solucionar los múltiples problemas que se puedan presentar.

Para evitar interferencias en el efecto de la inoculación sobre el rendimiento u otras mediciones; se sugiere que los trabajos se establezcan en suelo lo más pobre posible en nutrientes sobre todo en nitrógeno y no acompañar el tratamiento inoculado con otra fuente nitrogenada.

LITERATURA CITADA

Abencerraje, R.F. 1984. Respuesta del frijol (Phaseolus vulgaris L.) bajo condiciones de riego al fertilizante líquido obtenido por biodegradación anaeróbica del estiércol de bovino en la Región de Derramadero, Coahuila. Tesis M.C. Especialidad de Suelos. Programa de Graduados UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 66 p.

Albrecht, S.L., Okon, Y., Lonquist, J. and Burris, R.H. 1981. Nitrogen Fixation by Corn-Azospirillum Associations in a Temperate Climate. Crop Science Vol.21, March-April, p 301-306.

Alexander, M. 1980. Introducción a la Microbiología del Suelo. Primera Edición. Libros y Editoriales, S.A. México. 490 p.

Allen, O.N. 1957. Experiments on soil bacteriology. Burgess Publishing Co. Minnesota. 5 - 77 p.

Arias, CH.J. 1978. Digestión anaeróbica de desechos orgánicos: prioridad estratégica para el co-desarrollo. Reunión Nacional sobre Energía no Convencional. Morelos, México. 10 p.

Baquedano, M. M., Young, M. A. y Morales, H. L. 1979. Los digestores: en energía y fertilizantes para el desarrollo rural. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos (INIREB). Xalapa, Ver. México. p. 6-20.

Barrera, S. J. 1977. Influencia de la densidad de siembra sobre el rendimiento, pudriciones radicales y componentes de rendimiento en 3 variedades de frijol. Tesis profesional, ENA, Chapingo, México. 80 p.

_____ 1980. Nodulación, rendimiento y algunos componentes del rendimiento de frijol y maíz en cultivo asociado. Tesis M.C. Especialidad Genética. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 93 p.

Beltrán, D. A. A. 1986. Efecto del biodegradado anaeróbico líquido del estiércol de bovino en el desarrollo del chile (Capsicum annum L.) variedad Tampiqueño 74 en invernadero. Tesis de Licenciatura. Especialidad Suelos. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 56 p.

Beracoechea, H. M. 1977. Análisis económico en asociaciones maíz - frijol para diferentes regiones del Estado de Puebla. Tesis Profesional. U de G., Guadalajara, Jal. 83 p.

Bergey, D. H. 1984. Manual de Bacteriología Sistemática. Ed. I, Vol. I, Sección 2. Baltimore, Md., U.S.A. Waverly Press, Inc.

Bulow, J. F. W. von e Dobereiner, J. 1975. Potential for Nitrogen Fixation in Maize Genotypes, in Brazil, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 72: 2389-2393.

Campos, E. A. E. 1980. Efecto de la fertilización y densidades de población en el rendimiento de la asociación maíz - frijol en los "Altos de Jalisco". Tesis Profesional. UACH, Chapingo, México. 144 p.

Crothers, S. E. and Westerman, D. J. 1976. Plant spacing effects on the seed yield of Phaseolus vulgaris L. Agron. J. 68: 958-960.

Cuautle, F. M. E. 1979. Efecto de la fertilización, fumigación del suelo e inoculación con Rhizobium, sobre la nodulación, contenido de nitrógeno y rendimiento de frijol (Phaseolus vulgaris L.) en Chapingo, México. Tesis de Maestría. Especialidad de Suelos. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 141 p.

Chavez, S. A., Nuñez, E. R. y Echegaray. A. A. 1978. 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 No 27. 79-94

Date, R. A. 1973. Nitrogen a major limitation in the productivity of natural communities, crops and pasture in the pacific area: Soil Biol. and Biochem. Vol I. 515-518 p.

Day, J. M., and Dobereiner, J. 1976. Physiological aspects of N₂ Fixation by a Spirillum from Digitaria roots. Soil Biol. Biochem. 8:45-50.

De la Garza, C., M. 1974. Modificación IMSS a la Técnica de Kass en urocultivos. Rev. Mex. de Urología. 35:2 181-186 marzo-abril. México.

Diagnóstico y Rehabilitación de Suelos Salinos y Sódicos. 1982 . Laboratorio de Salinidad de los Estados Unidos de América. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América. Editor L.A. Richards. Editorial Limusa. 4a reimpresión.

Divo, A. 1971. Microbiología Médica. Editorial Interamericana. México p. 8-33 - 414-415.

Dobereiner, J. 1976. Nitrogen fixation in grass-bacteria associations a summarized review of recent progress. VII Relar, CIAT, Colombia. 1-8 p.

_____1977a. Plant genotype effects on nitrogen fixation in grasses. In genetic diversity in plants (Ed. by A. Muhammed, R. Aksel, and R.C. Von Borstol). Plenum Publishing Corporation.

_____1977b. Revisao de literature fixacao de nitrogen em gramineas. Revista Brasileira do Ciencia do Solo. 1:1-9 p.

Dobereiner, J. y Day, J.M. 1974. Importancia potencial de la fijación simbiótica de nitrógeno en la rizósfera de gramíneas tropicales. Seminario sobre manejo de suelos y el proceso de desarrollo en América Tropical. CIAT. Cali, Colombia, Vol I 203-216 p.

Dobereiner, J., Marriell, I. E and Nery, M. 1976. Ecological distribution of Spirillum lipoferum. Can. J. Microbiol. 22: 1464 - 1473.

Dommergues, Y. and Mangenot, F. 1970. Mycorrhizes. En: Ecologie Microbienne du Sol. Mason et Cie (Editores). p 561 Paris

Franco, A. A e Dobereiner, J. 1967. Especificidade hospedeira na simbiose com Rhizobium - feijao e influencia de diferentes nutrientes. I Simposio Latino-Americano de Microbiologia de Solo, Rio de Janeiro. G. B. 15 p.

Freire, J. 1976. Inoculation of soybean. IPAGRO, UFRGI, Porto Alegre, R.S. Brasil. 10 p.

Frousios, G. 1970. Genetic diversity and agricultural potential in Phaseolus vulgaris L. Expl. Agric. 6: 129-144.

Gómez, A. A. 1963. Efecto del pH, materia orgánica y temperatura del suelo sobre la nodulación en frijol (Phaseolus vulgaris L.) causada por Rhizobium phaseoli. ITESM. Tesis de licenciatura. Monterrey N.L. México 33 p.

Graham, P. H. 1977. La nodulación y la fijación de nitrógeno en Phaseolus vulgaris L. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. 25 p.

Graham, P. H. and Halliday, J. 1977. Inoculation and nitrogen fixation in the Genus Phaseolus. In: exploiting the legume Rhizobium Symbiosis in Tropical Agriculture. University of Hawaii. U.S.A. Vol II pp 313-334.

Graham, P. H. y Hubbell, D. H. 1974. Interacción Suelo-Planta-Rhizobium en la agricultura tropical. Seminario sobre manejo de suelos y el proceso de desarrollo en América tropical. CIAT. Cali, Colombia, Vol I p 217-233.

Guss, A. e Dobereiner, J. 1972. Efeito da adubacao nitrogenada e da temperatura do solo na fixacao do nitrogenio en feijao (Phaseolus vulgaris). Revista Brasileira do Ciencia do Solo 1:20-25.

Hardy, R. W. 1971. Biological nitrogen fixation a key to world protein. Plant and Soil, Spe. Vol. Ed. T.A. Lec and E.G. Mulder. p 561-590.

Janseen, K. A. 1972. Effect of physical and nutritional factors of the environment on nitrogen fixation, plant composition, and yield of dark red kidney beans. (Phaseolus vulgaris L.) Ph.D. Thesis. East Lansing, Michigan State University p 72.

- Lépiz, I. R.** 1974. Asociación de cultivos maíz- frijol. Chapingo, México, Secretaría de Agricultura y Ganadería, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. (Folleto Técnico núm 58). México, D.F. 46 p.
- _____1978. La asociación maíz - frijol y el aprovechamiento de la luz solar. Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 304 p
- Lynch, J. M.** 1979. Production and phytotoxicity of acetic acid in anaerobic soils containing plant residues. Soil Biology Biochemistry. 10 : 131-135. U.S.A.
- Mckee, G. W.** 1961. Some effects of liming, fertilization, and nodulation in birdsfoot trefoil. Agronomy Journal 53:237 -240.
- Martínez, M. E.** 1981. Análisis comparativo del método clásico y el método MGC para recuentos bacterianos en suelos agrícolas. Tesis de M.C. Especialidad de Suelos. Programa de graduados. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 60 p.
- Martínez, P. J. F.** 1982. Respuesta de la soya (Glicine max L.) variedad Tamazula S-80 al fertilizante líquido obtenido por fermentación anaeróbica del estiércol de bovino. Tesis de M.C. Especialidad de Suelos. Programa de graduados. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 90 p.

Mendoza, G. O. 1985. Respuesta de la fenología y el rendimiento de frijol ejotero (Phaseolus vulgaris L.) al biodegradado anaeróbico líquido del estiércol de bovino en la Aurora Coahuila. Tesis de M.C. Especialidad de Suelos. Programa de graduados. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 69 p.

Mendoza, V. R. 1986. Respuesta del maíz (Zea mays L.) variedad Lucio Blanco (AN-361) a la inoculación de Azospirillum lipoferum, A. brasilense y Azospirillum sp. en Derramadero, Coahuila. Tesis de M.C. Especialidad de Suelos. Programa de graduados. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, 104 p.

Monzon, M. A. 1983. Estudios sobre la infección de raíces de trigo (Triticum aestivum) por Azospirillum spp. Rev. Facultad de Agronomía. 4 (3): 283-389. México.D.F.

Moreno, O. A. 1982. Manual sobre inoculación y revestimiento de semillas de leguminosas. División de Centros Demostrativos y de Capacitación. Boletín Informativo. FIRA. 13(128). México D.F.

Nienhuis, J. and S. P. Singh. 1986. Combining ability analyses and relationships among yield, yield components, and architectural in dry bean. Crop Sci. 26:21-27.

Peña, C. E. 1984. Obtención de mutantes estreptomycin resistentes de Rhizobium phaseoli. Tesis de M.C.

Especialidad de Suelos. Programa de Graduados. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 85 p.

Pérez, T. H. 1975. Comparación de rendimientos económicos en asociación maíz - frijol. Tesis profesional. U de G., Guadalajara, Jalisco. 90 p.

Pichardo, E. J. 1980. Obtención de energía mediante la digestión de estiércol de vaca. Tesis profesional. ENEP-Cuautitlán, Méx. UNAM, México, D.F. 95 p.

Platero, H. O. 1975. Análisis de rendimiento económico en asociación maíz - frijol en Chapingo, México. Tesis profesional. ENA. Chapingo, México. 75 p.

Solórzano, V. E. 1977. Estudio del cultivo asociación maíz - frijol bajo condiciones de temporal en El Llano, Aguascalientes tesis profesional. ENA. Chapingo, México. 61 p.

Tarrand, J. J., Krieg, N. R. y Dobereiner, J. 1978. A taxonomic study of the Spirillum lipoferum group with descriptions of the new genus. Azospirillum gen. nov. and two species, Azospirillum lipoferum (Beijernick) Comb. nov. and Azospirillum brasilense sp. nov. Canadian Journal of Microbiology. 24: 967-980 p.

Vidal, M. V. A. 1980. La asociación e intercalado de maíz - frijol una alternativa de producción en la región costera del estado de Nayarit. Tesis profesional. Universidad Autónoma de Nayarit. Tepic, Nay. 77p

Waksman, S. A. 1963. Soil Microbiology. Universidad de Londres. Londres, Inglaterra. 125 p.

Whyte, R. O., Nilsson-Leissner, G. y Trumble, H. C. 1955. Las leguminosas en la agricultura. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma; Italia. (FAO- Estudios Agropecuarios Núm. 21).

A P E N D I C E

00531

U.A.A.A.N.

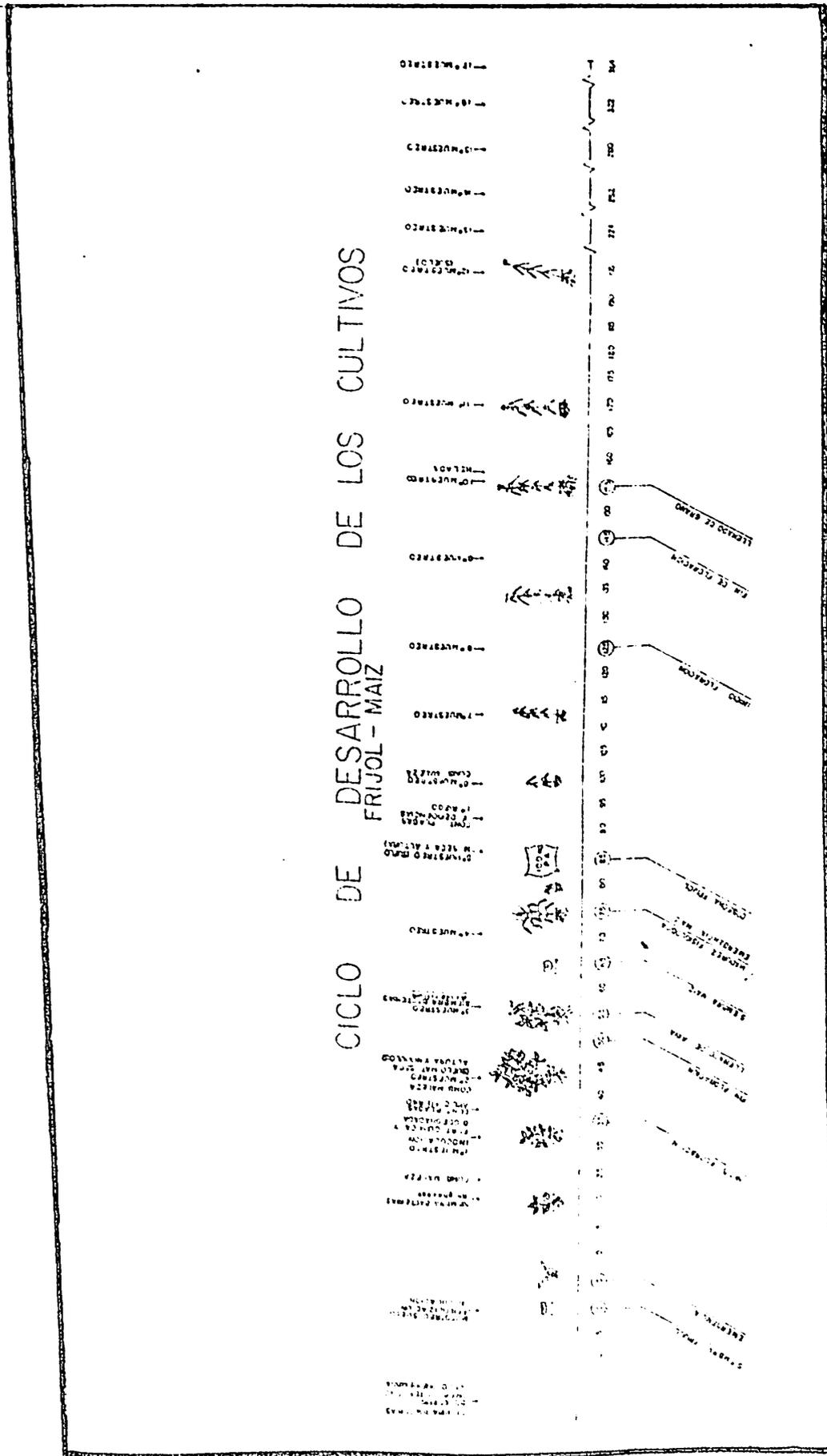
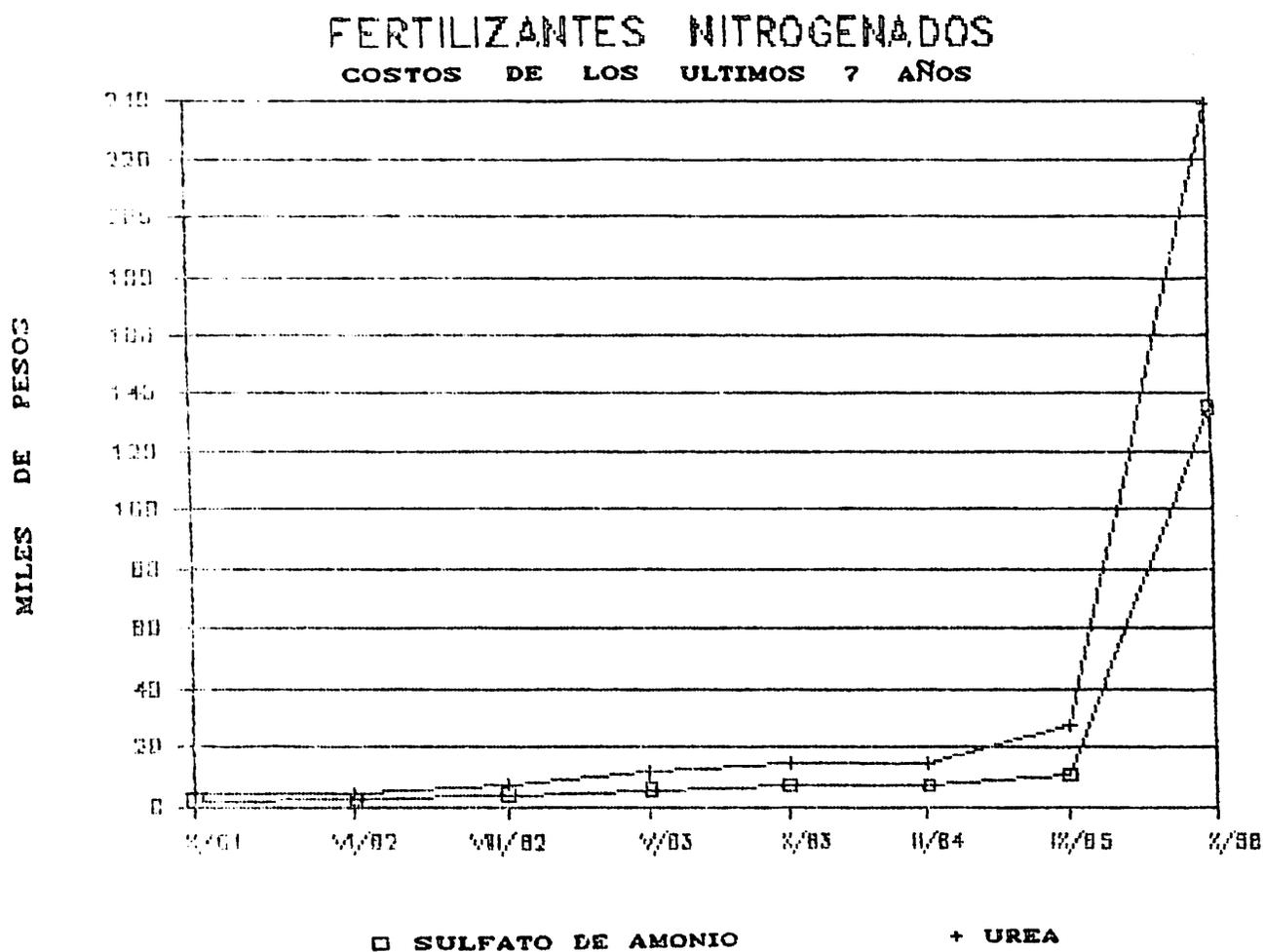


FIGURA A1. Descripción cronológica del desarrollo del experimento de estimaciones bacterianas.

CUADRO A2 Análisis del fertilizante líquido proveniente de la fermentación anaeróbica del estiércol de bovino. Martínez 1982.

Sólidos Totales	0.42	g/l
Humedad	999.58	g/l
pH	7.35	
Nitrógeno Orgánico	0.053	g/l
Nitrógeno Total	0.1162	g/l
Nitrógeno Nítrico	0.0750	g/l
Nitrógeno de urea	0.0176	g/l
Nitrógeno Amoniacal	no detectado	
Cenizas	0.260	g/l
Azufre Total	0.0009	g/l
Cloruros	0.046	g/l
Fósforo	0.0011	g/l
Potasio	0.0447	g/l
Calcio	0.024	g/l
Magnesio	0.034	g/l
Fierro	0.0021	g/l
Cobre	0.01104	g/l
Manganeso	0.013	g/l
Zinc	0.00303	g/l
Boro	no detectado	
Cobalto	no detectado	
Molibdeno	no detectado	



GRAFICA A3 Costo de dos de los fertilizantes nitrógenados químicos más importantes por su consumo a nivel nacional.