



# *Especificidad de Rhizobium spp. en la Nodulación y Fijación de Nitrógeno en Caraotas (Phaseoli vulgaris)\**

R. AVILA LOZANO\*\*

## RESUMEN

Un grupo de campos comerciales de dos áreas productoras de caraotas fueron muestreados para determinar la presencia de *Rhizobium phaseoli*. Se encontraron nódulos aparentemente eficientes en 5 de los 7 campos muestreados.

En ensayos realizados bajo condiciones de invernadero durante los meses de verano y otoño, se estudió un grupo de cuatro linajes locales de los campos muestreados más tres linajes comerciales para determinar su eficien-

---

\* Recibido para su publicación el 3-2-70.

\*\* Ing. Agr. Profesor de Agricultura General, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Apartado 526, Maracaibo, Venezuela.

cia en simbiosis con tres variedades de *Phaseolus vulgaris*. Hubo diferencias significativas en fijación de nitrógeno entre los linajes de *Rhizobium phaseoli* y sus interacciones con genotipos de caraotas.

La efectividad de los linajes varió de uno a otro, cuando fueron sujetos a diferentes condiciones ambientales. Las temperaturas altas afectaron negativamente todos los linajes.

Los linajes que produjeron álcali en medio de cultivo fueron significativamente menos eficientes que aquellos que produjeron ácido.

La producción de materia seca para los tratamientos con los linajes más eficientes y bajo condiciones ambientales favorables fue substancialmente menor que para el tratamiento fertilizado con nitrógeno.

#### ABSTRACT

Commercial fields from two bean producing areas were sampled to study the presence of *Rhizobium phaseoli*. Nodules apparently efficient were found in 5 out of 7 fields sampled.

In greenhouse studies, during the summer and fall months, four isolates from the sampled fields and tree commercial strains were studied to determine their efficiency in symbiosis with three varieties of *Phaseolus vulgaris*. There were significant differences in nitrogen fixation among the *Rhizobium phaseoli* strains and their interactions with bean genotypes.

Strain efficiency varied with environmental conditions. High temperatures affected negatively strains behavior.

Alkali producer strains were significantly less efficient than those producing acid in culture medium.

Dry matter production was considerably higher in the nitrogen fertilized treatment than in the inoculated treatments.

#### INTRODUCCION

Uno de los mejores ejemplos en la naturaleza de cooperación mutua, está representado por la asociación entre plantas leguminosas y la bacteria formadora de nódulos en las raíces (*Rhizobium* spp.). La planta suministra los carbohidratos necesarios para el metabolismo de la bacteria. Esta última usa estos carbohidratos como fuente de energía para cambiar el nitrógeno libre de la atmósfera del suelo en una forma asimilable por la planta, la cual usa este nitrógeno fijado para producir proteína.

En condiciones ambientales óptimas, las bacterias del suelo pueden suplir de 50 a 100 por ciento del nitrógeno total utilizado en el crecimiento

de la leguminosa<sup>1</sup>. Junto con la economía en fertilizante, se ha reportado un mejoramiento considerable en calidad en varios cultivos, al comparar tratamientos inoculados con tratamientos no inoculados<sup>1, 14</sup>. Esta simbiosis, aunque aparentemente sencilla, es bastante compleja, parcialmente debido a los requerimientos específicos de la bacteria, los cuales no siempre son los mismos requerimientos de la planta para su mejor desarrollo.

No todos los linajes de *Rhizobium* son igualmente eficientes. Especificidad con la planta hospedera y variación en factores ambientales pueden determinar apreciablemente el grado de éxito de la simbiosis. Esto ha sido demostrado en leguminosas en general, y el hecho de que las plantas de caraotas han mostrado estar entre las leguminosas menos eficientes en fijación de nitrógeno<sup>6</sup>, sugiere que variación entre linajes y condiciones ambientales pudieran estar estrechamente relacionados con tal ineficiencia.

El propósito del presente trabajo fue investigar algunos de los factores que influyen la fijación de nitrógeno en caraotas, estudiando la especificidad entre variedades de *Phaseolus vulgaris* y linajes de *Rhizobium phaseoli*, usando linajes comerciales y linajes aislados de dos áreas productoras de caraotas en el estado de California, USA.

#### REVISION DE LITERATURA

La nodulación en caraotas ha sido ampliamente estudiada. Sin embargo, se encuentran frecuentemente resultados contradictorios en la literatura, haciendo necesario más trabajo para obtener resultados más consistentes, de modo de poder determinar las verdaderas implicaciones de ciertos factores sobre el problema de fijación de nitrógeno en este cultivo.

Los beneficios más aparentes en la simbiosis bacteria-leguminosa son: un aumento en rendimiento, el cual algunos investigadores han estimado entre 15 y 25%<sup>1, 6</sup> y un mejoramiento en calidad, el cual puede estar reflejado en un incremento en el contenido de proteína en el producto cosechado o en una reducción en el número de frutos perdidos<sup>14</sup>.

Estudios sobre la cantidad de nitrógeno fijado por diferentes leguminosas muestran que las plantas de caraotas son de las menos eficientes<sup>6, 15</sup>.

Las razones de la baja eficiencia de las plantas de caraotas en fijar nitrógeno han sido buscadas tanto en ensayos de campo como en el laboratorio. Masfield<sup>9</sup> observó que las plantas inoculadas con *Rhizobium* no siempre superaban en rendimiento a las plantas no inoculadas, y que frecuentemente es posible encontrar plantas sin nódulos. Un estudio hecho por Burton y colaboradores<sup>1</sup> mostró que, desde un punto de vista práctico, *Rhizobium phaseoli* no era abundante en ninguno de los suelos estudiados en el medio-oeste estadounidense. Además, sólo 12 de los 85 linajes de bacteria aislados fueron considerados altamente eficientes.

Estos estudios de campo sugieren que el fracaso de las plantas de caraotas en fijar nitrógeno eficientemente puede estar asociado con la ausencia de *Rhizobium phaseoli* en algunos suelos o a la ineficiencia de aquellos linajes presentes.

Estudios más específicos usando distintos genotipos de diferentes leguminosas e inoculando éstos con linajes identificados de sus respectivas bacterias han demostrado que existe especificidad entre la planta hospedera y la bacteria.

Existe suficiente evidencia en la literatura acerca del efecto del genotipo sobre la eficiencia de la simbiosis; la mayoría del trabajo habiendo sido hecho con leguminosas forrajeras y soya. Nutman<sup>11, 12</sup>, trabajando con trébol rojo, Gibson<sup>8</sup> con alfalfa y B'air<sup>2</sup> con alfalfa y trébol blanco, observaron especificidad entre esos cultivos y sus respectivas rizobias. Nutman demostró que la eficiencia en su material de trébol rojo estaba determinada por un gen recesivo. Franco y Dobereiner<sup>7</sup> y Caldwell y Vest<sup>4</sup> han reportado interacciones entre genotipos de soya y linajes de *Rhizobium japonicum*. Dobereiner y colaboradores<sup>5</sup> encontraron especificidad entre variedades de caraotas y linajes de *Rhizobium phaseoli*. Norris<sup>10</sup>, durante trabajos de inoculación cruzada, usando 55 linajes aislados de *P. vulgaris*, encontró que la eficiencia de los linajes estaba asociada con la producción de ácido en medio de cultivo. Los linajes productores de álcali resultaron ser completamente ineficientes.

El número de nódulos, volumen y peso de los mismos, frecuentemente usados como indicativos de eficiencia, es otro aspecto controversial, ya que se han encontrado linajes ineficientes superando a linajes eficientes en tales medidas. Ruf y Sarles<sup>13</sup> observaron que los linajes eficientes producían pocos nódulos pero relativamente grandes, distribuidos alrededor de la corona, mientras los linajes ineficientes tendían a producir nódulos pequeños en gran número, distribuidos a lo largo de todo el sistema radical.

A través de la literatura revisada, puede deducirse que los linajes de bacteria varían en su comportamiento en sus asociaciones con diferentes genotipos. La escasez de trabajos de esta índole en caraota justifican la realización de este trabajo.

## MATERIALES Y METODOS

Se realizaron dos ensayos bajo condiciones de invernadero. Un ensayo preliminar con el objetivo de tener una idea general acerca de la respuesta de las caraotas a la inoculación con *Rhizobium* y un segundo ensayo para estudiar la especificidad entre genotipos de *Phaseolus vulgaris* y linajes de *Rhizobium phaseoli*.

Se realizó un muestreo de campos cultivados con caraotas. La mayoría de los campos mostró bajos niveles de nitrógeno, en forma de nitrato.

tanto en las hojas como en los pecíolos de las plantas analizadas (menos de 200 ppm  $\text{NO}_3\text{-N}$  en láminas foliares), por el método del ácido fenoldisulfónico<sup>16</sup>. Las raíces de las plantas provenientes de los campos muestreados fueron lavadas. Después de lavadas, los nódulos más grandes y aparentemente más vigorosos fueron removidos usando pinzas y sumergidos en una solución de cloruro mercúrico al 0.1 por ciento para prevenir posibles contaminaciones externas. El exceso de cloruro mercúrico fue lavado con agua destilada esterilizada. Luego, los nódulos fueron triturados con pinzas estériles, transferidos a una gota de agua destilada y esparcidos sobre platos de petri conteniendo un medio de agar-levadura-manitol-sales nutritivas. Se aislaron 18 colonias provenientes de 18 nódulos. Los nódulos fueron obtenidos de 5 de los 7 campos muestreados. Los otros dos campos no presentaron nódulos. Estas colonias fueron cultivadas en agar y mantenidas como linajes específicos de los diferentes campos muestreados y varias de ellas usadas en el ensayo de especificidad entre genotipos y linajes.

### **Ensayo preliminar (Verano 1969)**

Se usó un diseño experimental de bloques al azar con cinco repeticiones. Los tratamientos usados fueron:

Linajes de *Rhizobium*: linajes comerciales 127K29, 127K30, 127K33, suministrados por Nitragin Co., Milwaukee. Un control y un tratamiento fertilizado con nitrógeno completaron el total de tratamientos.

### **Variedad: Light Red Kidney.**

Las plantas fueron mantenidas en potes plásticos, conteniendo 2.8 Kg de un suelo franco-arenoso. El contenido de humedad y la capacidad de campo del suelo fueron determinados, siendo los mismos 3% y 24%, respectivamente. Un nivel apropiado de humedad (cerca a la capacidad de campo) se mantuvo durante el período de crecimiento, mediante pesaje de los potes periódicamente y añadiendo las cantidades necesarias de agua destilada.

Las semillas fueron inoculadas unos minutos antes de la siembra usando una suspensión del crecimiento de las colonias, usando para ello unos 5 ml de agua destilada, y sumergiendo las semillas en esta suspensión. De la turbidez de la suspensión se estimó que la rata de inoculación fue del orden de  $10^8$  a  $10^9$  células/semilla. Se sembraron seis semillas/pote y después de la germinación se hizo un raleo para dejar tres plantas/pote. En algunos potes el número de plantas fue solamente de 1 a 2 debido a problemas de germinación de la semilla.

Se aplicaron 2 ml/pote de una solución de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  0,5M y 5 ml/pote de una solución de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1M, como tratamiento general. Diez ml/pote

de una solución de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1M fueron aplicados como el tratamiento nitrogenado.

No hubo control de temperatura en el invernadero, y ésta varió en el suelo desde 18-23°C en la mañana hasta 32-38°C en la tarde, durante el desarrollo del ensayo.

El experimento fue cosechado 6 semanas después de sembrado. Pecíolo, tallos y hojas fueron separados en bolsas de papel, secados durante dos días a 70°C, pesados y pulverizados. El nitrógeno total fue determinado por el método Kjeldahl. Las raíces fueron lavadas para eliminar el suelo adherido a las mismas, refrigeradas en bolsas plásticas y 1 a 2 días después se hizo el conteo de nódulos, tomando en consideración su posición (proximal y distal). Solamente los nódulos proximales, es decir, aquellos localizados dentro de 5 cm. de distancia de la corona, fueron incluidos en el análisis estadístico, asumiendo que los linajes eficientes de *Rhizobium* tienden a concentrarse alrededor de la corona. Un conteo más preciso fue hecho de los nódulos proximales, teniéndose un estimado del resto de los nódulos.

#### **Ensayos de genotipos x linajes (Otoño 1969)**

El diseño experimental fue en bloques al azar, en arreglo factorial, con 3 replicaciones. Los tratamientos usados fueron:

#### **Varietades: Light Red Kidney y Pinto Beans.**

*Linajes de Rhizobium:* Linajes comerciales 127K30 y 127K33, más los linajes locales Nos. 1, 2, 3, 4, provenientes de áreas productoras de ca-raotas en Chico y Stockton, California, U.S.A., los cuales fueron seleccionados por ser los de mejor crecimiento en medio de cultivo. Un tratamiento nitrogenado y un control completaron el total de tratamientos.

Las semillas fueron inoculadas en la misma forma que en el ensayo preliminar. Las plantas fueron mantenidas en potes plásticos usando la misma cantidad y tipo de suelo que en el ensayo preliminar.

Se mantuvo un nivel apropiado de humedad a través del ensayo, mediante pesaje periódico de los potes y añadiendo agua destilada en la cantidad necesaria.

Se hizo un raleo para dejar 3 plantas/pote una semana después de la germinación de las semillas. Se usaron las mismas cantidades de  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{SO}_4$  y  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , usadas en el ensayo preliminar en este trabajo.

La temperatura dentro del invernadero se mantuvo entre 18-24°C durante el desarrollo del ensayo.

El número de nódulos (proximal y distal), peso seco de las partes aéreas y contenido de nitrógeno de las hojas fueron determinados a la quinta semana de crecimiento.

La primera señal de fijación y deficiencia de nitrógeno fueron observadas alrededor de la tercera semana de crecimiento. Al momento de la cosecha, las partes aéreas fueron divididas en pecíolos, láminas foliares y tallos, secadas por 3 días a 50°C y pesadas. El contenido de nitrógeno fue determinado en láminas foliares por el método de Kjeldhal. Las raíces fueron lavadas para eliminar el suelo adherido a las mismas, refrigeradas en bolsas plásticas y 1 a 2 días después se hizo el contaje de nódulos.

En este experimento solamente se determinó nitrógeno en las hojas. debido a que un análisis de regresión hecho con los datos del ensayo preliminar mostró una correlación casi perfecta entre el contenido de nitrógeno en las hojas y el nitrógeno total correspondiente a este estado de crecimiento (Tabla 1).

TABLA 1. Análisis de Regresión sobre Contenido de Nitrógeno. Ensayo Preliminar.

Variable x	Variable y	Coeficiente de regresión		Error standard	R(x,y)	Fracción de varianza re- movida
		a	b			
Tallos	Total	2.065	8.823	18.466	0.922	0.85
Hojas	Total	1.919	1.224	4.223	0.996	0.99
Pecíolos	Total	10.162	8.158	23.170	0.874	0.76

## RESULTADOS

### Ensayo preliminar (Verano 1969)

Bajo las condiciones del ensayo, los tres linajes comerciales fueron bastante ineficientes, ya que no hubo diferencias significativas entre éstos y el control en producción de materia seca o en contenido de nitrógeno (Tabla 3). Todos los tratamientos fueron significativamente inferiores al tratamiento nitrogenado en lo referente a producción de materia seca y contenido de nitrógeno.

El linaje 127K30 produjo un número de nódulos significativamente superior a los otros tratamientos (Tabla 3). Sin embargo, esto no se reflejó en un aumento proporcional de materia seca producida ni en el contenido de nitrógeno. En general, el número de nódulos en todos los tratamientos fue

muy bajo, en comparación con el observado en una nodulación normal en caraotas.

Debido a que los linajes comerciales fueron recibidos como unos de los más eficientes disponibles, es lógico asumir que varios factores estuvieron interfiriendo con su eficiencia en este ensayo. Entre estos factores, se asumió que la falta de especificidad entre linajes de *Rhizobium phaseoli* y la variedad usada pudo ser el factor que más afectó tal ineficiencia. Otro factor que pudo afectar el comportamiento de la bacteria fue la temperatura, la cual estuvo por encima del óptimo para una buena nodulación y fijación de nitrógeno. Sobre estas hipótesis fueron planificados ensayos sobre especificidad entre linajes de bacteria y genotipos de caraotas y sobre efectos de la temperatura sobre la nodulación y fijación de nitrógeno.

En la Tabla 2 puede verse que el coeficiente de variabilidad para el número de nódulos (99.17%) y contenido de nitrógeno (64.24%) fueron anormalmente altos. Esto no es un caso raro en estudios de nodulación en caraotas. Masfield<sup>9</sup> ha reportado coeficientes de variabilidad en el rango de 37.8 a 99.5% en el mismo cultivo, y consideró que esto es debido a diferencias genéticas entre una planta y otra. Dos o tres plantas, bastante noduladas o sin ningún nódulo, pueden contribuir grandemente a un error standard elevado, y tales plantas son encontradas frecuentemente en caraotas.

La variedad usada, Light Red Kidney, es considerada de muy baja variabilidad genética (Tucker, comunicación personal). De tal modo, que estos coeficientes de variabilidad anormalmente altos, pudieron ser debidos a un comportamiento errático de la bacteria como consecuencia de factores ambientales adversos.

TABLA 2. Análisis de Varianza (Valores F) de Nódulos Proximales, Producción de Materia Seca y Contenido de Nitrógeno. Ensayo Preliminar.

Fuente de variación	Grados de libertad	Nódulos proximales. F	Materia seca F	Contenido de nitrógeno F
Bloques	4	0.85 ns	6.33 **	2.56 ns
Linajes	4	8.63 **	27.75 **	8.48 **
Error	15	—	—	—
Total	23	—	—	—
C.V.	—	99.17 %	26.76 %	64.26 %



TABLA 3. Media de Linajes. Ensayo preliminar

Linajes	Nódulos proximales por planta	Materia seca g/planta	Contenido de nitrógeno mg/planta
Control	3.62 b	1.456 b	22.8 b
Nitrógeno	0.06 b	4.537 a	93.6 a
127K29	11.00 b	1.417 b	22.6 b
127K30	47.33 a	1.773 b	34.2 b
127K33	10.56 b	1.463 b	16.4 b
MDS (05)	15.96	0.636	27.1

**Ensayo de genotipos x linajes (Otoño 1969)**

Se detectaron diferencias significativas en nodulación y fijación de nitrógeno entre los linajes de bacteria, las variedades y sus interacciones (Tabla 4). Las variedades Light Red Kidney y Dark Red Kidney fueron significativamente superiores a la variedad Pinto Beans en número de nódulos, producción de materia seca y contenido de nitrógeno (Tabla 5). Esta situación difiere de aquella encontrada normalmente en el campo (en relación a producción de materia seca), donde el desarrollo vegetativo de la variedad Pinto Beans es más exuberante que el de las variedades Light Red Kidney y Dark Red Kidney (Tucker, comunicación personal).

El linaje local 4 produjo un número de nódulos significativamente superior al producido por el resto de los tratamientos. No hubo diferencias significativas en este respecto entre los otros tratamientos (Tabla 6).

TABLA 4. Análisis de Varianza (Valores F) de Nódulos Proximales, Materia Seca Producida y Contenido de Nitrógeno. Ensayo sobre Genotipos x Linajes.

Fuente de variación	Grados de libertad	Nódulos proximales por pote	Materia seca por pote	Contenido de nitrógeno en hojas/pote
Variedades	2	27.15 **	11.06 **	5.03 *
Linajes	7	47.28 **	57.25 **	23.00 **
Variedad x Linaje	14	2.72 **	1.64 ns	1.21 ns
Bloques	2	1.38 ns	0.94	5.52 **
Error	46	—	—	—
Total	71	—	—	—
C.V.	—	24.18%	18.08%	23.68%

TABLA 5. Medias de Genotipos. Ensayo sobre Genotipos x Linajes.

Genotipos	Nódulos proximales por pote	Materia seca g/pote	Contenido nitrógeno en hojas mg/pote
Dark Red Kidney	89.7 a	5.014 a	185.9 a
Pinto Beans	116.3 b	4.111 b	151.2 b
Ligth Red Kidney	190.3 a	5.205 a	180.5 a
MDS (05)	19.4	0.418	19.8

El tratamiento nitrogenado fue significativamente superior al resto de los tratamientos en producción de materia seca y contenido de nitrógeno. Todos los tratamientos inoculados fueron significativamente superiores al control en producción de materia seca y contenido de nitrógeno. Hubo diferencias significativas entre los tratamientos inoculados, apareciendo el linaje comercial 127K30 y los linajes locales 1 y 4 como los más promisoros entre el grupo de linajes utilizados en el presente ensayo (Tabla 6).

TABLA 6. Medias de Linajes. Ensayo sobre Genotipos x Linajes

Linajes	Nódulos proximales por pote	Materia seca g/pote	Contenido nitrógeno en en hojas mg/pote
Control	38.3 c	3.131 e	64.0 e
Nitrógeno	4.8 d	10.020 a	291.8 a
Linaje 1	215.8 b	4.132 bc	168.2 cd
Linaje 2	189.9 b	3.990 cd	154.7 d
Linaje 3	216.2 b	3.951 cd	150.7 d
Linaje 4	256.4 a	4.688 b	214.6 b
Linaje 127K30	214.9 b	4.544 bc	193.3 bc
Linaje 127K33	187.1 b	3.757 d	143.1 d
MDS (05)	31.7	0.682	32.4

Resultados interesantes aparecen en las interacciones variedades x linajes, los cuales muestran que los diferentes linajes varían en eficiencia, dependiendo de la variedad con la cual están en simbiosis. Estas especificidades pueden ser fácilmente observadas en las simbiosis siguientes:

- 1) Número de nódulos en la simbiosis linaje local 4 x Light Red Kidney, el cual fue significativamente superior al resto de los tratamientos (Fig. 1) Este mayor número de nódulos estuvo asociado con mayor producción de materia seca y contenido de nitrógeno, en comparación con los demás tratamientos inoculados y el control (Figs. 2 y 3).

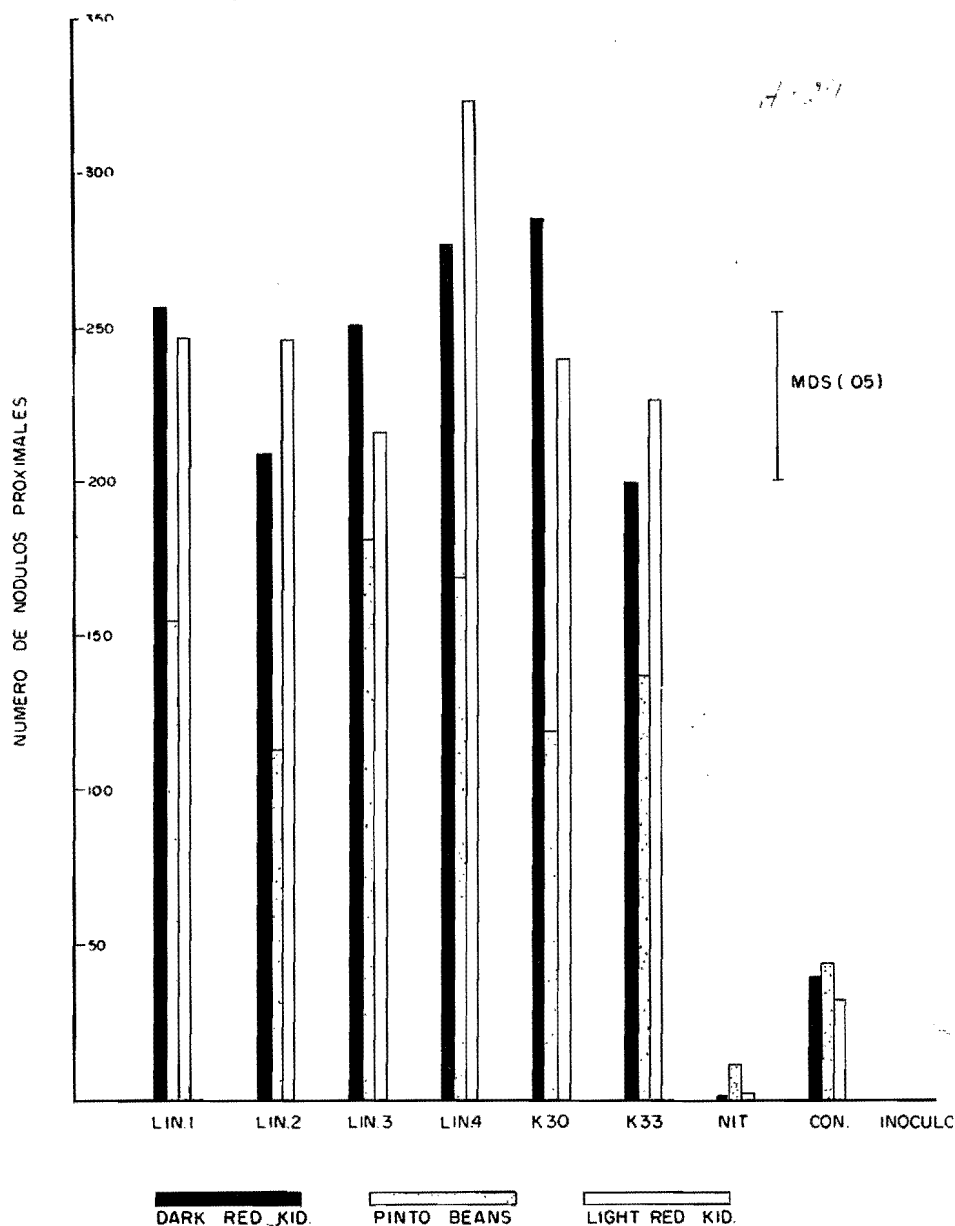


FIG. 1. Número de nódulos proximales producidos por las simbiosis genotipos x linajes.

- 2) Una interacción típicamente ineficiente es encontrada en el linaje 127K33 y Light Red Kidney, la cual fue inferior al control, aunque no significativamente, en producción de materia seca (Fig. 2).
- 3) No hubo diferencias en producción de materia seca o contenido de nitrógeno entre ninguno de los linajes en simbiosis con Pinto Beans (Figs. 2 y 3).

De los resultados arriba citados y de las figuras 1, 2 y 3, puede concluirse que existen interacciones claras entre las variedades de caraotas y los linajes de *Rhizobium* usados en el experimento, habiéndose encontrado una gama de simbiosis eficientes, moderadamente eficientes e ineficientes.

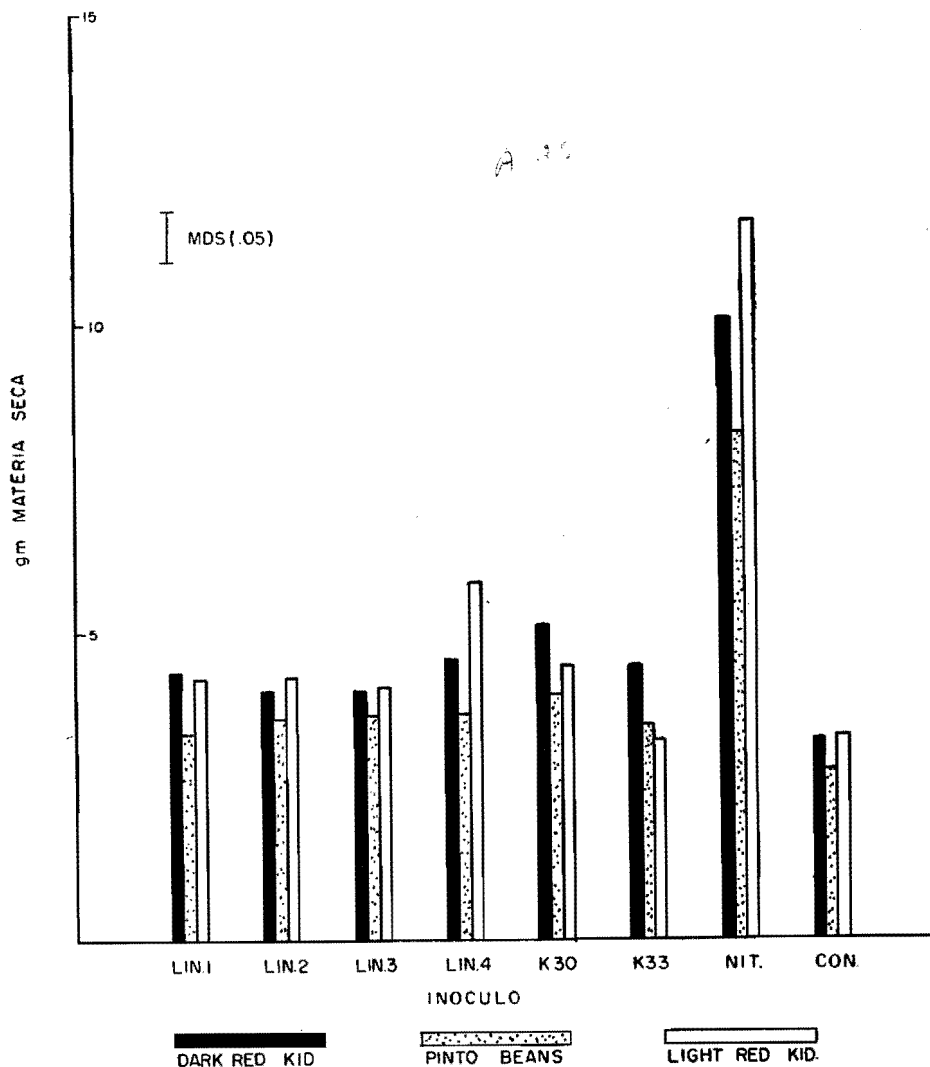


FIG. 2. Materia seca producida por la simbiosis genotipos x linajes.

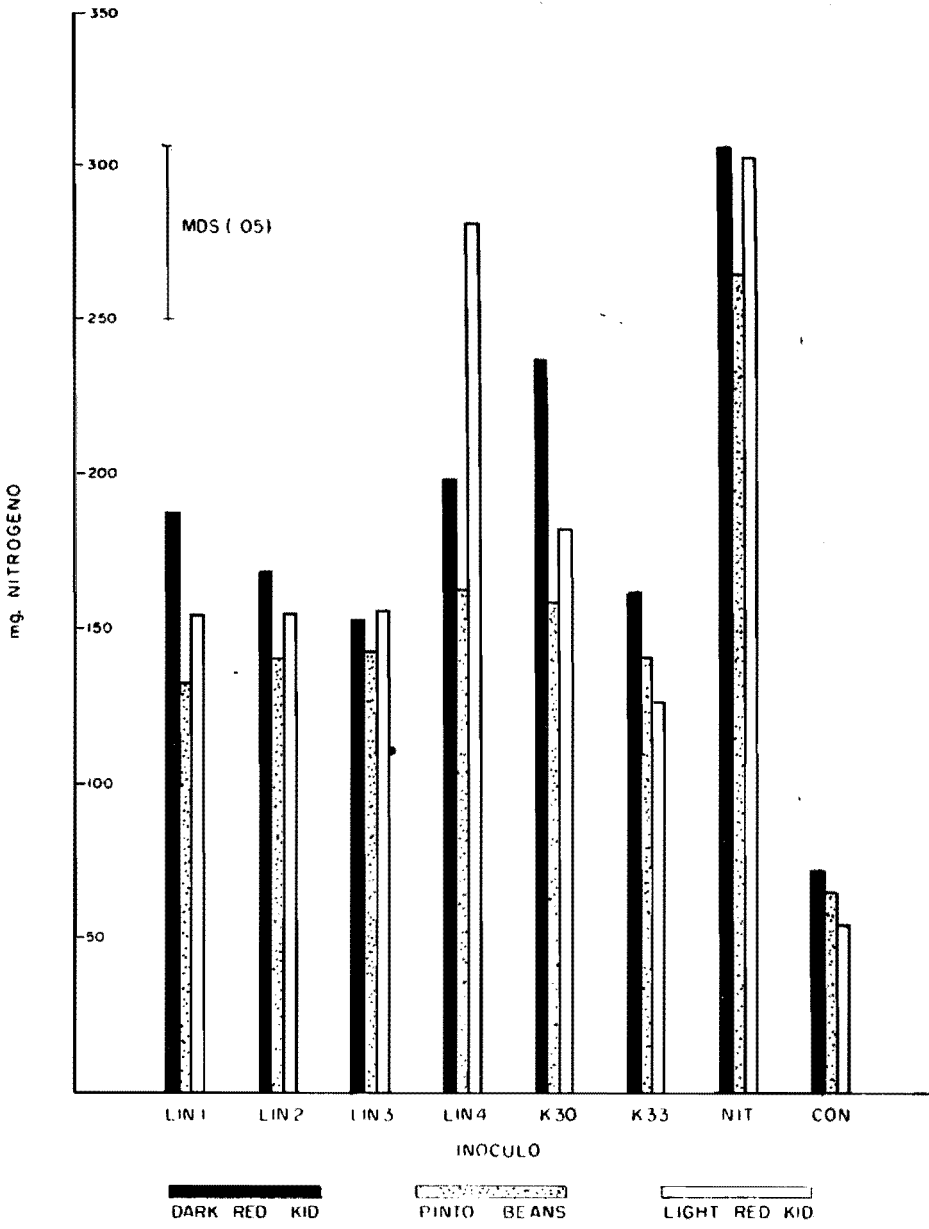


FIG. 3. Contenido de nitrógeno en hojas de las simbiosis genotipos x linajes.

## DISCUSION

De los dos experimentos realizados y el muestreo de campos cultivados con caraotas, puede deducirse lo siguiente:

- 1) Linajes de *Rhizobium phaseoli* se encuentran presentes en la mayoría de los campos muestreados, pero no en todos ellos.
- 2) El grupo de linajes locales probados, es decir, la bacteria presente en estos campos varía ampliamente en eficiencia.
- 3) Existe una clara especificidad entre ciertos genotipos de *Phaseolus vulgaris* y linajes de *Rhizobium phaseoli*.
- 4) La producción de ácido o álcali en medio de cultivo, postulada por Norris<sup>10</sup>, como indicativo del proceso evolutivo del sistema bacteria/plantas hospederas, encuentra cierto apoyo en estos ensayos, ya que los linajes 127K29 y 127K33, ambos bastante ineficientes, fueron los únicos produciendo álcali en el medio de cultivo. Los más eficientes fueron productores de ácido.
- 5) La eficiencia es reducida considerablemente a altas temperaturas, como puede verse al comparar el comportamiento del linajes 127K30 en el ensayo preliminar, donde no se controló la temperatura y en el ensayo con temperatura controlada. Esto ha sido comprobado recientemente en un ensayo sobre efecto de la temperatura en la nodulación y fijación de nitrógeno en caraotas, con los mismos linajes usados en este experimento (Munns y Avila Lozano, datos inéditos).
- 6) Ninguno de los linajes probados parece ser capaz de suplir todo el nitrógeno necesario para el desarrollo óptimo de la planta de caraota. Sin embargo, el grado de variación entre linajes sugiere la posibilidad de obtener mayor producción de materia seca y contenido de nitrógeno, mediante selección de linajes más eficientes.

Cada una de estas situaciones pudiera formar un esquema de trabajo para futuras investigaciones, así mismo ser útil a extensionistas agrícolas y productores de caraotas. Desde el punto de vista de investigación, la especificidad de las variedades más comúnmente sembradas con los diferentes linajes disponibles, debe ser determinada, de manera de seleccionar las simbiosis más eficientes. Estas selecciones deben ser hechas bajo las mismas condiciones ambientales (temperatura, precipitación, etc.) en las que crecerán las plantas comercialmente y deben ser incluidas en cualquier programa de mejoramiento de caraotas como una variable o factor más que limita la optimización del rendimiento.

La confirmación de la teoría de Norris acerca de la producción de ácido o álcali en medio de cultivo tendría considerable importancia, ya que se aho-

rraría tiempo en las pruebas de linajes, al reducir el número de linajes a ser probado en el invernadero y en el campo.

Existe un vacío en la literatura revisada en relación con la evaluación del rendimiento de caraota a través de la producción de materia seca y del contenido de nitrógeno a las 4-6 semanas de crecimiento en lugar de hacerlo por la producción de granos. Probablemente este es un vicio acumulado por la influencia de la tremenda cantidad de trabajo hecho con leguminosas de grano pequeño, tales como alfalfa, trébol, etc., donde la producción de materia seca es de primera importancia y la producción de semilla es secundaria. Sin embargo, en caraota, donde el producto utilizado será el grano seco o la vaina verde, el efecto de la nodulación debe ser evaluado llevando las plantas hasta fructificación completa. De manera que deben realizarse estudios para determinar la correlación entre materia seca producida en un estado temprano de desarrollo y el rendimiento en vainas o semillas, a fin de obtener información confiable.

#### LITERATURA CITADA

- 1 Allen, O.N. 1949. Inoculate legumes, it pays. Agr. Exp. Sta. Bull. 484. University of Wisconsin, Madison.
- 2 Blair, I.D. 1967. Studies on *Rhizobium* strains. I. *Rhizobium trifolii*. N.Z. Jl. Agric. Res. 10: 237-252.
- 3 Burton, J.C., O.N. Allen, and K.C. Berger. 1952. The prevalence of strains of *Rhizobium phaseoli* in some Midwestern soils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 16: 167-170.
- 4 Caldwell, B.E., and G. Vest. 1968. Nodulation interaction between soybean genotypes and serogroups of *Rhizobium japonicum*. Crop. Sci. 8: 680-682.
- 5 Dobereiner, J. 1966. Especificidade hospedeira em variedades de soja, na simbiosis com *Rhizobium*. Pesq. Agrop. Bras. 1: 207-210.
- 6 Erdman, L.W. 1959. Legume inoculation: what it is, what it does. Fmrs. Bull. Usda. No. 2003.
- 7 Franco, A., and J. Dobereiner. 1967. Especificidade hospedeira na simbiosis com *Rhizobium* — Feijao e influencia da diferentes nutrintes. Pesq. Agrop. Bras. 2: 467-474.
- 8 Gibson, A.H. 1962. Genetic variation in the effectiveness of nodulation of lucerne varieties. Aust. J. Agric. Res. 13: 388-399.
- 9 Masefield, G.B. 1952. The nodulation of annual legumes in England and Nigeria: preliminary observations. Empire J. of Exptl. Agric. 20: 175-186.
- 10 Norris, D.O. 1965. Acid production by *Rhizobium* a unifying concept. Plant and Soil 22: 143-165.
- 11 Nutman, P.S. 1954. Symbiotic effectiveness in nodulated red clover. I. Variation in host and bacteria. Heredity 8: 35-46.
- 12 Nutman, P.S. 1957. Symbiotic effectiveness in nodulated red clover. III. Further studies on inheritance of effectiveness in the host. Heredity 11: 157-173.
- 13 Ruf, E.W. and W.B. Sarles. 1937. Nodulation of soybeans in pot culture by effective and ineffective strains of *Rhizobium japonicum*. Jour. Amer. Soc. Agron. 29: 724-727.

- 14 Shimeshi, D., J. Schiffmann. Y. Host, H. Bielorai, and Y. Alpert. 1967. Effect of soil moisture regime on nodulation of inoculated peanuts. *Agron J.* 59: 397-400.
- 15 Stewart, W.D.P. 1966. Nitrogen fixation in plants. University of London. The Athlone Press. London.
- 16 Ulrich, A., F.J. Hills. D. Ririe. A.G. George, and M.D. Morse. 1959. Plant analysis... a guide for sugar beet fertilization. Analytical methods for use in plant analysis. *Calif. Agr. Exp. Sta. Bull.* 766.