

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Sustentabilidad de un cultivo de frijol ejotero (Phaseolus vulgaris L.) en invernadero, biofertilizado con rizobios nativos del Estado de Morelos y Sur del Distrito Federal.

T E S I S

Que para obtener el título de:

Biólogo

PRESENTA:

Gerson Peñaloza Elías

DIRECTOR:

M. en C. Sergio Palacios Mayorga 2014

Ciudad Universitaria, D. F.







UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A G R A D E C I M I E N TO S

Con agrado y honra para

LOS FIELES:

María Teresa Elías Castro

Mario Peñaloza Núñez

MADRE Y PADRE, REFLEJOS DE DIOS Y TESTIMONIOS SUYOS,

A quienes creen en mí

Al Instituto de Geología, Por su Apoyo

Al

M. en C. Sergio Palacios Mayorga Por su Dirección Al

Dr. José Román Latournerie Cervera M. en C. María Julia Carabias Lillo Dra. Irama Silvia Maricela Núñez Tancredi M. en C. Hilda Marcela Pérez Escobedo Lic. Econ. Alma Rosa Estrada Ortega

A la M. en C. Kumico Shimada Miyasaka y al Tec. Acad. René Alcalá Martínez Por los análisis químicos, físico-químicos y físicos de los suelos

M en C. Iris Suárez Quijada Por su apoyo en el control experimental en el Invernadero

Resumen

La estructura alimentaria del mundo capitalista moderno es inconveniente porque, entre otros hechos y argumentos, es indispensable tener dinero para comer, dado que la producción "verde" de sustento depende del petróleo. Esta lógica manifiesta una larga cadena de yerros en la dinámica de obtención de comida, que repercuten crudamente en situaciones socio ambientales como hambre, obesidad, desempleo, crisis, destrucción-alteración de ecosistemas, etc... los que también se relacionan con perturbaciones personales "intangibles" (i. e. espirituales) como avaricia, "superioridad", descalificaciones, egoísmo, etc... Es por lo anterior que en esta tesis se presenta una alternativa real a la problemática del uso de fertilizantes para cultivar alimentos, lo cual resulta novedoso por enmarcarse en un entorno urbano, además de que se hizo con una especie muy poco explorada en estos temas (el frijol ejotero), con una complejidad y resolución elevadas (a nivel de posgrado) y con un enfoque socio ambiental, que alienta un replanteamiento total del modo de pensar y actuar en nuestro entorno y momento inmediatos.

El trabajo se realizó en dos fases (A y B) con dos objetivos distintos: la fase A, se realizó para capturar y aislar diversas cepas de rizobios -naturales de suelos de Xochimilco (X), Magdalena Petlacalco (M), Tehuixtla (T) y Tequesquitengo (Q)-, que colonizaron las raíces de plantas de frijol ejotero (Phaseolus vulgaris L., variedad Strike). Los cepas obtenidas de esta etapa A fueron de adecuada calidad y disponibles en suficiente cantidad. Con ellas se realizó la fase B, que se enfocó en evaluar la capacidad productiva de los rizobios aislados usando la misma variedad de frijol, en un cultivo experimental en invernadero, comparando los siguientes tratamientos: control positivo (+) o con fertilizante agroquímico y rizobios nativos; control negativo (-) o plantas noduladas espontáneamente por los rizobios nativos; tratamiento experimental unicepa (U) o plantas biofertilizadas con una cepa seleccionada; y tratamiento experimental Consorcio (C) o plantas biofertilizadas con varias cepas seleccionadas. En esta fase se evaluaron las siguientes variables fenológicas de respuesta: tiempo de surgimiento de la plántula; senescencia de cotiledones; brote de las hojas primarias, secundarias y terciarias; brote de estructuras florales y momento de la formación del fruto. De modo similar, se observaron las siguientes variables de respuesta relativas a la producción y/o rendimiento de los tratamientos: altura de las plantas; número de ejotes por planta; pesos fresco y seco de los mismos; número de frijoles por vaina, número de cortes por tratamiento; pesos fresco y seco por ejote; número de semillas por ejote y longitud promedio de ejote. Además se analizó la nodulación de las plantas.

Los análisis estadísticos de Tukey, permitieron encontrar efectividad de las cepas aisladas y aplicadas, en el rendimiento de las plantas. Lo anterior se percibió en las siguientes observaciones: la producción del suelo T fue estadísticamente mayor a la de los otros suelos. En los suelos T y X las interacciones de los rizobios aplicados como biofertilizante Consorcio de cepas (TC y XC) produjeron más que la población nativa de rizobios adicionada con el fertilizante químico (T+ y X+, respectivamente). La producción con biofertilizante unicepa en el suelo M (MU), fue más fructífera que con adición del agroquímico (M+). En Q ningún tratamiento se distinguió de Q-. Se encontró efecto de la biofertilización en la altura de las plantas en: CQ, CT, X+, XU, XC; así como en la nodulación en todos los tratamientos.

Lo encontrado apoya la conveniencia de suplir los agroquímicos nitrogenados por biofertilizantes con cepas seleccionadas y se brindan elementos para impulsar la producción de alimentos de modos alternativos tanto en la ciudad como en el campo, y así amortiguar las crisis alimentaria, ambiental, económica y social pues se evidencia que la aplicación de biofertilizantes tiene implicaciones más benéficas que el uso de agroquímicos.

Palabras clave:

Ejote, sustentabilidad, alimento orgánico, biofertilizantes, fijación biológica de nitrógeno, inoculantes.

Tabla de contenido

A G R A D E C I M I E N TO S	2
Resumen	3
Tabla de contenido	4
Introducción. Fijación biológica de nitrógeno, ejote y sustentabilidad	5
Objetivos	
Materiales y Métodos	17
Fase A	
Recolección de suelos.	
Análisis físicos, fisicoquímicos y químicos de los suelos	25
Fase B	30
Inoculante	30
Inoculación de las semillas con cepas seleccionadas	32
Desarrollo del cultivo.	33
Resultados y Discusión	38
Fase A	38
Análisis fisicoquímicos y químicos	39
Evaluación de la nodulación nativa y aislamiento de cepas	42
Fase B	47
Crecimiento de las plantas	47
Rendimiento.	64
Nodulación inducida por los tratamientos probados	87
Consideraciones generales relativas a los resultados	
Fase A	
Fase B	96
CONCLUSIONES	101
Bibliografía	106

Introducción. Fijación biológica de nitrógeno, ejote y sustentabilidad.

México cuenta con una gran cantidad de tradiciones alimenticias originadas del intercambio cultural entre las raíces ancestrales prehispánicas, la dominación española-europea y la llamada "globalización" actual. Una de las consecuencias de esta combinación de saberes, ha generado que ajenos patrones alimentarios de muy pobre valor alimenticio, suplan la tradición gastronómica de alto valor nutritivo, característica de los pobladores originarios del territorio nacional. El caso de las leguminosas es un ejemplo de lo anterior, pues es un alimento tradicional cuyo consumo ha disminuido de manera significativa, a pesar de que representan la fuente de proteína vegetal más importante para el ser humano (Hungria, et al., 2003), además de carbohidratos, grasas de buena calidad, vitamina A, B1, B6, C, y K, y minerales como: calcio (Ca), hierro (Fe), magnesio (Mg), manganeso (Mn), fósforo (P), potasio (K), zinc (Zn) y fibra. Por otra parte, los ejotes, frutos del frijol ejotero, son una de las verduras más nutritivas con un sabor delicado y especial, derivada de esta leguminosa (Tantawy, et al., 2009); (Morad, et al., 2013); (Salinas, et al., 2012) y (Díaz, et al., 2010).

El alto contenido de proteínas de las leguminosas se relaciona con una de las características más importantes y específicas de esta familia de plantas, que es la capacidad de asociarse simbióticamente con bacterias del género *Rhizobium*, fijadoras del nitrógeno atmosférico (Morad, et al., 2013). En esta simbiosis, los rizobios aportan nitrógeno a la planta, que le brinda a las bacterias el espacio para vivir, así como los nutrimentos que requieren, particularmente los carbohidratos que utilizan en la fijación del nitrógeno atmosférico.

El consumo del frijol como semilla y los ejotes o frutos verdes de esta leguminosa, tienen su importancia desde la época prehispánica, ya que desde antaño, pertenece al sistema de siembra conocido como Milpa, donde el frijol se siembra junto con el maíz. Esta asociación ("maíz-frijol trepador") producía y produce una mejor cosecha debido, como ahora se sabe, a la fijación del nitrógeno de los rizobios, que no sólo beneficia directamente a la planta de frijol sino que, el aporte de nitrógeno fijado en el suelo, es útil para ser aprovechado por el maíz en la milpa o se guarda en el suelo como reserva para otros cultivos subsiguientes en esa misma parcela. Por otra parte, el maíz en la milpa sirve de soporte al frijol trepador (Díaz, et al., 2010).

Recapitulando: Para este trabajo, se eligió al frijol por varios hechos importantes en torno a él:

- 1. Las leguminosas son la fuente más importante de proteína vegetal para el ser humano por su alto valor nutritivo;
- 2. Aportan, proteínas, carbohidratos, grasas, vitamina A, vitamina B6, vitamina C, vitamina K, calcio, hierro, magnesio, manganeso, fósforo, potasio, zinc y fibra, como es el caso de los ejotes;
- 3. Se busca que el consumo de estos alimentos esté presente en la dieta diaria, considerando que la tradición de contemplarlos como elementos básicos de la alimentación se está perdiendo.
- 4. El frijol ejotero brinda una de las verduras más nutritivas y sabrosas: "los ejotes".

5. Además, como todas las leguminosas, tiene la capacidad de asociarse simbióticamente con bacterias del género *Rhizobium* fijadoras de nitrógeno atmosférico.

Por lo antes expuesto, se eligió el frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris L.*, variedad Strike), reflexionando que el objetivo general de la presente tesis es cultivar esta leguminosa con aporte biológico de nitrógeno; esto propiciaría un incremento en la cosecha, lo que, aunado al ciclo corto (siembra-cosecha) de esta variedad, pueden representar un cultivo con un gran potencial para adaptarse a la producción de alimentos, tanto en campo como en huertos citadinos de azotea y traspatio, en maceta e invernadero, pudiendo ser adoptada como una estrategia importante, para reducir la actual crisis alimentaria (ZAAR, 2011), enmarcada en un contexto socio ambiental cuyo campo semántico ha insertado palabras que al escucharlas producen una sensación de cuidado y preocupación ambiental. Una de estas palabras es "sustentabilidad", que fue elegida para tema y título de la tesis debido a que:

- 1. Aparenta cierto grado de premura por el cuidado ambiental, por lo cual
- 2. Permite captar la atención y
- 3. Posibilita el diálogo para la implementación de alternativas al desarrollo sustentable, reflejo de la calidad del pensamiento mundializante y del ambiente global.

Es necesario aclarar que el desarrollo sustentable y toda palabra relacionada con ese concepto, forman parte de una propuesta de homogeneidad social gestada desde los más influyentes órganos mundiales tal como la ONU, que lo expresa del siguiente modo:

"2. El objetivo de la Segunda Conferencia de las Naciones Unidas sobre los Asentamientos Humanos (Hábitat II) es tratar dos temas de igual importancia a escala mundial: "Vivienda adecuada para todos" y "Desarrollo sostenible de los asentamientos humanos en un mundo en proceso de urbanización". El ser humano es el elemento central del desarrollo sostenible, que incluye vivienda adecuada para todos y asentamientos humanos sostenibles, y tiene derecho a llevar una vida saludable y productiva en armonía con la naturaleza" (ONU, 1996)

El sistema de naciones unidas ratifica lo anterior en junio de 2012, en un documento titulado "El futuro que queremos para todos", donde se proyecta que, de acuerdo a su visión, en el año 2050 el setenta por ciento de la población mundial -9 mil millones de personas (FAO, 2009)-radicará en áreas urbanas (ONU, 2012).

Se hace evidente que la sustentabilidad aspira a la urbanización del mundo, incluyendo el arrebato del conocimiento, el despojo y la dominación de sociedades muy otras.

Tengo bien claro que la palabra <u>sustentabilidad</u> y todas las de su campo semántico, surgen de un proceso social concretado en el último siglo, a partir de las mentalidades occidentales de superioridad, dominio y colonización; que tienen una noción de un desarrollo infinito desde el norte global, el cual se cimienta en la dinámica hegemónica, en cuya lógica contradictoria nos resquebraja. El título de esta tesis rescata el término, no por estar de acuerdo con la capitalización del mundo, sino porque:

- 1. Estratégicamente: La acción política neoliberal ha adoptado este concepto y lo emplea en las prácticas de <u>supervivencia</u> de las poblaciones. Considero fundamental conocer y emplear esta jerga, para fines de comunicación y entendimiento.
- 2. Otra sustentabilidad: Esta palabra hace alusión por un lado al sustento, provisión o abastecimiento y por otro, a la habilidad de propiciarlo en el tiempo y el espacio (sustentar-habilidad). Esta es un atributo de las colectividades, es decir, que la habilidad de sustentar, radica en la organización de las poblaciones, sean jerárquicas, comunitarias, globalizadas o autónomas.
- 3. Por otro lado, el término se deriva del contradictorio concepto de "desarrollo sustentable", que me parece una primitiva noción institucional e internacional que apenas deja entrever la incipiente intensión de transitar del desarrollo económico globalizante a otro modo de existencia cimentado en la habilidad que se explica en el párrafo anterior.
- Además es un buen motivo para conocer, disertar y exponer la calidad del discurso políticamente dominante que lejos de hacer un bien, está agudizando la tensión mundial.

El uso de esta palabra posibilita el apoyo y promoción de técnicas benéficas al ambiente y la sociedad, como la manifestada en esta tesis: la biofertilización; ésta, en conjunto con otras muchas prácticas bien vistas por la sociedad globalizada, hacen que otros tipos de sociedades organizadas de modos alternativos sean impulsadas gracias al carácter "sustentable" de sus proyectos. La agricultura de traspatio, la helicicultura, los huertos urbanos, la hidroponía, la lombricomposta, entomofagia, acuaponía, permacultura, agroecología, organoponia, silvicultura, ganadería menor, apicultura, crianza de conejos y aves son algunas de las muchas prácticas que se enmarcan en la llamada agricultura urbana y periurbana, que integradas entre ellas constituyen maneras poco convencionales, de no alterar el ambiente y hacerlo convenientemente productivo. De este modo, en esta tesis se expone la investigación que robustece la habilidad de sustentar usando la biofertilización de un cultivo urbano de *Phaseolus vulgaris L.*, variedad Strike o frijol ejotero, efectuado en el invernadero del Instituto de Geología, a cargo de la M en C. Iris Suárez Quijada en la Ciudad Universitaria de la UNAM.

Hipótesis de trabajo.

El frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris L.*, variedad Strike) será una planta que permitirá el aislamiento y la selección de rizobios nativos específicos que, después de un proceso de selección, acrecentarán cualitativa y cuantitativamente la cosecha de ejotes.

El frijol.

El frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*), es una leguminosa conocida en todo el país y a nivel mundial; el género es americano de origen, y la especie comprende más de 500 variedades, silvestres y cultivadas. Destacan algunas especies comestibles como *Phaseolus coccineus* de semillas muy grandes llamado "ayocote"; *Phaseolus lunatus* llamado "comba" en el Estado de Guerrero y

Phaseolus acuatifolius llamado "teparí" en el Estado de Sonora. El frijol común fue el alimento de las culturas ancestrales americanas; su origen ha sido determinado por análisis de Carbono 14 en una valva de vaina no carbonizada, descubierta en el Valle de Tehuacán México que señaló una fecha de 4975 a.C., detectándose además la evidencia de que el espécimen fue domesticado de acuerdo a Kaplan, 1965, citado por Allen & Allen, 1981. El frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*) es la especie más ampliamente cultivada y conocida. Es una de las fuentes más importante de proteína vegetal para el hombre y animales, siendo también la fuente de aminoácidos esenciales que ha complementado la dieta alta en carbohidratos, maíz-frijol, de los pueblos ancestrales de México y Centroamérica (Williams, 1952) (Kaplan, 1965).

La producción mundial de frijol en 2010 fue de 23.2 millones de toneladas (Secretaria de Economía, 2012). El país productor mayor fue Brasil con el 16% de esta producción seguido de India (15.9%), Myanmar (10.5%), China (8.9%), México (5.8%), Estados Unidos (5.6%), etc. La producción de México pesó alrededor de un millón de toneladas, al producir 0.7 toneladas por hectárea (tn/ha), cuyo promedio mundial es 1.27 (tn/ha) que China y Estados Unidos superan (1.53 y 1.86 tn/ha, respectivamente). Se calcula que en México cada persona consume 11kg de frijol al año, mientras que Burundi, el país con mayor consumo per cápita anual, registra 29.9 kilos. Lo cual coloca a nuestro país en el décimo lugar de consumo.

Entre 2000 y 2009 se exportaron 3.1 millones de toneladas de este grano a nivel mundial, cuyo principal representante es Myanmar, un país ubicado entre India y China, que comercia un volumen de exportación acumulado de 30.1% (2000-2007); México exporta el 0.5% que representa 14,684 toneladas anuales. La tabla 1 expone las cualidades de siembra, cosecha y comercio del frijol común producido en México.

Tabla 1. Características de Siembra, cosecha, producción y comercio del frijol a niver nacional (Anuario estadístico de la producción agrícola, consultado el 29 de octubre de 2014)

Cı	ultivo	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Sup. Siniestrada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	PMR (\$/Ton) Precio medio rural	Valor Producción (Miles de Pesos)
F	Frijol	1,831,309.49	1,754,842.59	76,466.90	1,294,633.90	0.74	9,911.84	12,832,201.93

La fijación biológica del nitrógeno.

En las leguminosas como el frijol, la simbiosis se hace evidente porque su raíz es alterada físicamente para albergar a las bacterias; sin embargo, hay registros de que otras bacterias fijadoras de nitrógeno (BFN) como *Azoarcus*, colonizan no solo la raíz, sino que invaden el tallo y las hojas de las plantas; también se sabe que otras BFN se establecen encima de la raíz pero no

la modifican, de tal modo, que parecen no estar asociadas con las plantas, como ocurre con los géneros Azotobacter y Clostridium (Baca, et al., 2000)

Sin embargo, todos los microorganismos fijadores de nitrógeno, o diazótrofos, que se han estudiado, pertenecen parafiléticamente a los dominios Archea y Bacteria; es decir, que las BFN son procariontes, cuya facultad de fijar nitrógeno atmosférico radica en el sistema enzimático de la nitrogenasa. Este complejo proteico que hidroliza 16 moléculas de ATP por cada molécula de N_2 fijado, ha hecho que se califique a la fijación biológica de nitrógeno (FBN) como uno de los procesos anaerobios metabólicos más costosos energéticamente (Simpson and Burris, 1984, citado por Raymond, et al., 2004). La FBN se realiza gracias al heterotetrámero dinitrogenasa $\alpha_2\beta_2$ (cuya subunidad α es la proteína NifD y la β es la proteína NifK), acompañada del homodímero dinitrogenasa reductasa γ_2 . La subunidad α presenta el sitio activo para la reducción del dinitrógeno, que funciona como cofactor por requerir Molibdeno (Mo); sin embargo, se ha encontrado que existen nitrogenasas alternativas que emplean otros metales como vanadio (V) o fierro (Fe) y que son expresadas, con un costo energético mucho mayor, cuando las concentraciones de Mo son limitadas.

Los genes que expresan a la proteína de la nitrogenasa se encuentran codificados en el operón nif HDKEN, que ordena subsecuentemente a los genes nifH, nifD, y nifK. En la mayoría de los o perones nif están los genes nif E y nif N, que se cree se originaron por una antigua duplicación del operón nif DK (Fani, Gallo, and Lio 2000 citado por Raymond, et al., 2004), pues guardan una similitud significativa entre ellos, respectivamente.

Sobre el origen de este proceso metabólico determinante en la biología y productividad de los ecosistemas, se piensa que la tierra primitiva tenía escaso nitrógeno fijado abióticamente (Raven and Yin, 1998; Kasting and Siefert, 2001; Navarro, McKay, and Mvondo, 2001, citado por Raymond, et al., 2004); de tal modo que, las concentraciones de nitrógeno reducido fueron insuficientes para mantener el crecimiento microbiano, lo que constituyó una presión de selección para que la FBN evolucionara (Towe, 2002 citado por Raymond, et al., 2004), promovida por la transferencia horizontal y fusiones entre los genes nif que se han encontrado en plásmidos (Prakash, Schilperoort, and Nuti, 1981; Thiel 1993; Goodman and Weisz, 2002 citados por Raymond, et al., 2004) y que, en casi todos los casos, están contiguos a genes que codifican proteínas reguladoras, activadoras, trasportadoras de metales y grupos de biomoléculas (Kessler, Blank, and Leigh, 1998; Kessler and Leigh, 1999; Halbleib and Ludden, 2000, citados por Raymon et al., 2004). Entre estas pueden estar la ferrodoxína y flavodoxína que son necesarias para la donación de electrones que reducirán el nitrógeno atmosférico (N₂) a amoniaco (NH₃) del modo que describe la siguiente ecuación (Baca, et al., 2000):

$$N_2 + 8H + 8e + 16 Mg - ATP = 2NH_3 + H_2 + 16Mg - ADP + 16Pi$$

Vale la pena destacar que el balance energético presentado en la ecuación anterior, corresponde a la bioquímica de la nitrogenasa (habitual) dependiente de Mo y de la estricta regulación genética basada en la disponibilidad de nitrógeno asimilable y en un ambiente con una concentración menor de 10 nM de oxígeno. El nitrógeno proviene del aire, la ferrodoxína y flavodoxína ceden electrones, mientras que el ATP es proporcionado por la sacarosa fotosintetizada por la planta.

La relación simbiótica que promueve una fijación de nitrógeno más efectiva, se establece entre bacterias del género *Rhizobium* y las leguminosas. Esta ocurre en las raíces que, por la introducción de los rizobios al tejido radicular, cambian su morfología debido a la formación de estructuras muy peculiares de aspecto "tumoral", llamados nódulos o simbiosomas, donde precisamente se realiza el proceso de fijación del N₂ por estas BFN, en condiciones normales de temperatura y de presión parcial de N₂.

La simbiosis ocurre cuando una leguminosa o macrosimbionte vegetal, establece un proceso de reconocimiento celular específico con microsimbiontes o bacterias, por medio de flavonoides secretados por las legumbres; estas substancias, al ser recibidas por los rizobios, estimulan en ellos la producción de lipoquitín oligosacáridos, conocidos como factores Nod (Ormeño, E. et al., 2012), que incitan a que las células de los pelos radicales de las plantas entren en mitosis, cuyo producto es la formación de nódulos en este tejido. En estos sitios, se intercambia carbono en forma de malato por el nitrógeno del amoniaco, el cual se fija en el citoplasma de la BFN o en los cloroplastos, para ser la materia prima de precursores de aminoácidos complejos, amidas y ureidos vía glutamina-sintasa, para después ser exportados a la planta por medio del xilema y servir para su crecimiento. Vale la pena recordar que las bacterias penetran en los nódulos y allí se diferencian a bacteroides que tienen encendido el riguroso mecanismo de control del proceso de fijación de nitrógeno.

Estas afirmaciones, sin embargo, son muy generales pues la alta biodiversidad de rizobios en el suelo, hace que exista una gran variabilidad, tanto en las moléculas vegetales de reconocimiento planta-bacteria, como en reguladores alternativos de los genes Nod, en cuyos productos o factores se ensamblan una amplia gama de grupos prostéticos que confieren muchas estructuras químicas diferentes a estos compuestos.

A su vez, hay otros organismos que no inducen la morfogénesis de los nódulos por medio de los factores Nod, sino que el reconocimiento es por medio de canales iónicos, conazas, factores transcripcionales y receptores; sin embargo, este proceso está en estudio (Masson-Boivin, et al., 2009). En la publicación anterior, se explica que la bacteria rompe la epidermis de la raíz, lo cual incita la emergencia de raíces laterales. A medida que se acumula un gran número de sitios de "infección" e incrementa la síntesis de compuestos similares a las citoquininas, se desvía la ruta de señalización por los factores Nod y se estimula la nodulación. Lo anterior anuncia un complicado e intrincado mapa de estrategias para integrar la simbiosis planta-bacteria.

Debido a la escasa información existente en torno a las variedades de frijol ejotero, a continuación se toma en cuenta el conocimiento alrededor de las cepas que son capaces de interactuar con el frijol común, que es el estado maduro del ejotero.

El género Rhizobium

Comprende un conjunto de bacterias Gram-negativas que bien pueden ser de vida libre o bien, establecer una simbiosis normalmente con leguminosas y habitar intracelularmente, en cuyo caso se les denomina bacteroides. En Renan, et al, 2013 se reconocen diferentes especies de

rizobios capaces de nodular al frijol común, entre ellas se distinguen: R. leguminosarum (Jordan, 1984), R. tropici (Martínez, et al., 1991), R. etli (Segovia, et al., 1993), Rhizobium gallicum, Rhizobium giardinii (Amarger, et al., 1997), Rhizobium lusitanum (Valverde, et al., 2006), Rhizobium multihospitium (Han, et al., 2008), R. phaseoli (Ramirez, et al., 2008), Rhizobium vallis (Wang, et al., 2011), R. leucaenae (Ribeiro, et al., 2012), Rhizobium grahamii y Rhizobium mesoamericanum (López, et al., 2012). Algunas de ellas se agrupan en el grupo R. tropici (Renan, et al., 2013); R. etli domina en los suelos de los principales centros de diversificación genética del frijol común.

Cuando R. etli es de vida libre, la síntesis de lipopolisacáridos de membrana es diferente de cuando es endosimbionte; sin embargo, la estructura de estos lípidos no es esencial para la nodulación en el hospedero (Sohlenkamp, et al., 2013); este conocimiento fue obtenido por investigaciones del Centro de Ciencias Genómicas (CCG) de la UNAM, donde se realizan estudios taxonómicos de cepas de Rhizobium para determinar la naturaleza de los linajes de esta especie que son capaces de nodular al frijol común (Phaseolus vulgaris).

Se ha encontrado que el origen de estas líneas puede ser una consecuencia de fenómenos de clonación y recombinación de genes de este grupo de organismos (Acosta et al., 2011 citado por Fuzinatto Dall'Agnol, et al., 2013); en estos estudios se menciona que la planta hospedera silvestre muestra preferencia por cepas de rizobios locales (Aguilar et al., 2004 citado por Fuzinatto Dall'Agnol, et al., 2013); a su vez, aclaran que las cualidades del suelo son determinantes para el establecimiento de la simbiosis; como ejemplo, se expone el caso de la cepa mexicana IE4771 del linaje PEL1, que es un rizobio dominante en un suelo alcalino con pH de 8.4, ubicado en San Miguel Acuexcomac, Puebla. (Silva et al., 2003 citado por Fuzinatto Dall'Agnol, et al., 2013).

Otro ejemplo de la determinante condicional edáfica es que en suelos ácidos (pH 4.5) de Brasil (Stocco et al., 2008 citado por Fuzinatto Dall'Agnol, et al., 2013) y África (Anyango et al., 1995 citado por Fuzinatto Dall'Agnol, et al., 2013) predomina *Rhizobium tropici*, mientras que en suelos brasileños con pH de 6.8 *R. etli* está mayormente representado (Anyango et al., 1995 citado por Grangea, et al., 2007). En otro estudio se establece que las poblaciones de rizobios del frijol común aisladas directamente de suelo, fueron muy diferentes de aquellas que se capturaron en los nódulos de plantas inoculadas con cepas del mismo suelo en condiciones de invernadero (Alberton et al., 2006 citado por Fuzinatto Dall'Agnol, et al., 2013).

De acuerdo con otras investigaciones de este Centro, se propone que la degradación diferencial de la alta gama de nutrimentos del suelo y rizosfera, puede provocar la especiación y variaciones intraespecíficas de los rizobios, pues la competencia simpátrica bacterial por nutrimentos es evitada por la disponibilidad de otras fuentes de nutrimentos (Ormeño, et al., 2012). Estos autores mencionan que los exudados de prolina de raices de plantas, hacen más eficiente y competitiva la formación de nódulos (van Dillewijn et al., 2002 citado por Ormeño, et al., 2012).

En Brasil se emplea la cepa PRF 81^T de *Rhizobium* para hacer inoculantes comerciales de frijol, debido a que se le conoce por ser muy competitiva y efectiva para fijar nitrógeno; ha sido encontrada en numerosas regiones representativas del cultivo de frijol de ese país. Esta cepa

guarda similitudes con todo un Consorcio bacteriano de diferentes especies del género y que, en función de las similitudes genómicas, se le da nombre a una nueva especie: R. freire sp. nov. (Fuzinatto Dall'Agnol, et al., 2013), de acuerdo a investigadores del CCG, quienes revelan que el contenido de Guanina/ Citocina encontrado en el ADN de R. freire sp. nov., coincide con el reportado para Rhizohium (Jordan, 1984), que es del 59.9 mol% (Ormeño, E, et al., 2012, citado por Fuzinatto, R. et al., 2013).

Otras cepas, como CIAT 899 y PRF 81, que fijan nitrógeno muy efectivamente en variedades de frijol común de los Andes y Mesoamérica, son estables genéticamente, pues están adaptadas a condiciones ácidas del suelo y a temperaturas altas; además de presentar habilidades para competir con rizobios nativos (Ormeño, E. et al., 2012). Estas cepas han sido aisladas en América, Europa y África y por sus aptitudes se emplean en inoculantes comerciales en Brasil y África (ídem.); sin embargo, no existe una explicación completa sobre las habilidades de estas cepas para resistir las condiciones ácidas y las de altas temperaturas.

En experimentos de inoculación en invernadero y suelos ácidos, se ha detectado competencia entre estos linajes (Hungria, Campo, & Mendes, 2003, citado por Ormeño, E. et al., 2012). No obstante, no se ha explorado la genómica de la habilidad competitiva, entre estas cepas y cepas autóctonas. También se menciona que la CIAT 899 y otras cepas pertenecientes al complejo R. *tropici*, son más resistentes a metales pesados, compuestos antimicrobianos y pesticidas, tales como Thiram y Captan, en comparación con otros rizobios que nodulan el frijol común, como R. *etli* y R. *leucaenae* (Ormeño, E., et al., 2012). Los pesticidas mencionados disminuyen la cantidad neta de rizobios nodulantes en la "infección" o colonización.

Frijol ejotero

Vale la pena señalar, respecto a lo indicado en el párrafo anterior, que la semilla de la variedad Strike de frijol ejotero que se analiza en este trabajo es vendida con una fuerte cantidad de Captan.

El rendimiento y crecimiento de esta variedad es altamente dependiente del aporte mineral de los suelos, en especial por el contenido de magnesio y potasio (Huda, et al., 2010). Esta variedad de frijol es constantemente estudiada en Egipto, pues es un país que dedica muchos esfuerzos para la exportación y consumo de esta leguminosa.

En el mundo se han probado diferentes técnicas para incrementar la producción como son, entre otras: la prueba de regímenes de fertilización e irrigación por separado y en combinación con fertilización foliar de extractos de polen; dosis de baja radiación gama en el cultivo o en semillas; distintas fechas de siembra; incorporación de materia orgánica al cultivar; varias condiciones de saturación de humedad del suelo; interacción con hierbas; genómica de resistencia a enfermedades; fertilización química combinada con inoculación de bacterias fijadoras de nitrógeno (BFN); estrategias contra patógenos y tamaño adecuado del cultivar; muchos de los cuales no se han reflejado totalmente en rendimiento económico de los

cultivares. A pesar de ello, se sabe que el incremento en la producción de vainas (ejotes), está asociado al balance hormonal (Ofir, et al., 199, citados por Tantawy, et al., 2009).

Los países donde se efectúan estas investigaciones son: Egipto, Brasil, EU, Irán y Bulgaria. Salinas, et al., (2011), mencionan que el frijol ejotero es importante para China, India, Indonesia, Turkia, Italia, Tailandia, Egipto, España, USA, Canada y México (Adsule et al., 2004; citado por Salinas, et al., 2011).

En 1989, se emplearon siete cepas de *Rhizobium phaseoli* para probar la variedad 'Bean-Lot 610 E' de frijol francés o ejotero (*Phaseolus vulgaris* L.) proveniente de Idaho, Estados Unidos de América. Después, en 1990 en Varanas, seis de estas cepas se aplicaron como inoculante en plántulas de la variedad 'Bean-Lot 610 E', así como de una variedad india 'HUR 15', esta última presentó mejor nodulación que la americana (Sanoria & Yadav, 1993). Con otra cepa, USDA 2680, se logró incrementar el rendimiento en un 200% sobre el control (Sanoria & Yadav, 1993). La variedad india ha sido usada para la elaboración de fito hemato glutininas comerciales con potencial mitogénico (Sengupta & Sengupta, 1992).

En un suelo arenosos de la ribera del Nilo en 1996-1997, se inocularon cepas no endosimbióticas de *Azospirillum lipoferum* y levadura del suelo (*Candida* sp.) a la variedad ejotera Giza 3 de *Phaseolus vulgaris* L. en interacción con 50% y 75% de la dosis de NPK recomendada contrastadas con el 100% NPK. Se concluyó que la biofertilización adicionada con menor concentración de químicos presentó mayor número de nódulos; el crecimiento de las plantas y la calidad de la cosecha mostraron mejores indicadores con la combinación de ambos tipos de fertilizantes con los dos niveles de NPK (Singer, et al., 2000).

En Egipto, se probó la inoculación de nitrobeina contra la fertilización química para ejotero variedad Montcalm, de los Andes, en parcelas de suelo arenoso (pH=8.2) al aire libre; la nitrobeina es un inoculante comercial elaborado con BFN. Este estudio mostró que la aplicación de 140kgN/fed combinada con 2kg de nitrobeina/fed, brinda el mayor rendimiento posible entre las posibilidades de combinar tres concentraciones de N (100, 120 y 140 kgN/fed) con tres cantidades de nitrobeina (0, 1, y 2 kg/fed) (Mahmoud, et al., 2010).

Se realizó otro ensayos con frijol ejotero en dicho país, probando la combinación de la fertilización química con la biofertilización, ahora, de una gama de microorganismos: (Rhizobium leguminosarum bv. phaseoli (ARC 301) (Rh), dos cepas de Azotobacter chroococcum (AZ1) y Bacillus megaterium var. phosphaticium (BM3). En los resultados se menciona que el rendimiento del cultivo se incrementa si la inoculación se coordina con un 25% de la dosis recomendada de nitrógeno, fósforo y potasio (Gharib, et al., 2009). En otro experimento en Irán se encontró que la biofertilización puede suplir la fertilización química en cultivos de frijol común al aire libre.

El rendimiento mundial promedio de frijol es variable, siendo de 500 kg/ha en África y América Latina, mientras que en condiciones experimentales pueden alcanzar las 5000 kg por hectárea (Graham & Ranalli, 1997). Esta cantidad tan baja es atribuible a una concentración de cuarenta

y cinco kilogramos de nitrógeno por hectárea en el suelo, que causa enfermedades en estas leguminosas y que repercute en la producción.

Un incremento comparativo en el rendimiento de cultivos de frijol ejotero se ha registrado en experimentos que aplican sesenta y siete kilogramos de nitrógeno por hectárea, cuyo rendimiento es de 6.3 toneladas por hectárea, en comparación de las 3.8 toneladas que brinda el tratamiento no fertilizado (Phillips, et al., 2002)

En el 2011, el Colegio de Post graduados publicó un trabajo donde se compila un análisis de los efectos de la fertilización química, combinada con la inoculación con cepas de rizobios (Salinas et al., 2011). En ella se constata lo mencionado en los trabajos previamente citados, en los cuales se evidencia que la combinación de ambos tipos de aporte de N, incrementan el rendimiento y el desarrollo de la planta; sin embargo, el compendio que se realiza en este artículo expone la falta de información en cuanto al frijol ejotero, pues se citan investigaciones con variedades de frijol de grano, inoculadas con micorrizas y BFN o bien fertilizados con una combinación Rhizobium-agroquímico.

Para 2013, 81933 toneladas se produjeron en 9282.46 hectáreas sembradas, de las cuales se calcula que 9118.46 fueron cosechadas, rindiendo 8.67 toneladas por hectárea en promedio nacional cada una de estas con un valor de \$6836.67 como valor medio del país cuya producción de fréjol se valuó en \$521,238.38. El estado de Morelos aportó la mayor actividad productiva pues cosechó el 100% de sus 2845.6 hectáreas sembradas, que brindaron 27828.7 toneladas de ejotes equivalentes a \$181, 622.38, que representa el 34% del valor de la producción nacional. Se presentan a continuación los datos de las producciones de los tres estados más activos en cuanto al ejote:

Tabla 2. Estadísticas del frijol ejotero en México 2014. Datos tomados del Anuario Estadístico de la producción agricola (SAGARPA-SIEP,2014). *PMR=Peso medio rural

Ubicación	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	PMR (\$/Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
Morelos	2,845.60	2,845.60	27,828.70	9.78	6,526.44	181,622.38
Hidalgo	1,665.00	1,645.00	11,955.40	7.27	7,265.86	86,866.25
Puebla	1,377.00	1,372.00	11,872.83	8.65	4,983.18	59,164.50

La producción de estos tres estados representó el 63% de la producción nacional en el 2013.

Se tiene registro de que las variedades que se emplean en este país son Amarilla 154, Amarilla 156, Podsquat, Strike, Canario 107, Canario 101, Negro 151, Negro 66, Delicias 71, Cacahuate 72, Bayo Durango, Bayo 107, Bayo 150, Bayo, 158 y 160, Siechi 73, o Pinto americano Pinto 162, 133 y 168, y Azufrado pimono, llamado Peruano, Puebla, Puebla 152, Bayomex, Jamapa, Laguna verde y Cotaxtla, Canocel y Mecentral (Centro de investigación regional del centro

experimental "ZACATEPEC", 2002); por su parte, el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP) campus Valle de México, en coordinación con el campus Bajío y la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, enlistan 36 variedades de ejotero empleados en un experimento sobre su productividad y adaptación en suelo de Texcoco (Esquivel, et al., 2006). Las variedades probadas son: Accesión E7, Accesión E9, Accesión E27, Accesión E36, Accesión E57, Accesión F2, Accesión F3, Accesión F4, Accesión F4-A, Accesión F7, Accesión F9, Accesión F11, Accesión F13, Accesión F16, Accesión F20, Black Valentine, OR 900, Bayo Alteño, Canario 107, Peruano P80, Widusa, Top Crop, Amanda, Early Gallatin, Red Lands Pioneer, AFN, Silvester, La Victoria, Accesión E10-1, Accesión E10-2, Ejotero Güero, Accesión E50, US No. 3, Kentuky Wonder 765, Kentuky Wonder 814, Golden Gate Wax.

Los autores (as) indican que México depende de la importación de semillas de ejotero procedentes de EUA, lo que constituye un costo adicional al cultivo que conlleva grandes riesgos debido a que las plantas se desarrollan en ambientes con condiciones ambientales diferentes de las que han promovido su adaptación (Esquivel, et al., 2006).

Las enfermedades de esta especie detectadas para ambientes de México son: Antracnosis (Colletotrichum lindemuthianum (Sacc. Magn.); Roya (Uromyces phaseoli typica Arth); Pudriciones radicales (Rhizoctonia solani Khun y Fusarium solani F. sp phaseoli (Burk) Snyder & Hansen); Moho blanco (Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) Whetzelinia sclerotiorum.; Mancha angular (Isariopsis griseola Sacc.), Tizón de halo (Pseudomonas phaseolicola (E. F. Sm.) Dows; Tizón común Xanthomonas phaseoli (E. F. Sm.) Dows. Pudrición bacteriana (Corynebacterium fasciens (Hedges) Dow.); Mancha foliar (Cercospora spp.); Virus del mosaico común del frijol (BCMV); Golpe de sol; Deficiencia de manganeso; Deficiencia de cobre; Deficiencia de zinc y Deficiencia de fierro. (Centro de investigación regional del centro experimental "ZACATEPEC", 2002)

Ambos simbiontes (bacteria-planta) evolucionaron juntos en América durante millones de años lo que los hace no dependientes del N disponible en el suelo o del que se aplica como como fertilizante químico y que, por el contrario, les permite aportar N al suelo después de la cosecha, lo que ecológicamente y económicamente es muy importante. Como ya se mencionó, esta ventaja de las leguminosas ya la conocían a su modo, los agricultores prehispánicos, pues en ello se fundamenta el hecho de sembrar en la milpa el maíz junto con el frijol, con el propósito de generar un beneficio mutuo entre estas dos plantas y las implicaciones ecológicas para la buena calidad del suelo.

Por este fenómeno, se estima a las leguminosas como una familia de plantas única, pues lejos de sólo proporcionar alimentos muy nutritivos, que en sí ya es valioso, propicia la reposición mineral de los nutrimentos del suelo, en este caso del N. Así como lo que las leguminosas y, en particular, lo que el frijol puede aportar de N al suelo después de la cosecha, como resultado de la emisión de los exudados de sus raíces al suelo y su mineralización que significará la "ganancia de N" (mineralización es la transformación del N-orgánico, en forma de proteínas y aminoácidos; la realizan los microorganismos del suelo que participan en el ciclo del nitrógeno

y que convierten el N atmosférico a N-mineral aprovechable por las plantas, en forma de NH₃, muy volátil; o como iones amonio NH₄⁺ que se adsorben al complejo de intercambio del suelo (arcillas y ácidos húmicos) o como NO₃, nitratos, que es la forma más soluble en la que el N puede ser mineralizado por las plantas y, por tanto, también la más fácil de perderse por lixiviación o por desnitrificación cuando falta O₂ en el suelo, ocasionado por exceso de agua o en suelos muy compactados).

La ganancia de N también puede tenerse al incorporar los residuos de la cosecha al suelo, para que se mineralicen y se abone con N el suelo; reserva de N que quedaría disponible para ser aprovechada por el siguiente cultivo (una gramínea), considerando el sistema de rotación de cultivos que aún es vigente. Lo que también se podrá aplicar en la agricultura orgánica urbana (de traspatio y/o azotea).

El consumo anual de esta verdura obtenido en el año 2000 fue de 1.1kg de ejotes por persona, similar a lo observado en otros países de América latina (Esquivel, et al., 2006).

Objetivos.

Objetivo general

Comparar la fertilización química con la biofertilización en un cultivo de frijol ejotero (variedad Strike) en maceta, en cuatro suelos con propiedades diferentes, bajo condiciones de invernadero.

Objetivos particulares.

- 1. Aislar rizobios nativos capaces de nodular al frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris*, variedad Strike) de suelos de la Cuenca de México y del Estado de Morelos: Xochimilco (X), Magdalena Petlacalco (M), Tequesquitengo, Mor. (Q) y Tehuixtla Mor. (T).
- 2. Inocular las semillas de frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris*, variedad Strike), con las cepas obtenidas.
- 3. Comparar los rendimientos de la biofertilización y de la fertilización con agroquímicos.

Materiales y Métodos.

Para la materialización de los dos objetivos se planificaron dos distintas diseños experimentales, uno para cada objetivo, denominados Fase A y Fase B que corresponden a la captura y purificación de cepas y a la selección, elaboración de inoculante, inoculación y evaluación del rendimiento de estas.

Fase A.

Recolección de suelos.

Los suelos estudiados provienen de cuatro sitios; dos de la parte sur de la Cuenca de México, Distrito Federal, recolectados en las localidades de Pedregal de San Francisco (X), Delegación de Xochimilco y de Magdalena Petlacalco (M), Delegación de Tlalpan. Los otros dos, proceden de la parte sur del Estado de Morelos y se extrajeron de las cercanías de los poblados de Tehuixtla (T) y Tequesquitengo (Q), en la cuenca del Rio Amacuzac y sub cuenca del Rio Balsas, respectivamente. Las diferencias geográficas y orográficas entre estas zonas permiten suponer diferencias físicas, fisicoquímicas y químicas que propiciarán contrastes en la dinámica biológica que se espera. Las cuatro localidades de colecta se pueden localizar en la figura1 (INEGI, SIATL, 2014).

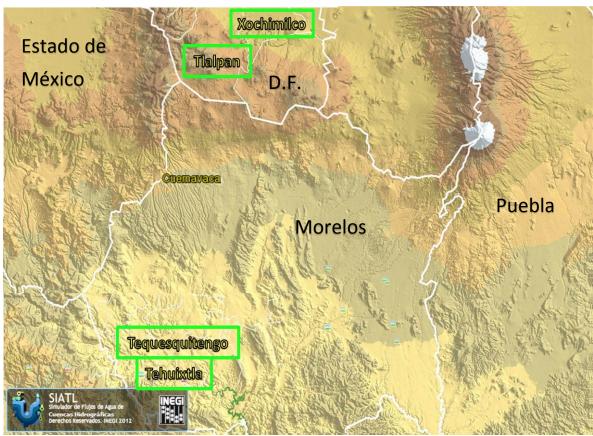


Figura 1. Ubicación de los cuatro suelos estudiados, señalados con rectángulos verdes. Mapa 1: 352 931 (modificado de INEGI, SIATL, 2014).

1.1 Suelos recolectados en el Distrito Federal

Las dos localidades del D.F., donde se recolectaron los suelos, están ubicadas en la Subprovincia Fisiográfica Lagos y Volcanes del Anáhuac, en la provincia Eje Neo Volcánico Trans-Mexicano. La figura 2 ubica dichas provincia y sub provincia ambas de amplia extensión¹. El Cinturón Trans-Mexicano comprende una gran cantidad de ecosistemas, que se conjuntan en 15 sub provincias fisiográficas con características particulares.

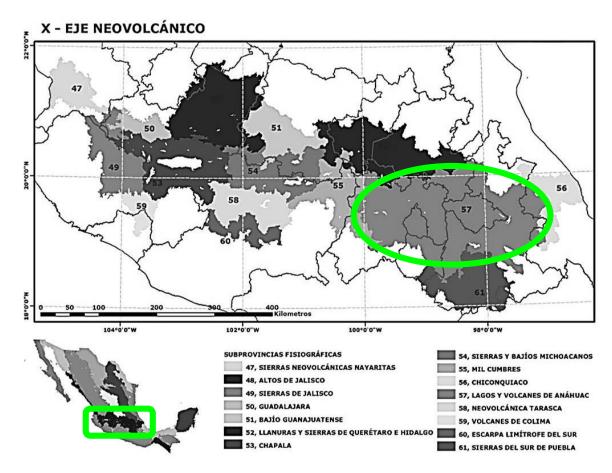


Figura 2. Mapa de ubicación y fragmentación de la Provincia Eje Neo volcánico. Presenta las subprovincias que la componen. La señalada con el número 57 corresponde a la subprovincia Lagos y volcanes del Anáhuac a la que pertenece el Distrito Federal y las localidades de Xochimilco y Magdalena Petlacalco, en las cuales se recolectaron los suelos de los que se aislaron los rizobios.

Estos datos son importantes pues encontramos en Lagos y Volcanes de Anáhuac a las más altas elevaciones del país —el Citlaltépetl o Pico de Orizaba (5,610 msnm), Popocatépetl (5,500 msnm) e Iztaccíhuatl (5,220 msnm)-, las cuales tienen en sus cimas, glaciares intertropicales poco comunes en el mundo² y que son elementos de complejos sistemas socio-ambientales que

18

¹ Tomado de http://kk.convdocs.org/docs/index-192681.html . Provincias y Subprovincias Fisiográficas de México (INEGI). Consultado el 21 de abril de 2014

incluyen una densa biodiversidad con una gran cantidad de endemismos (Fa y Morales, 1993 citado por Chávez–León, 2009) y numerosos servicios ambientales.

Xochimilco (X).

Se recolectó suelo de un cultivo de frijol encontrado en la colonia pedregal de San Francisco, Delegación Xochimilco, Distrito Federal. Esta comunidad se ubica en la parte baja de la Sierra Ajusco-Chichinautzin, a 2,536 m.s.n.m., con coordenadas geográficas 19°12' 24.33" N y 99° 07' 28.26" O. Se trata de un suelo de origen volcánico que, en seco, es color pardo amarillento muy claro (10 YR 6/4, Munsell Soil Color Charts) y en húmedo es pardo amarillento obscuro (10 YR 3/4). El suelo se clasifica como Andosol; por su textura es franco limoso, con un porcentaje de limo de 50.48, de arena de 43.52% y de arcilla de 6.0 % de arcilla. Su composición le brinda una densidad aparente de 1.06 Mg/cm⁻³ y su densidad de partículas se cuantifica en 2.32 Mg/m⁻³. La porosidad asociada a esta tierra es del 54. 31%.



Figura 3.En el círculo rojo el Pedregal de San Francisco, lugar de colecta de la Delegación Xochimilco, México, Distrito Federal. Se ubica San Miguel Topilejo aledaño. Modificado de INEGI, SIATL 2014 mapa 1:17,356

La figura 3 (SIATL, INEGI, 2013) señala la ubicación del poblado dentro de la cuenca de Xochimilco² con temperatura media anual 15.9°C, precipitación media anual 828 mm y vegetación agrícola-forestal.

De acuerdo a la misma fuente, existían bosques mixtos de pino-encino en las zonas altas y ahuejotes en las zonas bajas y humedales, ahora escasos. El poblado reúne 585 habitantes instalados en una superficie de 10 hectáreas, que están tipificadas como suelo de conservación.

Magdalena Petlacalco (M).

En este pueblo, localizado en la delegación Tlalpan, México, Distrito Federal, se recolectó un suelo arenoso de una parcela donde se cultiva frijol de grano (Phaseolus vulgaris), en el sitio conocido como Ocotenco, a los 19°14'24.68" N; 99°11'09.29" O. La figura 4 sitúa el poblado de 1.8 km² y sus alrededores (SIATL, INEGI, 2013) establecido en un arenal cuya textura corresponde a una arena franca constituida en un 82.96% de este material; que contiene 11.44 % de limos y 5.6% de arcillas, de color pardo en seco (10YR 5/3) y negro en húmedo (10YR 2/1); (Munsell Color Charts). La densidad aparente de este suelo es de 1.35 Mg/m⁻³ y la densidad de partículas de 2.5 Mg/m⁻³; tiene una porosidad del 46%. La localidad está ubicada en la parte media de la Sierra Ajusco-Chichinautzin al pie del Cerro la Magdalena a 2695 m.s.n.m. De acuerdo a la estación Ajusco del Sistema Meteorológico Nacional, esta región presenta una temperatura media anual de 11.1°C y tiene 1184 mm de precipitación anual. Ha perdido la mayor parte de la vegetación nativa que se estima pudo haber sido, maguey (Furcraea bedinghausii), tepozán (Buddleja parviflora), ocote (Pinus motezumae), pino (Pinus teocote), encino (Quercus rugosa, Q. laeta y Q. crassipe³), cedro (géneros Cedrus o Cederela) y (probablemente Arbutus unedo) (Alvarado Martínez & Sánchez Gutiérrez, 2006), presentes en la reserva ecológica comunitaria de San Andrés Totoltepec, pueblo aledaño. También posiblemente hubo presencia de un bosque de Oyamel. Como localidad periurbana de la Ciudad de México, se observa que el territorio está hacinado, hay una gran cantidad de construcciones y vías de comunicación, mezcladas con diversos cultivos de agricultura de temporal. Es un asentamiento irregular establecido en suelo de conservación (PAOT, 2011) con 2 445 habitantes al 2003⁴.

² CARACTERIZACIÓN Y ANÁLISIS DE LA OCUPACIÓN DEL TERRITORIO. Sin datos bibliográficos. SEDESOL. Puebla, México. Posterior a 2008.

² http://www.paot.org.mx/centro/programas/delegacion/xochimi.html#situaciong. Consultado el 21 de abril de 2014.

³ http://www.sma.df.gob.mx/corena/mapa_zonas.html#sannicolas. Consultado el 21 de abril de 2014

⁴ http://www.sideso.df.gob.mx/documentos/ut/TLP 12-071-1 C.pdf. Consultado el 21 de abril de 2014



Figura 4. Ubicación de la Magdalena Petlacalco en la Delegación Tlalpan, México Distrito Federal. Se aprecia San Miguel Ajusco, San Miguel Topilejo, San Miguel Xicalco, Sanro Tomás Ajusco y San Andrés Totoltepec.

1.2 Suelos recolectados en el estado de Morelos

El estado de Morelos ocupa territorios de dos provincias fisiográficas y tres sub provincias (figura 5):

- 1. Lagos y volcanes del Anáhuac de la provincia Eje Neo volcánico;
- 2. Sur de Puebla de la provincia Eje Neo volcánico;
- 3. Sierras y valles guerrerenses, de la provincia Sierra Madre del Sur.

FISIOGRAFÍA

Los suelos se recolectaron poblados de Tequesquitengo (Q) y Tehuixtla (T),localizados en la sub provincia Sierras y valles Guerrerenses⁵ (figura 6). localidades Las estudio de esta entidad se sitúan en la parte sur oriental del estado, en un polígono formado por territorios los municipales de Jojutla, Puente de Ixtla Zacatepec de Hidalgo.



Figura 5.Mapa (INE, 2006) Las tres provincias fisiográficas del estado de Morelos, México. Se observan los municipios de Jojutla y Puente de Ixtla

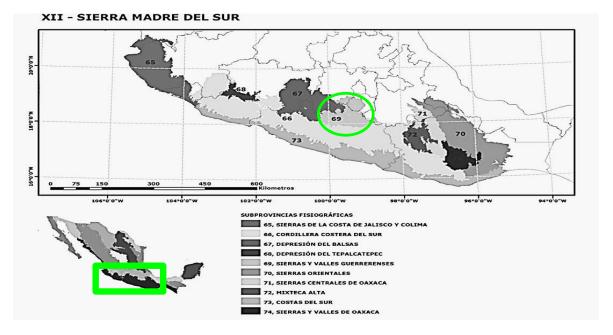


Figura 6.Regionalización de la Provincia Sierra Madre del Sur que incluye a la subprovincia Sierras y valles guerrerenses (flecha verde), sobre la que se ha edificado una porción del estado de Morelos que comprende las dos localidades muestreadas Tehuixtla (T) y Tequesquitengo (Q).

⁵ Mapa tomado de http://kk.convdocs.org/docs/index-192681.html) Provincias y Subprovincias Fisiográficas de México (INEGI). Consultado el 21 de abril de 2014

La geología de estas localidades involucra, por un lado, depósitos continentales del Plioceno y del Holoceno, correspondientes a la dinámica geológica del Eje Neo Volcánico; y por otro, depósitos calcáreos del Cretácico, de la plataforma Morelos-Guerrero, muy cercanos a los poblados de colecta y que son los basamentos de los materiales volcánicos (ígneos-extrusivos) del Cenozoico provenientes del cinturón Neo Volcánico Tras mexicano (Uson, s.f.). Ambas localidades se encuentran mayoritariamente, en territorios del municipio de Jojutla, aunque pequeñas porciones de cada una se ubican en el municipio aledaño Puente de Ixtla. Jojutla se sitúa en un lugar con vegetación tipo selva baja caducifolia con cazahuate (*Ipomoea murucoides* Roem & Schult), copal (*Pinus montezumae*), tepehuaje (género *Lysiloma*), pochote (género *Ceiha*), reducido palo Brasil (¿?), nopal (género *Opuntia*), huizache (*Acacia farnesiana*) y pastizales (familia Poaceae), como constituyentes de la vegetación secundaria. Sin embargo, se cultivan granos, verduras y hortalizas.

Tequesquitengo (Q)

Localidad urbana situada alrededor del Lago del mismo nombre y que pertenece a los municipios Puente de Ixtla y Jojutla, ambas del estado de Morelos. El poblado se encuentra alrededor de los 900 m.s.n.m. El clima del municipio de Jojutla es semi seco la mayor parte del año, con temperatura máxima cercana a los 32°C y mínima de 10°C. Su temperatura media es de 25°C. La temporada de lluvia cubre los meses de junio a octubre con 930 milímetros cúbicos de precipitación media anual⁶. Es un poblado de 3548 habitantes (INEGI 2010), situado en una extensa planicie de elevaciones y pendientes muy tenues. Actualmente no hay un tipo de vegetación establecido pues los suelos son empleados para actividades, agrícolas, pecuarias y forestales. Por lo cual se percibe un impacto fuerte sobre la biodiversidad nativa del lugar. La colecta de suelo se efectuó en el campo La brasileira (figura 7), situado a los 18°34'44" N y 99°14'13" O, entre las colonias Tequesquitengo y Tehuixtla, sin embargo, el campo pertenece a esta última. Al sitio de colecta se le definió "Tequesquitengo" porque el cultivo se encontró sobre la carretera que va de Tequesquitengo a Tlaltenchi, la cual se encontraba en construcción al momento del muestreo. Se observó una unidad habitacional aledaña al cultivo y numerosas construcciones.

En el cultivo se encontraron rastros de plantas de frijol ejotero recién cegadas; en las raíces de muchas de ellas había nódulos necrosados. El suelo en seco es de color pardo grisáceo muy obscuro (10 YR 3/2 Munsell), y en húmedo es de color negro (Munsell 10 YR 2/1), con una porosidad del 53.33%. La densidad aparente de esta tierra es de 0.98 mg/m⁻³ y la densidad de partículas se cuantifica en 2.1 mg/m-3, de tal manera que en su composición se calcula un 49.2% de arcilla, 31.97% de limos y 18.83% de arenas, por lo cual se le reconoce una textura de arcilla.

⁶ http://www.jojutla.gob.mx/municipio.html. Consultado el 21 de abril de 2014



Figura 7. Ubicación del campo la brasileira en el Municipio de Tehuixtla que se ubica en el mapa, como un polígono verde

Tehuixtla (T).

Esta localidad también se distribuye entre los territorios municipales de Jojutla y Puente de Ixtla; en ella se contabilizó una población de 6311 personas (INEGI, 2010). Se encuentra entre los 850 y 900 m.s.n.m con una temperatura media anual de 21.4°C (periodo 2005-2013)⁷ y 1013 mm de precipitación anual⁸. Esta comunidad se ubica en el curso del rio Amacuzac, el cual presenta problemas de equilibrio ecológico por la introducción de pez diablo o plecos (*Hypostomus plecostomus*). La localidad en general, presenta un fuerte impacto ambiental pues la biodiversidad nativa está casi eliminada y subordinada a los requerimientos de las actividades turísticas, agropecuarias y forestales.

⁷ http://rp5.ru/Archivo_de_tiempo_en_Zacatepec_(estaci%C3%B3n_meteorol%C3%B3gica)

⁸ http://es.climate-data.org/location/485769/

La recolecta de suelo se realizó en el paraje conocido como El Morro cercano a un vivero llamado de esa manera. Se encuentra en una desviación del camino a Puente de Ixtla localizado a tres kilómetros de la autopista (Figura 8).

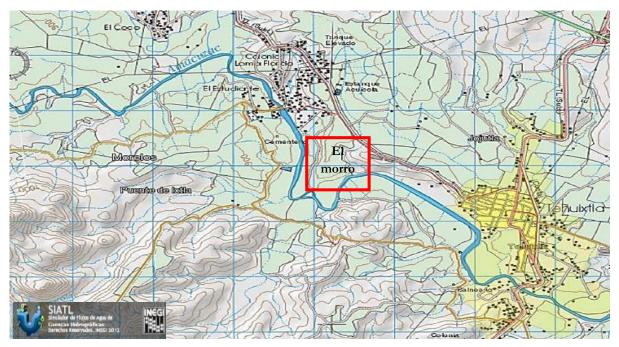


Figura 8. Ubicación del campo de cultivo "El morro" enmarcado en rojo.

El suelo fue caracterizado como un Vertisol, de color gris muy obscuro en seco (10 YR 3/1; Munsell Color Charts) y pardo muy obscuro en húmedo (10 YR 2/2, originado a partir de rocas calcáreas y típicamente de rocas basálticas; por su textura, es arcilloso, con densidad aparente de 0.95 Mg/m⁻³ y densidad de partículas de 2.1 Mg/m⁻³. Su porosidad es de 54.76%, con un porcentaje de limos de 26.88 y 12.72% de arenas. En estos suelos con textura de arcilla (60.4%) no hay formación de bosques por la consistencia dura e inestable del vertisol; sin embargo, proliferan pastos, de los cuales también notamos presencia en el momento de la recolección del suelo, que se realizó cercana a la fecha de cosecha, realizada en febrero o marzo de 2012.

Análisis físicos, fisicoquímicos y químicos de los suelos

Preparación de los suelos para las fases experimentales en macetas.

Los dos suelos de la Cuenca de México, correspondientes a las localidades de Xochimilco (X) y Magdalena Petlacalco (M), una vez traídos del campo, se mezclaron y homogeneizaron a la sombra, cada suelo por separado, en un plástico grueso y nuevo, procurando conservar su humedad natural; al mismo tiempo, se eliminaron manualmente las rocas, grava gruesa y residuos orgánicos grandes y posteriormente se tamizaron utilizando una malla de 0.5 cm de abertura. Después fueron guardados en costales de rafía, en una bodega a la sombra y a

temperatura ambiente. A estos suelos se les determinó el porcentaje de humedad, colocando tres muestras representativas obtenidas por cuarteo en una estufa a 50° C, hasta peso contante.

Para los experimentos (Fases A y B), los suelos se manejaron con su humedad natural en vista de que el objetivo era la conservación de los rizobios nativos, alterando lo menos posible los suelos. Para la fase B experimental, se repitió la determinación de humedad, en vista de que el suelo fue almacenado y utilizado después de haber concluido la fase 1, por lo que se esperaba una pérdida adicional de humedad.

El procedimiento de tamizado no se aplicó a los suelos del Estado de Morelos, debido a su alto contenido de arcilla y de humedad, de tal manera que solamente se eliminaron los fragmentos de roca, grava y residuos orgánicos, de manera manual y se les adicionó arena sílica lavada y secada a 50° C, en proporción suelo/arena 1:1, con el propósito de aumentar la porosidad y facilitar la penetración de las raíces; esto también debido a la textura arcillosa de estos suelos. Finalmente, se procedió al llenado de macetas provistas de círculos de tela nylon tipo organiza, colocados en el fondo de la mismas, para evitar la pérdida de suelo durante el desarrollo del experimento.

Preparación del suelo para los análisis Químicos y Físico-químicos.

Del suelo destinado y preparado para las fases experimentales se tomó, por cuarteo, una muestra representativa para ser secada a 50° C; posteriormente, fue pasada por el tamiz Mont Inox de 0.8 mm de abertura, 0.0332 pulgadas, correspondiente al No 20.

Para la determinación de C orgánico y N se utilizó un autoanalizador (CNHS/O) Perkin Elmer 2400 Serie II; el suelo se molió a grado impalpable (200 mallas), a partir de una muestra representativa del suelo tamizado por la malla 20.

Análisis Físicos

Color del suelo. Se determinó en seco y húmedo por comparación a través de las cartas Munsell (Munsell Soil Color Charts, 2000).

Textura. Por el método de Bouyoucos (1955); después de un tratamiento para la dispersión de partículas y eliminación de la materia orgánica (MO).

Densidad aparente. Por el método de Blake y Hartge, (1982).

Densidad de partículas (real). Por el método del picnómetro (SCS, 1998)

Capacidad de campo (CC). Se trata de la "capacidad de un suelo para retener agua en contra de la gravedad"; esta propiedad es de suma importancia ya que esta agua es propiamente la que aprovechan las plantas; además, para un experimento de invernadero, este cálculo es necesario para conocer el nivel de humedad óptimo que debemos conservar en las macetas que, en este

caso, se mantuvo entre el 50 y el 60 % de la CC, en vista de que el exceso puede afectar negativamente a la planta y a la simbiosis con rizobios y hongos micorrízicos.

La CC fue determinada al tomar una cantidad conocida de suelo seco; este suelo dispuesto en un tamiz recubierto con papel filtro, fue saturado de agua por capilaridad para, posteriormente, drenar durante 10-12 hrs, hasta la eliminación del agua de gravedad. El agua retenida en el suelo en contra de la gravedad (capacidad de campo), se determinó por diferencia de peso.

Análisis fisicoquímicos

pH. Reacción del suelo. Se determinó potenciométricamente en una relación suelo-agua 1:2.5 (SCS-USDA, 1986)

Capacidad de Intercambio catiónico total (CICT). Determinada por saturación con acetato de amonio pH 7.0. (SCS-USDA, 1986)

Análisis Químicos.

- C y N. Utilizando un analizador elemental (CNHS/O) Perkin Elmer 2400 Serie II. Las muestras de suelo para este análisis fueron homogeneizadas y molidas a grado impalpable, (tamiz de 200 mallas).
- Ca y Mg. A partir del extracto de bases intercambiables, se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica, utilizando un equipo Perkin Elmer Mod. 3110.
- Na y K. A partir del extracto de bases intercambiables, se determinaron por flamometría, utilizando un flamómetro marca Corning 400.

Planta Experimental (Fases A y B).

El Frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris* L var. Strike). Se trata de una subespecie del frijol común de la cual se dice que se aprovecha el estado inmaduro de la vaina de grano, cuya capacidad de fijación de nitrógeno se estima que es la menor de entre las leguminosas de este tipo (Hardarson, 1993). Esta leguminosa se utilizó para capturar y posteriormente aislar bacterias nativas del género *Rhizobium*, capaces de nodular esta variedad de frijol.

La semilla fue adquirida en Casa Cobos, proveedora de semillas para siembra, que se ubica en la central de Abastos de la Ciudad de México. Las semillas fueron remojadas 30 minutos en agua de la llave; y posteriormente enjuagadas con agua a presión, hasta la desaparición del color del pesticida (Captan) con el que son tratadas. El lavado es crucial pues este pesticida afecta directamente a las poblaciones bacterianas del suelo; así es que el lavado fue con el propósito de reducir el riesgo para los rizobios.

Se determinó el porcentaje de germinación de la semilla, utilizando una cama de germinación y evaluando la germinación a las 24 y 48 hrs. A las 24 hrs., no se registró germinación; a las 48 hrs., el porcentaje de germinación fue de 76.69. Con base en este porcentaje, se sembró la

primera Fase experimental, bajo condiciones de invernadero, para detectar la nodulación del frijol por rizobios nativos. Con las semillas germinadas se obtuvieron plantas con las que se evaluó la nodulación nativa. El aislamiento de cepas de rizobios se llevó a cabo a partir de los nódulos con mejores características (situados en el cuello de la planta y/o raíz principal, tamaño grande y de color rosado).

Captura y purificación de cepas

Para la captura de cepas se sembraron seis semillas por maceta, dejándose la población total que emergió, con el propósito de apreciar la competencia entre plantas. Las macetas utilizadas contenían 200 g de suelo.

El lote del suelo de Xochimilco (X) se compuso de once macetas, cada una de las cuales contuvo tres plántulas. Del suelo de Magdalena Petlacalco (M) emergieron 60 plántulas repartidas en 10 macetas, seis plántulas por maceta. Para el suelo de Tehuixtla (T), se lograron 57 plántulas repartidas en diez y seis macetas. Finalmente, con el suelo de Tequesquitengo (Q) se obtuvieron 48 plántulas repartidas de tres en tres por maceta. En conjunto, la Fase A estuvo integrada por cuarenta y ocho macetas.

Desarrollo de las plantas: Las plántulas fueron transportadas al invernadero del Instituto de Geología cuya temperatura oscilaba entre 21 y 37°C. Dada esta fluctuación, el régimen de riego no fue estable. Sin embargo, se determinó la conveniencia de adicionar agua tres veces por semana (tratando que el nivel de humedad fuera aproximadamente entre un 50-60% de la capacidad de campo de cada suelo) hasta que ocurriera la degeneración del cotiledón; en lo subsecuente, se aplicaron dos riegos por semana, según el requerimiento de cada maceta.

En el invernadero se observó el desarrollo de las plantas, y se registraron las siguientes variables fenológicas de respuesta: tiempo de germinación de la plántula; senescencia de cotiledones; brote de las hojas primarias, secundarias y terciarias; brote de estructuras florales y formación del fruto.

Cuando las plantas llegaron a la etapa de fructificación (séptima y octava semana), fueron llevadas al laboratorio para evaluar la nodulación y aislar las cepas de rizobios; se cuantificó el número de nódulos y su posición en la raíz: sea en cuello, raíces principales, secundarias o en terciarias, así como la morfología de los mismos (tamaño, color y consistencia). Los datos obtenidos del conteo se registraron en bases de datos.

Selección de nódulos y proceso de aislamiento de cepas de rizobios: La selección se basó en reconocer los nódulos con características preferentes, es decir: consistencia firme, posición en el cuello o raíz principal, mayor vigor, tamaño grande y de color rosado. Posteriormente se separaron de la planta cortándolos con un pedacito de raíz, para reducir las posibilidades de contaminación; se colocaron en frascos de vidrio; se lavaron en hipoclorito de calcio al 0.4% durante 1-2 minutos y se enjuagaron con agua de la llave estéril, hasta que no se percibiera el olor a cloro. Después, bajo condiciones de asepsia en el gabinete de flujo laminar, fueron

distribuidos en una placa de porcelana excavada esterilizada con alcohol y flameada, donde se maceraron con un agitador de vidrio previamente flameado; se evaluó el color del macerado; a mayor intensidad del color rojo mayor contenido de Leg-hemoglobina; este pigmento nodular de estructura pirrólica parecida a la sangre animal, se combina de manera reversible con el O2 por lo que, al reducir el O₂ libre a manera de trampa, evita que el exceso de este gas afecte a la nitrogenasa, lo que significa una mayor eficiencia bacteriana en la fijación del nitrógeno del aire (N₂) y mayor beneficio para la asociación simbiótica con las leguminosas. El jugo nodular obtenido se esparció por agotamiento de estría en placas de Petri con medio MELA (manitolextracto de levadura-agar; Vincent, 1970 (Tabla 3)).

Después de noventa y seis horas a

fueron resembradas por agotamiento de estría en cajas Petri, para lograr la separación de las colonias bacterianas de los rizobios (Rhizobium) sobre el medio con Rojo Congo. Este colorante es adsorbido por otras colonias de

temperatura ambiente, las muestras Tabla 3. Medio de cultivo empleado para el aislamiento de rizobios.

10 ml de K ₂ HPO ₄ 5%	0.4 gr extracto de levadura
10 ml de MgSO ₄ 7H ₂ O 2%	1000ml de Agua destilada
10 ml de NaCl 1%	15 gr. de Agar
10gr de Manitol	10ml Rojo Congo 1/400

bacterias saprófitas pero no por las de los rizobios; por ello, se desarrollan incoloras o ligeramente lechosas con sus bordes enteros y mucilaginosos. Con base en estas características coloniales, se aislaron y purificaron las cepas incubando las cajas a temperatura ambiente (20-24) C.) durante noventa y seis horas. Las cepas purificadas fueron sembradas en frascos de cristal de 6 ml de capacidad, con medio MELA inclinado sin Rojo Congo; una vez desarrolladas se guardaron en refrigeración (4° C).

Antes de sacrificar las plantas, se realizó el cálculo y registro de las siguientes variables de respuesta relativas a la producción y/o rendimiento de los suelos: altura y peso de las plantas; número de ejotes por planta; pesos fresco y seco de los mismos; número de frijoles por ejote así como longitud promedio de ejote. Posteriormente, los ejotes cosechados, almacenados en bolsas de papel, fueron secados en una estufa a 40°C, por tres días hasta peso contante para, posteriormente, registrar el peso seco de los ejotes cosechados. Estos datos no son relevantes para esta tesis, por lo tanto no fueron incluidos en este documento.

La parte aérea de la planta: Una vez determinadas las cualidades anteriores, la parte aérea de la planta fue cortada y pesada con el registro pertinente, también guardada en bolsas de plástico e introducida en la estufa de 40°C por tres días.

La raíz: El cepellón contenido en la maceta, se introdujo en un recipiente con agua para desprender el suelo de la raíz de la planta. El suelo se removió con agitación y decantación sobre tres tamices, se guardó y fijó con FAA (formol-ácido láctico- alcohol) en una bolsa de plástico sellada, para estudios posteriores. En este momento se obtuvo por separado tanto el suelo del cultivo como la raíz de las plantas segadas, de la cual se determinó el volumen por desplazamiento de agua en una probeta.

Fase B.

Con los cuatro suelos se probaron cuatro cualidades de fertilización

- 1. Fertilización química. También llamado control positivo o testigo positivo (+). Es la adición de agroquímicos a la tierra colectada y transportada al Instituto de Geología, de acuerdo a la dosis de NPK para campo (nitrógeno, fósforo, potasio) recomendada para esta variedad (80-160-0); esta dosis se duplicó debido a que en este caso es un experimento en maceta, donde hay menos suelo disponible para la planta.
- 2. Sin fertilización. También llamado control negativo o testigo negativo (-). Es el suelo con la biota y nutrimentos que por sí mismo posee.
- 3. Fertilización unicepa (U). Es la inoculación de las semillas de frijol ejotero con una sola cepa de *Rhizobium* seleccionada.
- 4. Fertilización Consorcio (C). Es la inoculación de las semillas de frijol ejotero con un conjunto de cepas, definido como "Consorcio de cepas" (C) con cualidades de interés. De cada suelo se aislaron cantidades diferentes de cepas por lo cual los cuatro Consorcios no poseyeron el mismo número de estas.

Para estos cuatro tratamientos se planeó hacer cinco repeticiones en los cuatro suelos con un diseño factorial de 4X4X5.

Se emplearon macetas de dos kilos; se caracterizó cada suelo por su capacidad de campo. Para el Suelo M, y X, se tamizaron con una maya de 2 mm de abertura. Los Suelos Q y T se secaron dentro del invernadero y se agregaron a las macetas en esas mismas condiciones.

A las macetas se les colocó una etiqueta con la inicial del suelo, el tipo de tratamiento y el número de repetición conforme al siguiente esquema.

Suelo	Tratamiento	Número de repetición			ción	
	+	1	2	3	4	5
M	-	1	2	3	4	5
	U	1	2	3	4	5
	С	1	2	3	4	5
	+	1	2	3	4	5
X	-	1	2	3	4	5
	U	1	2	3	4	5
	С	1	2	3	4	5
	+	1	2	3	4	5
T	-	1	2	3	4	5
	U	1	2	3	4	5
	С	1	2	3	4	5
	+	1	2	3	4	5
Q	-	1	2	3	4	5
	U	1	2	3	4	5
	С	1	2	3	4	5

+. Es el testigo positivo. Se adicionó fósforo como superfosfato triple (160 kg de P/hectárea).

En los suelos ácidos, X y M, se adicionó nitrógeno como urea (80 kg /hectárea) por ser de reacción alcalina

En los suelos alcalinos, T y Q, (de reacción tendiente a alcalina) se adicionó la misma dosis pero como sulfato de amonio, por ser de reacción ácida.

La adición de las cantidades de fertilizantes se basó en la densidad aparente de los suelos que es cercana a 1, así como en la capa arable de los suelos (entre 0 - 30 cm), lo cual propicia que se pueda calcular el peso de la hectárea en 30 x 106 kg.

- -. Es el testigo negativo, sin adición de ningún inoculante o fertilizante.
- U. Es el inoculante unicepa.

Selección de las cepas para los inoculantes.

Para la inoculación, se seleccionaron por sus características, las cepas competentes para la elaboración de dos tipos de inoculantes: un inoculante unicepa (U) y otro inoculante multicepa o Consorcio (C).

Las características de los nódulos tomadas en cuenta son, por prioridad:

- 1. Posición de los nódulos. Los nódulos que fueron empleados para el aislamiento y purificación deben estar posicionados en el cuello de la planta o en la raíz primaria.
- 2. Tamaño, color y turgencia. Si están, o no, posicionados en el cuello o raíz primaria, deben presentar un tamaño mínimo cercano a los 0.5mm, apariencia firme y coloración rosada o roja, lo cual indica un contenido alto del pigmento Leg-hemoglobina, el cual es fundamental para la fijación del nitrógeno.
- 3. Cantidad de nódulos. Si mantienen o no alguna o ambas de las cualidades anteriores, si se encuentran numerosos nódulos juntos, deben seleccionarse para el aislamiento de cepas para producir el inoculante.
- 4. Alta funcionalidad. Nódulos que presenten alguna de las características anteriores pasado el tiempo de cosecha del fruto.

Preparación del inoculante líquido.

Se preparó un litro de medio de cultivo líquido para Rhizobium de acuerdo con la siguiente fórmula:

Tabla 4. Medio de cultivo para la elaboración del inoculante

10 ml de K ₂ HPO ₄ 5%	0.4 gr extracto de levadura
10 ml de MgSO ₄ 7H ₂ O 2%	1000ml de Agua destilada
10 ml de NaCl 1%	10gr de Manitol

El medio de cultivo fue distribuido en veinte matraces de 150 ml, con tapón de algodón esterilizados en autoclave. En cada uno se depositaron 30 ml de medio líquido. Posteriormente las cepas seleccionadas fueron inoculadas al medio líquido agregando una asada de cada cepa a cada matraz.

Los matraces con los cultivos fueron colocados en una agitadora dentro de la estufa del Laboratorio de Biología de Suelos del Instituto de Geología UNAM, (a 28-30° C). Se agitaron durante cinco días. Al cabo de este tiempo, fueron llevados al laboratorio para realizar el conteo de bacterias en el cultivo líquido que se utilizará como inoculante.

Conteo de bacterias en el inoculante

Tabla 5. Cepas seleccionadas para el conteo de bacterias.

Сера
X3
M5
Q9
Q5
T1

Se seleccionaron, por la calidad de su crecimiento, cinco cepas (cultivos) para ser cuantificadas. Unas eran muy densas (mucilaginosas) y otras muy livianas. Una gota de inoculante (0.05 mililitros) fue diluido en nueve mililitros de solución Ringer esterilizada. Esta dilución fue llamada 9⁻¹, de esta dilución se tomó 0.05 mililitro con una pipeta esterilizada para colocarla en un segundo tubo con nueve mililitros de solución Ringer; así se obtuvo la dilución 9⁻². Con este procedimiento se continuó para conseguir las diluciones 9⁻³, 9⁻⁴, 9⁻⁵, 9⁻⁶, 9⁻⁷, 9⁻⁸, 9⁻⁹ y 9⁻¹⁰.

La cuantificación de bacterias se llevó a cabo con las diluciones 9-6, 9-7, 9-8, 9-9, 9-10. De estas diluciones, se extrajo un mililitro y fue depositado en una caja de Petri esterilizada. Posteriormente, se agregó una pequeña capa de medio de cultivo tibio (a 40°C) con rojo Congo y agar. Así se hizo con todas las cepas y por duplicado, para hacer el cálculo del número de unidades formadoras de colonia por mililitro de cultivo.

Inoculación de las semillas con cepas seleccionadas.

Se dispusieron 30 semillas de frijol ejotero en una bolsa de plástico. Cada maceta contendría seis semillas y al haber cinco repeticiones se requirieron treinta semillas por tratamiento.

Las semillas fueron reunidas en bolsas agregando lo siguiente:

- 1. Goma arábiga 30% como adherente, en proporción de gotas por bolsa, para humedecer las semillas.
- 2. El cultivo o inoculante: cuatro gotas del inoculante unicepa y una gota de cada cepa para el inoculante multicepa o Consorcio, agitando la bolsa para homogeneizar la adherencia de los inoculantes a las semillas.
- 3. Turba esterilizada y molida a grado impalpable (talco), para cubrir las semillas y propiciar la adsorción del inoculante.
- 4. Se infló a manera de globo cada bolsa y se agitó enérgicamente hasta que todo el contenido quedó adherido a las semillas.

Cada bolsa se etiquetó con el tratamiento (inoculo), la repetición y el suelo correspondiente; después fueron envueltas en una franela húmeda, conservándolas en un lugar fresco y húmedo para evitar la luz del sol de efecto bactericida, durante el tiempo que requirió la siembra de todo el experimento.

Siembra.

La siembra se realizó el 14 de abril de 2013. Los suelos fueron humedecidos veinticuatro horas antes de realizar la siembra. La cantidad de agua suministrada fue Tabla 6. 60% de la equivalente al 60% de la capacidad de campo (60% CC) (tabla 6). capacidad de campo

En cada maceta se depositaron seis semillas, cada una en una la siembra. horadación de 3 cm practicada al suelo con un agitador de vidrio y usando pinzas. Después de depositar la semilla en el hueco, se cubrió T con la tierra circundante.

para el riego previo a la siembra.

Suelo 60%CC
T 566.542751

Suelo	60%CC
T	566.542751
Q	771.428571
X	547.826087
M	1388.23529

Las macetas sembradas, se colocaron en el orden descrito en el apartado Etiquetación y llenado de las macetas.

Desarrollo del cultivo.

El cultivo se revisó recurrentemente; en seis ocasiones se determinó la cantidad de plantas emergidas, así como el estado fenológico o madures de las plantas. En las revisiones se observaron cualidades de crecimiento particulares tales como: la degeneración de los cotiledones, surgimiento de las hojas verdaderas, de las hojas trifoliadas, de las estructuras florales y la formación del fruto. Para cada suelo, se determinaron estos patrones y se agregaron observaciones como: la asimilación de agua, la presencia de plagas en el cultivo, sus tipos y distribución. El periodo de crecimiento duró once semanas: del 14 de abril (siembra) al 30 de junio (cosecha o siega) del 2013.

Evaluación de la siembra.

Número de plantas, germinación, supervivencia y variables de respuesta del rendimiento.

El conteo de plantas se realizó en cada maceta y se determinó la dinámica de emergenciamarchitamiento de las plantas, de cada tratamiento y en todos los suelos durante el proceso experimental. Este dato será de suma importancia pues determina las cualidades diferenciales de la producción entre tratamientos y suelos, como son número de ejotes y de semillas, peso de la cosecha y la producción por planta en cada tratamiento.

La cuantificación del número de plantas resulta importante para detectar el efecto de la competencia entre ellas respecto al crecimiento y rendimiento. Es una medida que se tomará en cuenta recurrentemente para el análisis de la producción de ejotes. Esta información se complementa con la fenología de las plantas de cada suelo, elaborada conforme a las observaciones realizadas en las revisiones recurrentes y durante los cortes de frutos.

Una hora antes de la cosecha, el cultivo fue irrigado para obtener los datos de rendimiento a capacidad de campo -la cantidad total de agua retenida por el suelo- es decir, con la humedad que es necesaria para saturar el suelo, sin impedir el flujo de agua, mientras la planta toma el agua que requiere.

La evaluación del rendimiento se efectuó con base en las siguientes variables:

- a) Supervivencia.
- b) Peso fresco del follaje sin ejotes.
 - c) Número de ejotes.
 - d) Peso seco del follaje.

- e) Altura de las plantas.
- f) Peso fresco de ejotes.
- g) Número de semillas por ejote (frijoles por ejote).
 - h) Peso seco de los ejotes.
- a) La supervivencia se determinó con base en el porcentaje de plantas que crecieron hasta formar frutos, respecto del total que fueron sembradas en cada maceta. El cálculo anterior multiplicado por cien constituye el porcentaje de supervivencia.

Supervivencia= <u>Plantas con fruto</u> X100 Plantas sembradas

- b) La altura fue tomada a cada planta desde la superficie del suelo hasta el punto más alto de cualquier estructura vegetal. Se expresa en centímetros. Después de la medición de atura, la planta se sacrificó, segándola a 2.5 cm de la superficie del suelo.
- c, d y e) El follaje fresco total, el follaje sin ejotes y el total de ejotes de cada planta se pesaron en una balanza digital.
- f y g) Al realizar el corte de los ejotes frescos, se registró la cantidad de los mismos que se extrajo de cada planta, así como la cantidad de semillas que cada ejote contenía. Posteriormente, se guardaron en bolsas de papel etiquetadas, para introducirlas en una estufa a 38-40 ° C de temperatura por una semana hasta peso constante, para evaporar el agua de la biomasa vegetal, tanto del follaje como de los ejotes.
- h e i) El follaje y los ejotes secos fueron pesados por separado en la misma balanza digital y el valor que se obtuvo de cada uno se registró en la base de datos.

En cuanto al rendimiento, se evaluaron nueve variables de respuesta, para ser comparadas entre los tratamientos probados, en tres cortes o cosechas. Estas variables son:

Número de ejotes producidos; peso fresco de la cosecha; peso seco de la cosecha; número de semillas de la cosecha; peso fresco por ejote; peso seco por ejote; ejotes por planta; longitud promedio del ejote y semillas por ejote.

Con los datos de la altura de las plantas y las variables de respuesta del rendimiento, se calculó el porcentaje de incremento de cada tratamiento, con énfasis en el efecto de la biofertilización, por medio del siguiente método:

Cálculo del porcentaje de incremento en las variables de respuesta, por efecto de la biofertilización y de la fertilización química.

Ecuaciones:

 $\underline{A_1 \times 100}$ = % de Incremento en la variable de respuesta por efecto de la biofertilización T(-)

 $\underline{A_2 \times 100}$ = % de Incremento en la variable de respuesta por efecto de la fertilización T(+) química

Dónde:

F = planta biofertilizada con rizobios, unicepa o multicepa (Consorcios) más los rizobios nativos

T (-)= Control (plantas sin biofertilizante y sin fertilizante químico) más los rizobios nativos

T (+)= Control (plantas sólo con fertilizante químico) más los rizobios nativos

 $F-T(-) = A_1$; es decir, valor de la variable de respuesta obtenida en la planta biofertilizada, menos el valor de esa misma variable de respuesta obtenida en la planta no biofertilizada (nodulada sólo con los rizobios nativos).

$$F - T (+) = A_2$$

Las variables de respuesta se analizaron estadísticamente con la prueba de Tukey HSD del programa SAS JMP 10. Este análisis contempló el rendimiento del cultivo por cortes, para detectar y valorar las cualidades productivas de la variedad Strike de frijol ejotero, relacionadas con la fertilización química o biológica, en los tres periodos de cosecha. En estos, se realizaron observaciones y determinaciones de las variables fenológicas como son: tiempo de surgimiento de la plántula; senescencia de cotiledones; brote de las hojas primarias, secundarias y terciarias; brote de estructuras florales y momento de la formación del fruto. Los resultados se registraron en bases de datos independientes para sus análisis.

También se recolectaron las vainas frescas de talla comercial conforme a las normas mexicanas (SAGARPA-SE-BANCOMEXT, 2006), con tamaños menores a 8 cm y mayores a 14 cm. Una vez cortados los ejotes se midieron y pesaron individualmente para, después, concentrarlos en una bolsa de papel y secarlos en una estufa por tres días a 40°C. Posteriormente, los ejotes se pesaron y su valor se registró en una base de datos para expresarlos como resultados.

En la fase final del experimento, las raíces de las plantas fueron analizadas; determinando la cantidad de nódulos encontrados en ellas y considerando su posición en la raíz. Cabe destacar que todas estas cepas fueron obtenidas y cuantificadas en el periodo de senescencia de la planta, después de tres cosechas de ejotes. Por esta razón, los nódulos en ocasiones estaban ya necrosados y en otras se veía reflejada la selección de cepas de alta funcionalidad, pues permanecían turgentes y activos aún después del periodo reproductivo y, con frecuencia, también durante en el marchitamiento de la planta.

Las plagas

Entre los factores bióticos, las plagas y enfermedades pueden causar enormes pérdidas en rendimiento; aunque dependerá del patógeno, de las características de la población prevaleciente, la variedad de fréjol, las condiciones ambientales de la zona, y el sistema del cultivo practicado.

El cultivo presentó las siguientes plagas.

Fungus gnat, mosco negro. De acuerdo a la información brindada por la encargada del invernadero, a esta especie se le ha visualizado en diferentes experimentos y se ha registrado previamente su existencia en el recinto. Es un insecto que puede ser vector de enfermedades virales, bacterianas o fúngicas. Se detectó en el experimento a las cuatro semanas de siembra y se dispersó en una semana.



Figura 9. Las larvas de *Fungus gnat* muerden las hojas frescas del frijol ejotero

"Araña roja". Se registró una fuerte presencia de este organismo en la mayoría de las plantas del cultivo durante el periodo de fructificación. Esta infestación coincidió con la senescencia de las plantas. Se intentó combatirlas con una solución de jabón neutro asperjada en las telarañas y hojas, así como aumentando la humedad relativa en el invernadero. No obstante, no hubo reducción visible de la prevalencia de la plaga.

Moho blanco. En las superficies foliares y en los ejotes, se observó el crecimiento de manchas fúngicas, probablemente fomentadas humedad ambiental que se incrementó por la alta concentración de plantas por metro cuadrado, donde el follaje no permite la evaporación del agua, lo cual crea condiciones adecuadas para el desarrollo de estos hongos. En campo, se recomienda sembrar entre 15 y 18 semillas por metro de surco, para siembras de hilera sencilla y para siembras a doble hilera de 12 a 16 semillas por metro lineal, con lo cual se podrá obtener entre 10 y 14 plantas por metro lineal (Comisión veracruzana comercialización agropecuaria (COVECA), 2011).



Figura 10. Moho blanco en plantas en el periodo de senescencia.

Virus del mosaico común del frijol (BCMV). Se observó la sintomatología de la infección por este virus, que consiste en el arrugamiento y contracción de las hojas. Es probable que haya sido transmitido por cualquiera de los insectos visualizados anteriormente, o que las semillas hayan estado infectadas; ambas opciones se encuentran documentadas en la literatura como causas de esta enfermedad.



Figura 11. Derecha: Manchas pardas atípicas en hojas de plantas maduras; Izquierda: Mosca roja sobre una hoja de planta madura

Resultados y Discusión

A continuación se expone la información obtenida de los procesos experimentales descritos, comenzando con las distintas etapas de la Fase A y continuando con los respectivos momentos de la Fase B. Este capítulo inicia con el primer punto de la fase A, que se refiere a lo encontrado en los diversos análisis de laboratorio, practicados a los cuatro suelos:

Fase A Análisis físicos, físico-químicos y químicos de los suelos.

Análisis físicos

Tabla 7. Resultado de los análisis físicos de los cuatro suelos. Q= Tequesquitengo; T=Tehuixtla; M= Magdalena Petlacalco; X=Xochimilco.

Suelo	Color en seco Munsell	Color	Color en húmedo Munsell	Color	Densidad Aparente Pb Mg/m3	Densidad de partículas Pp Mg/m3	Porosidad %	% Arenas	% Limo	% Arcilla	Clasificación Textural
Q	10YR 3/1	Gris muy obscuro	10YR 2/2	Pardo muy obscuro	0.95	2.1	54.76	12.72	26.88	60.40	Arcilla
Т	10YR 3/2	Pardo grisáceo muy obscuro	10YR 2/1	Negro	0.98	2.1	53.33	18.83	31.97	49.2	Arcilla
M	10YR 5/3	Pardo	10YR 2/1	Negro	1.35	2.5	46	82.96	11.44	5.6	Arena francosa
X	10YR 6/4	Pardo amarillento claro	10YR 3/4	Pardo amarillento oscuro	1.06	2.32	54.31	43.52	50.48	9.60	Franco limosa

Color. En los cuatro suelos resultó congruente con el contenido muy bajo de carbono orgánico y con el origen de los suelos volcánico y calcimagnésicos, a partir de tobas y cenizas volcánicas oscuras y rocas calizas también oscuras, respectivamente; con excepción del suelo X, clasificado como Andosol ócrico que, debido al proceso edafogenético que le dio origen, donde intervinieron sales de fierro, desarrolló un color ocre-amarillento típico de este gran grupo de suelos.

Densidad aparente y de partículas. Los suelos Q y T, son también congruentes con la plasticidad y porosidad que les da su contenido de arcilla. En los suelos de origen volcánico (M y X), su contenido alto de limo, que se traduce en una textura arena francosa y franco - limosa, respectivamente, se refleja en valores de densidades ligeramente más altos de los que, comúnmente, se detectan en suelos de origen volcánico de textura arenosa.

Capacidad de Campo (CC). El suelo M retuvo 5.9 gramos de agua/5.1 gramos de suelos seco; esta medición fue la más baja de todos los suelos estudiados, debido a que este suelo contiene arena en un 82.96%, lo que le confiere una textura clasificada como arena

francosa, con partículas que no forman agregados; además posee sólo 0.24% de carbono orgánico (muy pobre en materia orgánica), el más bajo de los cuatro suelos probados.

En el caso del suelo X, la CC es de 6.3 gramos de agua por 13.8 gramos de suelo seco. Esta medida lo coloca como el segundo con menor retención de agua; los análisis físicos determinan que se compone en un 43.52% de arenas y solo 9.6% de limo, lo que determina que tenga este patrón de poca retención de agua, que se refuerza con un 0.36% de contenido de carbono, que no es menor al suelo M, pero que sigue siendo pobre y muy inferior a los cuatificados en T y Q.

Para el Suelo T, la CC es de 12.7 gramos de agua por 26.9 gramos de suelo seco. Este fue el suelo que mayor capacidad de campo registró, debido a un elevado porcentaje de arcilla que, aunque no fue la más alta (49.2%), en interacción con el contenido total de carbono (1.28%) y la cantidad de limo (31.97%) y de arena (18.83%), promovieron que este suelo tuviera la mayor capacidad de retención de agua. En este caso, el porcentaje de arena (18.83%) no fue determinante en la cantidad de agua que retiene, pues el porcentaje fue mayor en este suelo que en Q (12.72%), con lo que se esperaría que tuviera más drenaje de agua; es muy probable que el contenido de limo, que es mayor en T, haya compensado esta distinción colocándolo como el suelo con mayor CC.

Finalmente, la cantidad de agua retenida en el Suelo Q (10.8 gramos de agua por 16.8 gramos de suelo seco) en este suelo, lo sitúa en el segundo lugar con respecto a los demás suelos. Este patrón se debe a sus contenidos de carbono (1.35%), de arcilla (60.4%), arena (12.72%) y limo (26.88%). Como ya se comentó respecto a la comparación con el suelo T, este suelo (Q) posee mayores porcentajes de carbono y arcilla, así como menor cantidad de arena, con lo que se esperaría que retuviera más agua que T; sin embargo, el tener menor cantidad de limo, determinó que este suelo quedara en la segunda posición, respecto a la CC, dentro de este grupo de cuatro suelos

Análisis fisicoquímicos y químicos Suelo M.

Los resultados de los análisis fisicoquímicos y químicos del suelo M se muestran en la tabla 8:

Tabla 8. Análisis físico - químicos y químicos del suelo de Magdalena Petlacalco (M).

Suelo	% C total	% N total	Relación C/N	P Brey mg/kg	Cationes intercambiables (cmol/kg)		iables	pH agua 1:2.5
					K	Ca	Mg	
M	0.29	0.10	2.9	6.5	0.19	1.40	0.44	5.91
	0.28	0.10	2.8	6.5	0.19	1.36	0.42	5.85

pH. Resultó ácido (Jones y Wolf, 1984); el carbono orgánico se considera muy bajo (Landon, 1984); el nitrógeno total está entre valores medianamente pobres y medianos (Moreno, 1978); la relación C/N fue muy baja, menor a 8 (Moreno, 1978); el fósforo fue bajo, menor de 15, tendiendo a muy bajo (CSTPA, 1980); por el potasio intercambiable, este suelo es de Clase Muy baja, < 0.2 (Etchevers et. al, 1971); por el calcio intercambiable, se clasifica

de Clase Muy baja, < 2 (Etchevers et. al, 1971); finalmente, por el magnesio intercambiable, se clasifica Clase Muy baja, < 0.5 ; (Etchevers et. al, 1971).

Suelo X

Para el suelo X la siguiente tabla 8 expresa sus cualidades químicas y fisicoquímicas.

Tabla 9. Análisis físico - químicos y químicos del suelo de Xochimilco (X).

Suelo	% C total	% N total	Relación C/N	P Bray mg/kg	Cationes intercambiables (cmol/kg)		ables	pH agua 1:2.5
					K	Ca	Mg	
X	1.33	0.36	3.694	12.9	0.31	8.86	2.38	6.01
	1.34	0.38	3.52	12.6	0.31	8.98	2.48	6.08

El pH resultó ácido, de 5.6 a 6.0 (Jones y Wolf, 1984); el carbono orgánico se considera muy bajo (Landon, 1984); por su contenido en nitrógeno total este suelo es rico > 0.22 (Moreno, 1978); la relación C/N fue muy baja, menor a 8 (Moreno, 1978); el fósforo fue bajo, menor de 15, tendiendo a medio (CSTPA, 1980); por el valor de K intercambiable este suelo es Clase Media, de 0.3 a 0.6 (Etchevers et. al, 1971); por el valor de calcio intercambiable resulta Clase Media, de 5-10 (Etchevers et. al, 1971); finalmente, por su contenido en magnesio intercambiable, se clasifica también como Clase Media, de 1.3 a 3.0 ; (Etchevers et. al, 1971).

Suelo T

Las cualidades químicas y fisicoquímicas del suelo T son las siguientes:

Tabla 10. Análisis físico - químicos del suelo de Tehuixtla (T).

Suelo	% C total	% N total	Relación C/N	P Bray mg/kg	Cationes intercambiables (cmol/kg)		pH agua 1:2.5	
					K	Ca	Mg	
Т	1.27	0.26	4.88	38.8	1.40	35.93	6.16	6.51
	1.28	0.25	5.12	36.7	1.43	36.55	6.24	6.49

El pH resultó ligeramente ácido, de 5.6 a 6.0, tendiendo a neutro (Jones y Wolf, 1984); el carbono orgánico se considera muy bajo (Landon, 1984); por su contenido en nitrógeno total este suelo es rico > 0.22 (Moreno, 1978); la relación C/N fue muy baja, menor a 8 (Moreno, 1978); el contenido de fósforo en este suelo lo sitúa en la Clase alta, mayor de 30 (CSTPA, 1980); por el valor de K intercambiable también es Clase alta, > 0.6 (Etchevers et.

al, 1971); de igual manera, por el valor de calcio intercambiable este suelo se clasifica como Clase alta, >10 (Etchevers et. al, 1971); finalmente, por su contenido en magnesio intercambiable este suelo es también Clase alta, > 3.0; (Etchevers et. al, 1971).

Suelo Q

Los parámetros fisicoquímicos y químicos de Q se resumen en la tabla 10:

Tabla 11. Análisis físico - químicos del suelo de Tequesquitengo (Q).

Suelo	% C total	% N total	Relación C/N	P Bray mg/kg	Cationes intercambiables (cmol/kg)		bles	pH agua 1:2.5
					K	Ca	Mg	
Q	1.35	0.23	5.86	45.5	1.46	28.94	7.21	6.45
	1.35	0.25	5.4	47.0	1.43	29.44	7.29	6.45

El pH resultó ligeramente ácido, de 5.6 a 6.0 (Jones y Wolf, 1984); el carbono orgánico se considera muy bajo (Landon, 1984); por su contenido en nitrógeno total este suelo es rico > 0.22 (Moreno, 1978); la relación C/N fue muy baja, menor a 8 (Moreno, 1978), lo que significa una cantidad alta de N con respecto al C y, por tanto, mayor capacidad productiva; el contenido de fósforo lo coloca en la Clase alta, mayor de 30 (CSTPA, 1980); por el valor de K intercambiable este suelo es Clase alta, > 0.6 (Etchevers et. al, 1971); el valor de calcio intercambiable también lo sitúa en la Clase alta, > 10 (Etchevers et. al, 1971); finalmente, por su contenido alto en magnesio intercambiable corresponde a la Clase alta, > 3.0; (Etchevers et. al, 1971).

Debido a que los cuatro suelos fueron muy pobres en Carbono orgánico (C), descartamos dicho parámetro en la determinación de la capacidad productiva de aquellos, tomando en cuenta el pH y el contenido en nutrimentos. De menor a mayor capacidad productiva por su contenido están:

- * El suelo M fue el más ácido; y el más pobre en N, P, K, Ca y Mg
- ** El suelo X le sigue en capacidad productiva. Resultó ser menos ácido (ligeramente ácido); rico en N, pobre en P y medio en K, Ca y Mg.
- *** El Suelo T es ligeramente ácido, resultó el más cercano a la neutralidad; rico en N, P, Ca y Mg.
- **** El suelo Q es ligeramente ácido; el más rico de los cuatro en: N, P, K, Ca y Mg.

En la tabla 12 las cualidades físico-químicas y químicas de todos los suelos son integradas

Tabla 12. Parámetros fisicoquímicos y químicos de los cuatro suelos estudiados

	pH agua 1:2.5	P Bray mg/kg	% C total	% N total	Cationes	s intercambial	oles cmol/kg
Suelo					Ca	Mg	K
X	6.01	12.9	1.33	0.36	8.86	2.38	0.31
Λ	6.08	12.6	1.34	0.38	8.98	2.48	0.31
M	5.91	6.5	0.29	0.10	1.40	0.44	0.19
IVI	5.85	6.5	0.28	0.10	1.36	0.42	0.19
Т	6.51	38.8	1.27	0.26	35.93	6.16	1.40
1	6.49	36.7	1.28	0.25	36.55	6.24	1.43
0	6.45	45.5	1.35	0.23	28.94	7.21	1.46
Q	6.45	47.0	1.35	0.25	29.44	7.29	1.43

Evaluación de la nodulación nativa y aislamiento de cepas.

En el conteo de nódulos efectuado en el experimento con los cuatro suelos objeto de estudio se eligieron, preferentemente, nódulos turgentes de color rojizo-rosado, de buen tamaño y posicionados en el cuello de la planta, o en la raíz primaria, a los cuales se les conoce como nódulos efectivos o competentes. La cuantificación, evaluación, caracterización y selección de los nódulos es importante en este trabajo, considerando que existe información publicada acerca de la ineficacia de Rhizobium phaseoli, tanto para nodular a las plantas como para dar una respuesta favorable en el rendimiento de cultivos de frijol (Buttery, et al., 1987) (Moxley, 1982). Por otro lado, en la literatura está registrado que la actividad de los nódulos depende de factores específicos del suelo, así como de considerar las cualidades locales del cultivo (Sparrow & Ham, 1983).

Cabe destacar que durante la evaluación de la nodulación se encontraron pocos nódulos situados en el cuello, más bien se ubicaban en las raíces secundarias.

Tabla 13. Número y posición de los nódulos obtenidos en cada suelo.

	Suelo					
Características	X	M	T	Q		
Número de plantas	46	39	54	40		
Cuello	10	1	32	14		
Eje 1°	36	2	0	5		
Eje 2°	605	475	186	311		
Total	651	478	218	330		

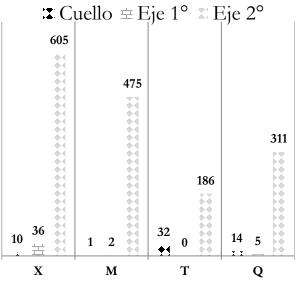


Figura 12. Gráfico del número de nódulos por suelo en relación con su ubicación en la raíz de la planta.

Suelos de origen volcánico

De las plantas desarrolladas en el suelo de Xochimilco (X) se recuperaron 651 nódulos, de los cuales 10 fueron del cuello, 36 de la raíz primaria y 605 de raíces secundarias. De este suelo se pudieron aislar cepas de interés. Del el suelo de Magdalena Petlacalco (M) se obtuvo un nódulo de cuello, dos de raíces secundarias y cuatrocientos setenta y cinco de raíces secundarias (Tabla 13).

Suelos calcimagnésicos

En las plantas crecidas en los suelos T y Q se encontraron 218 y 330 nódulos, respectivamente, de los cuales se encontraron 32 en el cuello de plantas desarrolladas en suelo de Tehuixtla (T) y 14 también en el cuello de plantas que crecieron en el suelo de Tequesquitengo (Q). Se lograron aislar una gran cantidad de cepas.

Análisis de la nodulación.

Las plantas del suelo X proporcionaron la mayor cantidad de nódulos y las del suelo T la menor. Cabe destacar que de estos nódulos se obtuvieron 32 cepas nativas con una alta capacidad invasiva para formar nódulos en el cuello de las plantas de frijol desarrolladas en el suelo T. Estas cepas probablemente estaban ya habituadas a la colonización de plantas de frijol ejotero, no así las que se obtuvieron de los suelos M y X. Esto se menciona porque los sitios de donde proceden los suelos del estado de Morelos (T y Q) han sido dedicados, entre otros cultivos, al cultivo de frijol ejotero, lo que puede explicar la mayor presencia de nódulos de cuello.

En otro sentido, la menor presencia de cepas invasoras en estos suelos (218 y 330 respectivamente), puede reflejar que los cultivos intensivos muestreados son tratados con fertilizantes químicos que inhiben o alteran la nodulación nativa y, con ello, la fijación biológica de nitrógeno atmosférico. En la literatura se reporta que el rendimiento de cultivares de soya es máximo si se combina la disponibilidad de nitrógeno en el suelo con la fijación biológica de N (Harper, 1974 citado por Buttery et al., 1987). La actividad simbiótica de los nódulos se promueve en ambientes con bajas concentraciones de nitratos en el suelo, ya que la presencia de niveles altos de estos compuestos nitrogenados merma notablemente la producción y la actividad simbiótica (Buttery et al., 1987). También se sabe que la disponibilidad de fosforo interviene fuertemente en la fijación de nitrógeno en habas (Ssali and Keya, 1983 citado por Butter et al., 1987); del mismo modo, la masa de nódulos y los niveles de actividad de reducción de acetileno, utilizada para la evaluación de la fijación biológica del nitrógeno, están altamente correlacionados con el suministro de P (Graham y Rosas 1979, citado por Buttery et al., 1987).

Es por esto que se encontraron menos nódulos en T y Q; al respecto es necesario mencionar que por su contenido elevado de arcillas se presenta el riesgo de que al perder drásticamente humedad, el suelo tienda a agrietarse, lo que puede afectar físicamente a las raíces y sus nódulos, al ocasionarse rompimiento de estas estructuras.

Selección de cepas

Se seleccionaron las cepas con las cualidades preferentes ya antes mencionadas. Del suelo X se eligieron cinco cepas. En la siguiente tabla se enlistan las cepas seleccionadas de este suelo y la característica por las que fueron elegidas.

Tabla 14. Cepas de interés del suelo de Xochimilco (X). Se enlistan junto con las características que les hacen destacables.

Cepas seleccionadas Suelo X	Característica
X1	7 nódulos en cuello y algunos en eje primario
X3	15 nódulos en eje primario
X4	3 nódulos en eje primario
X6	2 nódulos en eje primario
X9	3 grupos de nódulos medianos

De igual manera, para el suelo M se muestran las cuatro cepas seleccionadas y la característica preferente de cada una.

Tabla 15. Cepas de interés asiladas del suelo de Magdalena Petlacalco (M). Se enlistan junto con las cualidades que las hacen elegibles

Cepas seleccionadas Suelo M	Característica
M5	72 nódulos en raíces secundarias
M6	85 nódulos en raíces secundarias
M 7	2 en raíces primarias
M8	1 en cuello

Es importante destacar y reiterar que las nueve cepas anteriores fueron obtenidas de suelos dedicados al cultivo de frijol de grano (*Phaseolus vulgaris*), no obstante, fueron capaces de establecer simbiosis con la variedad ejotera de este trabajo.

A continuación se enlistan las diez cepas aisladas del suelo del municipio de Tehuixtla:

Tabla 16. Cepas obtenidas del suelo de Tehuixtla, enlistadas con las cualidades de interés

Cepas seleccionadas Suelo T		Característica		
T1	3 grandes	5 medianos pigmentados 8 chicos pigmentados		
Т3		30 nódulos en cuello		
T4		3 muy grandes		
Т6	1 grande muy pimentado			
T10		1 grande muy pimentado		
T11		2 grandes poco pigmentados		
T12		1 grande poco pigmentado		
T21		Alta funcionalidad		
T22		Alta funcionalidad		
T23		Alta funcionalidad		

Estos nódulos mostraron muy buenas características, es decir, que muestran las propiedades que corresponden a un nódulo formado por rizobios de simbiosis efectivas; entre otras propiedades, resaltan su establecimiento en el cuello de la planta y su color rosado al exterior, dado por un contenido alto de leg-hemoglobina. También se encontraron cúmulos de nódulos con tamaños notables en el cuello y raíz principal de las plantas crecidas en este suelo. Algo trascendental es que tres de estas cepas se aislaron en periodos posteriores a la floración en plantas en senescencia, por lo que se les caracterizó como cepas de alta funcionalidad, debido a que entre más tiempo dure la vida activa del nódulo con respecto al ciclo de vida de la planta, mayor será el aporte de nitrógeno a la planta.

La tabla siguiente enlista las diez cepas obtenidas del suelo Q de las que de modo similar al suelo T, se aislaron de nódulos con excelentes características simbióticas, de alta funcionalidad, notable coloración y posición preferente.

Tabla 17. Cepas aisladas del suelo de Tequesquitengo (Q). Se enlistan con las cualidades que las hacen de interés.

Cepas seleccionadas Suelo Q	Característica		
Q1	4 cuello		
Q2	1 mediano cuello		
Q5	1 cuello y 4 muy pigmentados		
Q7	3 cúmulos de nódulos y 1 en cuello		
Q8	8 nódulos en cuello		
Q9	pigmentados y 2 en raíces primarias		
Q10	3 en raíces primarias		
Q23	Alta funcionalidad		
Q31	3 Alta funcionalidad pequeños		
Q32	3 Alta funcionalidad pequeños		

Las cepas obtenidas de los suelos **T** y **Q** son simbiontes naturales de la variedad ejotera del frijol, por lo que en estos suelos, se obtuvieron más especies nativas con cualidades de interés que con los suelos X y M.

Los resultados del conteo de bacterias en los inoculantes se expresan a continuación.

Tabla 18. Resultado del conteo de bacterias en los inoculantes líquidos probados. Se realizó la prueba por duplicado. Se expresa la dilución asociada a la cepa. Las casillas con 0 no desarrollaron ninguna unidad formadora de colonia. En contraste, las que presentan "..." fueron sumamente densas y no se pudo realizar un conteo confiable. Los resultados se expresan en notación científica.

Cepa	9 ⁻⁶	9 ⁻⁷	9 ⁻⁸	9 -9	9 ⁻¹⁰
X3A	•••	3.1185E+10	2.8583E+11	2.1851E+12	1.9038E+13
X3B	•••	•••	•••	1.9061E+12	1.6946E+13
M5A	95659380	573956280	7748409780	•••	4.1144E+12
M5B	85030560	765275040	1.4636E+10	1.4722E+11	3.8355E+12
Q9A	10628820	956593800	1.5497E+10	•••	1.325E+12
Q9B	42515280	765275040	7748409780	•••	9.0656E+11
T1A	744017400	3826375200	4.9934E+10	6.1212E+11	4.1841E+12
T1B	903449700	1626209460	6.5431E+10	5.0365E+11	5.6486E+12

Fase B

Crecimiento de las plantas

Fenología, número de plantas, germinación y supervivencia.

La senescencia de los cotiledones. Panorama general.

Este es un indicador de la madurez de las plantas. De modo general, los tratamientos inoculados presentaron una mayor senescencia de cotiledones, es decir, que los cotiledones degeneran más rápido en las macetas que fueron biofertilizadas; esto se debe probablemente, a que las plantas inoculadas con rizobios tienen una menor dependencia de los cotiledones, en vista de que las bacterias les aportan N. Lo anterior indica que la madurez de las plantas tratadas con cepas bacterianas nativas, se incrementa respecto a la de los tratamientos testigo positivo y negativo. La consecuencia puede ser que esta madurez se refleje en la etapa reproductiva y la formación de los frutos, es decir, que los tratamientos inoculados se anticipen en esta etapa del desarrollo a los otros tratamientos.

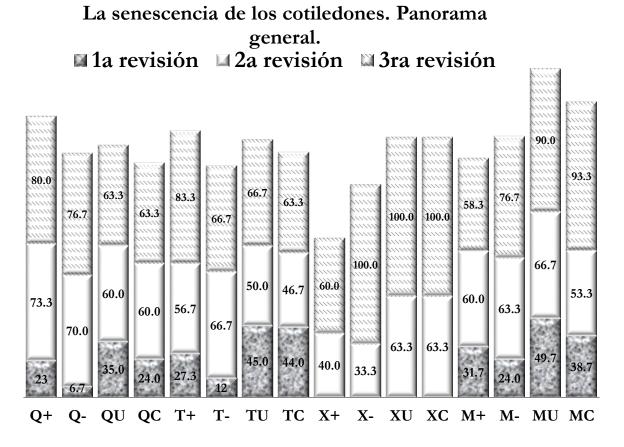


Figura 13. Porcentaje de senescencia de los cotiledones en cada uno de los tratamientos del cultivo.

El desarrollo de hojas terciaria. Panorama General.

Este es otro indicador de madurez de las plantas (figura 14; arriba). De modo comparativo, en las revisiones se observó que en los suelos T, Q y M, las plantas que crecieron con los tratamientos, Unicepa, negativo y Consorcio, presentaron un mayor porcentaje de hojas terciarias que el tratamiento positivo.

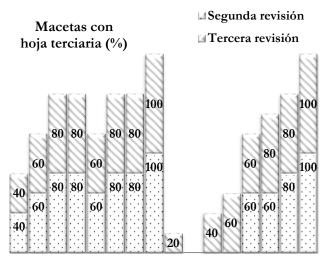
En el caso emblemático y contrastante del suelo X (de Xochimilco), se observó que las plantas del tratamiento negativo (X-), no habían desarrollado hojas trifoliadas en la tercera revisión, lo cual señala la poca aptitud del suelo per se, para promover un crecimiento de interés para el agricultor, pues en su estado nativo, las plantas tardan mucho en madurar comparado con las plantas biofertilizadas (XU y XC) que superan al testigo positivo X+, lo cual sugiere que la inoculación promueve el desarrollo y madurez de la planta.

Desarrollo de los botones. Panorama general.

Las macetas que presentaron formación de estructuras florales en la tercera revisión de cada tratamiento, se contabilizaron y plasmaron en la figura 14 abajo; en esta variable de respuesta, no se percibió ningún patrón de desarrollo que compartieran los diferentes tratamientos.

En el caso del suelo Q, las plantas fertilizadas químicamente (Q+) presentaron un porcentaje igual de botones que el que no fue tratado (Q-); mientras que las plantas biofertilizadas o inoculadas (QU y QC) compartieron el porcentaje de este indicador de desarrollo, que es menor a lo obtenido por los testigos, positivo y negativo.

En el suelo T, la dinámica fenológica fue distinta; encontramos que el testigo positivo (T+) y el tratamiento Unicepa (TU) coincidieron en el porcentaje de macetas con racimos, en tanto que el tratamiento testigo negativo (T-) y el Consorcio (TC) igualaron en porcentaje; incluso la presencia de macetas con estructuras reproductivas en estos últimos, fue mayor que en los anteriores.



Q+ Q- QUQCT+ T- TUTCX+ X- XUXCM+M-MUMC

Macetas con racimos (%)

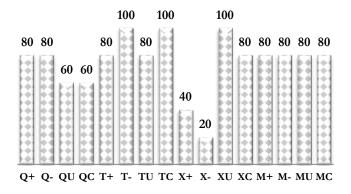


Figura 14. Arriba: Porcentaje de macetas con hojas terciarias. Abajo: Porcentaje de macetas con botones florales al tiempo de la tercera revisión en cada tratamiento del cultivo.

En el caso del suelo X, la menor cantidad de botones florales la presentó el tratamiento testigo negativo (X-), seguido por el tratamiento testigo positivo (X+), el cual fue ampliamente superado por las macetas biofertilizadas inoculadas con rizobios.

En el suelo M se observó un desarrollo homogéneo de estructuras florales, donde no hubo variación entre tratamientos.

La altura máxima de las plantas. Panorama general.

En las plantas sembradas en el Ο no se detectaron diferencias significativas (prueba F α =0-05) entre los tratamientos controles (positivo y negativo); sin embargo, se detectaron diferencias entre el testigo positivo y el tratamiento unicepa (QU), así como entre el mismo testigo positivo el bioinoculante Consorcio (QC) cuya diferencia fue estadísticamente significativa. Con esta prueba también detectaron diferencias entre Q- y QU, mientras que las diferencias entre el control negativo (Q-) y el inoculante Consorcio significativas (prueba F, α =0-05).



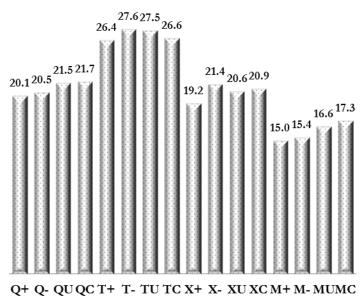


Figura 15. Registro integral de la altura media de cada lote de plantas evaluadas en la fase B del experimento.

En el suelo Q, la fertilización química no tuvo efecto sobre la altura de las plantas (Q+ y Q– no diferentes). La biofertilización (QC) tuvo un efecto sobre la altura de las plantas. La inoculación con un Consorcio de cepas de rizobios nativos (QC) propició una distinción estadística significativa de los controles (Q+) y (Q-) (prueba F, α=0-05). La biofertilización (QU) tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre la altura de las plantas; sin embargo, este fue de menor magnitud que el calculado para la relación del tratamiento Consorcio (QC) con los dos testigos (Q- y Q+). El tratamiento fertilizado químicamente (Q+) registró la menor medida de altura media, en tanto que el inoculado (QC) proporcionó la altura promedio más elevada.

El porcentaje de incremento registrado entre la altura de los tratamientos controles y los biofertilizados, se presenta a continuación.

Tabla 19. Porcentaje de incremento en la altura de las plantas de los tratamientos biofertilizados sobre los tratamientos testigos positivo y negativo del suelo Q. C= Biofertilizante Consorcio; U= Biofertilizante Unicepa; += Testigo pasitivo; -= Testigo negativo.

	C/+	U/+	U/-	C/-	
Q	7.991293532	7.089552239	5.128205128	6.013431013	

La biofertilización con un Consorcio de cepas, en el Suelo Q tuvo, en general, efecto sobre la altura de las plantas. Por otro lado, la fertilización química en este suelo no presentó ningún efecto sobre la altura de las plantas; por ello, se registró un incremento estadísticamente significativo de 7.99% entre QC y Q+, y un incremento no significativo del 7% entre UQ respecto al testigo positivo.

En el suelo T, la probabilidad de hallar diferencias significativas entre los controles (T+ y T-) fue muy baja (prueba F, α =0-05); el inoculante Consorcio (TC) propició diferencias significativas mayores que el inoculante unicepa (TU), en el cual se registraron diferencias significativas. El promedio más alto de la altura de plantas se calculó en los tratamientos T- y TU, mientras que la menor talla promedio de plantas se registró en T+.

Resumiendo lo anterior, la biofertilización con un Consorcio de cepas, en el Suelo T, tuvo efecto sobre la altura de las plantas. La fertilización química no presentó ningún efecto sobre esta variable de respuesta. Así que ambos tipos de biofertilización incrementaron el largo de las plantas pero solo resultó significativo con la biofertilización con el Consorcio de cepas respecto a los controles (+ y -). El porcentaje del incremento registrado entre los tratamientos controles y los biofertilizados en esta variable se presenta a continuación.

Tabla 20. Porcentaje de incremento en la altura de las plantas de los tratamientos biofertilizados sobre los tratamientos testigos positivo y negativo del suelo T. C= Biofertilizante Consorcio; U= Biofertilizante Unicepa; += Testigo positivo; -= Testigo negativo.

% de incremento	C/+	U/+	U/-	C/-	
Т	0.824972129	4.182194617	-0.51420528	-3.720088478	

En el suelo X, tanto la adición de fertilizantes químicos como los biofertilizantes, estimularon significativamente la altura de las plantas. Sobre esta variable, la diferencia entre X+ y XC no fue estadísticamente significativa; sin embargo, si hubo significatividad estadística entre X+ y XU. El tratamiento unicepa (XU) no se distinguió estadísticamente del control negativo en este suelo. (Prueba F, α =0-05).

Cabe destacar que el tratamiento testigo negativo (X-) registró la altura promedio de plantas más elevada de entre los otros tratamientos, mientras que X+ presentó la menor magnitud de esta variable. Esto pudo deberse a que las plantas del X- debieron haber tenido algún beneficio de los rizobios nativos, mientras que en el X+, los agroquímicos pudieron haber inhibido la asociación simbiótica de la planta y, con ello, repercutir negativamente en su desarrollo. El

porcentaje del incremento registrado entre los tratamientos controles y los biofertilizados en esta variable de respuesta se presenta en la tabla 21.

Se percibió un incremento en la altura de las plantas biofertilizadas respecto al control positivo; sin embargo no ocurrió así con el control negativo.

Tabla 21. Porcentaje de incremento de altura en las plantas de los tratamientos biofertilizados sobre los tratamientos testigos positivo y negativo. C= Biofertilizante Consorcio; U= Biofertilizante Unicepa; += Testigo positivo; -= Testigo negativo del suelo X

% de incremento	C/+	U/+	U/-	C/-	
X	8.794743686	7.179522278	-3.740183104	-2.289524305	

En el suelo M, el lote de plantas que alcanzó mayor altura fue el tratado con un Consorcio de cepas (MC) nativas de este lugar. El tratamiento MC se distinguió estadísticamente del testigo + (M+). El efecto de la fertilización sobre la altura promedio de las plantas no queda claro por medios estadísticos (prueba F, α =0-05), pues las probabilidades de significatividad se calculan en valores cercanos a 0.5, lo cual puede sugerir que:

- 1. La dosis de agroquímico no fue la adecuada para generar diferencias significativas que se distingan de las plantas no inoculadas.
- 2. La fertilización química y la biofertilización en este suelo no tuvieron efectos sobre la altura de las plantas.

No obstante, esta variable puede no ser importante para el rendimiento del cultivo, en términos de producción de ejotes.

Tabla 22. Porcentaje de incremento en la altura de las plantas de los tratamientos biofertilizados sobre los tratamientos testigos positivo y negativo. C= Biofertilizante Consorcio; U= Biofertilizante Unicepa; += Testigo positivo; -= Testigo negativo del suelo M.

% de incremento	C/+	U/+	U/-	C/-	
M	15.04259084	10.42549689	7.673942701	12.17598909	

Germinación y fenología

Suelo de Xochimilco (X)

Se pudo observar que las semillas en todos los tratamientos de este suelo germinaron en la primera semana, a excepción de las plantas de los tratamientos inoculados (U y C) que surgieron en la primera semana después de la siembra; mientras que las semillas en los tratamientos X+ y X− emergieron en la segunda semana. Se observó, además, que el efecto de la inoculación (tratamientos U y C) también se detectó en el surgimiento de la plántula y en el desarrollo de las hojas trifoliadas, anticipándose al tratamiento fertilizado con químicos; es decir, los biofertilizantes (inoculantes) actuaron como un factor promotor del crecimiento.

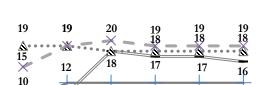
Se registró también que el tratamiento testigo, fertilizado químicamente (X+), presentó el menor índice de germinación-emergencia, con un máximo de 12 plantas de 30 sembradas en las cinco repeticiones (Tabla 23 y Figura 16). En este mismo tratamiento (X+), se detectó que la formación de los frutos se inició una semana después que en los otros tratamientos (Figura 17). El tratamiento XC fue el tratamiento con mayor germinación y emergencia, cuyo máximo fue de 20 plantas. Al inicio del desarrollo, este suelo propició un crecimiento de plantas más lento en comparación con las de los otros suelos; sin embargo, la altura final de las plantas (Tabla 23) fue superior a la alcanzada por las plantas del otro suelo de origen volcánico, el suelo M, pero inferior a las registradas en los suelos calcimagnésicos T y Q. La Figura 17 muestra los estadios de desarrollo y la semana en que las plantas alcanzaron dicho momento en el suelo X.

Número de plantas Suelo X

= X- ••• XU — ×— XC

12

12



12

12

Figura 16. Surgimiento de plantas en el suelo de Xochimilco (X), durante el periodo experimental. Se muestra el número de plantas registradas en cada una de las seis revisiones al cultivo.

Tabla 23. Porcentaje de germinación de las plantas de cada tratamiento del suelo X. Se muestra la altura promedio de las plantas en cada grupo experimental.

Tratamiento	% de germinación	Altura promedio del lote (cm)
X+	37.77778	19.225
Х-	48.88889	21.406
XU	61.11111	20.605
XC	61.66667	20.916

Fenología en suelo X

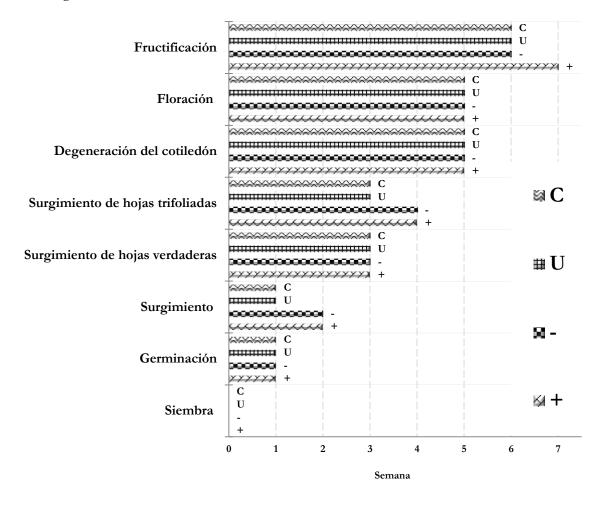


Figura 17. Fases de desarrollo de las plantas de frijol ejotero que crecieron en el suelo X. Se muestra la semana en que se registraron plantas en el estado fenológico revisado y se puede comparar el tiempo de madurez entre tratamientos.

Se puede considerar que la germinación no fue afectada por ningún tratamiento en este suelo, sin embargo se percibió que las plántulas de XC y XU emergieron en mayor proporción y antes que en los tratamientos testigos o controles. El surgimiento de las hojas verdaderas ocurrió en el mismo tiempo en todos los tratamientos. No obstante, las hojas trifoliadas surgieron una semana antes en las plantas con inoculante que en los controles; también se encontró mayor porcentaje de este tipo de hojas en XC, arriba de XU, que tuvo más que X+, y éste con mayor índice que X- (Figura 18).

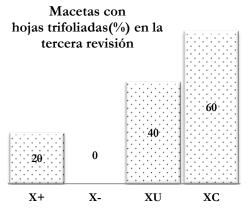


Figura 18. Porcentaje de macetas que presentaron plantas con hojas trifoliadas en la segunda y tercera revisiones en cada tratamiento.

Vale la pena destacar que en este suelo se registró el surgimiento de la hoja terciaria hasta la tercera revisión del cultivo, lo que sugiere un retraso en la maduración de las plantas si se compara con la de los otros suelos probados.



Figura 19. Macetas con 3 o 4 plantas de 18 días. De izquierda a derecha X+, X-, UX y CX.



Figura 20. Macetas de cada tratamiento, con cuatro plantas de 58 días. De izquierda a derecha X+, X-, UX y CX.

En todos los tratamientos, la floración se registró en la misma semana; no obstante, en la tercera revisión, el porcentaje de botones florales es sumamente contrastante entre tratamientos (Figura 21), en la cual se observa que los tratamientos biofertilizados, (XC y XU) contaron con mucho mayores porcentajes de plantas con flores, que ambos testigos, de los cuales solo un 5% de las plantas de X- se encontraron en fase de floración, mientras que X+ no presentó ninguna planta en ese estado del desarrollo. Dicho puede explicarse con los razonamientos ante expuestos, es decir, que la carencia de nutrimentos propia de este suelo, no plantas se desarrollen tan eficientemente como cuando reciben un aporte

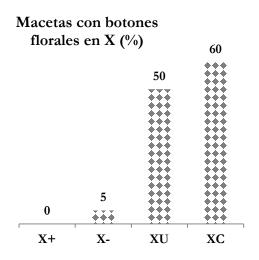


Figura 21. Porcentaje de macetas con plantas en fase de floración al tiempo de la tercera revisión en el suelo X.

orgánico de nitrógeno, por medio de las bacterias fijadoras de este elemento. Se nota incluso que la poca presencia de rizobios nativos en X- colabora con un desarrollo más acelerado de las plantas inoculadas, comparado con X+, donde se presume que los agroquímicos debieron inhibir a los rizobios y, por tanto, una menor fijación de nitrógeno debido a la presencia de compuestos nitrogenados en las plantas; este hecho se relaciona con la ausencia total de macetas con botones florales en la tercera revisión del cultivo.

Suelo M, de Magdalena Petlacalco.

Se encontró que los tratamientos no influyeron en la mayoría de las etapas del desarrollo de las plantas. Sin embargo, únicamente, la fructificación ocurrió una semana antes en los tratamientos biofertilizados y fertilizado con químicos (MU, MC y M+) respecto al testigo negativo (M-) (Figura 22), debido probablemente a la pobreza de nutrimentos en este suelo, que obligó a las plantas a acelerar su floración-fructificación y, de esta manera, asegurar su prevalencia en el medio.

Fenología en suelo M

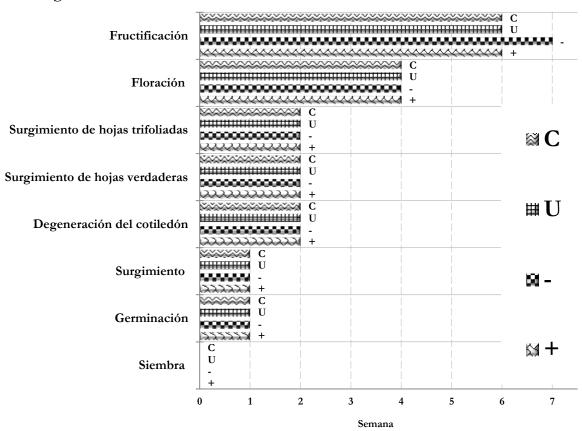


Figura 22. Fases de desarrollo de las plantas de frijol ejotero que crecieron en el suelo M. Se muestra la semana en que se registraron plantas en el estado fenológico revisado y se puede comparar el tiempo de madurez entre tratamientos

En este suelo, aunque la germinación ocurrió en todos los tratamientos en la misma semana, en el tratamiento MU se registró el mayor porcentaje de germinación, seguido de M-, MC y M+ (Tabla 24).

Tabla 24. Porcentaje de germinación de las plantas de cada tratamiento del suelo M. Se muestra la altura promedio de las plantas en cada grupo experimental

Tratamiento	% de germinación	Altura promedio del lote (cm)
M +	57.22	15.047
M-	62.77	15.432
MU	65.55	16.616
MC	58.33	17.311

Porcentaje promedio de plantas sin cotiledones 3a revisión 2a revisión ■ 1a revisión 90.00 93.33 76.67 58.33 64.67 52.00 51.67 54.00 49.67 38.67 31.67 24.00

Figura 23. Porcentaje de plantas con los cotiledones marchitos en las tres primeras revisiones. Los valores sobre puestos presentan en modo ascendente la cantidad de plantas en ese estado fenológico desde la primera hasta la tercera revisión.

MU

MC

M-

La mayor altura de las plantas se logró en MC y después en MU, ambos mayores que en M-; M+ fue el tratamiento con el promedio de la altura plantas más pequeño (Tabla 24). Probablemente por la menor disponibilidad de nutrimentos.

M+

En la primera revisión, se estableció que MU mostró un mayor porcentaje de plantas en fase de senescencia de cotiledones (Figura 23); MC tuvo un porcentaje menor, pero mayor a M+ que, a su vez, superó a M-.

En la segunda revisión, MU continúo por encima de todos los tratamientos pero, M-incrementó su porcentaje sobre los restantes, siendo MC el más cercano y M+ el de menor magnitud; lo anterior se mantuvo en la tercera revisión donde este tratamiento se quedó atrá s, superado en orden ascendente por M-y MU que fue superado por MC. En esta variable los resultados son erráticos, aunque se supone que en los suelos ricos en nutrimentos se espera una senescencia más temprana; como vemos en M+.

La dinámica de la emergencia de las plantas en este suelo (Figura 24) fue variable en todos los tratamientos. El número más alto de plantas correspondió al tratamiento inoculado MU con 20 plantas. El tratamiento testigo positivo (M+) presentó un marchitamiento que disminuyó hasta 16 plantas. Al inicio del experimento, el tratamiento MC también contó con 16 plantas posteriormente emergieron dos para culminar en 18 plantas en el momento de la última cosecha.

Por otro lado, en el tratamiento MC se registró un 100% de macetas con plantas en estado fenológico de hoja

Número de plantas Suelo M

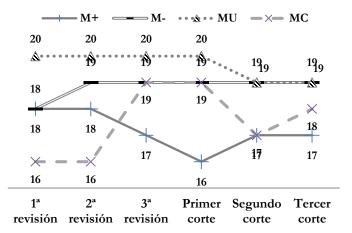


Figura 24. Surgimiento de plantas en el suelo de Magdalena Petlacalco (M), durante el periodo experimental. Se muestra el número de plantas registradas en cada una de las seis revisiones del cultivo.

trifoliada en la segunda revisión (Figura 25 Izquierda), lo cual expresa que la madurez de esas plantas fue más rápida si se compara con los demás tratamientos, sobre todo con M+, que a la tercera revisión mantuvo un 60% de macetas con plantas en esta fase fenológica, no así M- y MU, que en este chequeo ya alcanzaban un 80% de macetas con plantas más desarrolladas. Lo anterior puede sugerir que la inoculación con varias cepas fijadoras de nitrógeno, favorecen la madurez de las plantas y la aceleran respecto a los otros tratamientos. Este efecto también se observa en la cantidad de plantas con botones florales (Figura 25 derecha).

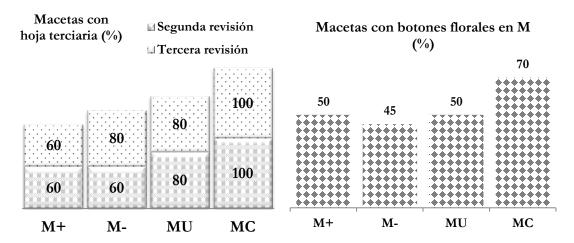


Figura 25. Izquierda: porcentaje de macetas con plantas en estado fenológico de hojas trifoliadas en el suelo M de acuerdo a cada uno de sus tratamientos. Derecha: porcentaje de macetas con plantas en fase de floración al tiempo de la tercera revisión en el suelo M.

El tratamiento con mayor número de plantas con flores en el tercer momento de revisión fue MC (figura 25: Derecha); sin embargo, la floración no se vio adelantada en ninguno de los tratamientos. M+ y MU, presentaron la misma cantidad de macetas con botones florales (50%) mientras que M- presentó 45% de macetas con estas estructuras reproductivas. S considera que la pobreza en nutrimentos enmascaró el efecto de la inoculación en esta variable, ya que en suelos pobres las plantas aceleran su madurez para asegurar su prevalencia en el medio. Sin embargo, el MC tuvo el mayor número de plantas con flores; aquí es claro el efecto del aporte de nitrógeno de los rizobios a las plantas.



Figura 26. Macetas de M con cuatro plantas de 58 días. De izquierda a derecha: +M, -M, UM y CM

Suelo de Tehuixtla (T).

El desarrollo de las plantas en este suelo fue homogéneo pues se identificó que, en todos los tratamientos, ellas alcanzaban las etapas fenológicas en la misma semana (Figura 27).

Fenología en suelo T

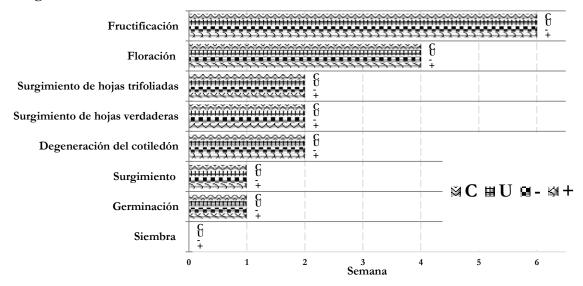


Figura 27. Fases de desarrollo de las plantas de frijol ejotero que crecieron en el suelo T. Se muestra la semana en que se registraron plantas en el estado fenológico revisado y se puede comparar el tiempo de madurez entre tratamientos.

También se observó que el número de plantas en este suelo (Figura 28), mantuvo un patrón más estable comparado con el de los otros suelos. El tratamiento negativo (T-) albergó 20 plantas al inicio del periodo experimental; hacia la tercera revisión se registra el marchitamiento de una de sus plantas. Los tratamientos T+ y TU se mantuvieron con 17 y 15 plantas, respectivamente; mientras que en TC fluctuó entre 14 y 15. Se observó que la fertilización química no adelantó el periodo de germinación ni el surgimiento de hojas verdaderas; tampoco incrementó el porcentaje de germinación, ni la altura de la planta (Tabla 25).

Tabla 25. Porcentaje de germinación de las plantas de cada tratamiento del suelo M. Se muestra la altura promedio de las plantas en cada grupo experimental.

Tratamiento	% de germinación	Altura promedio del lote (cm)	
T+	56.66667	26.382	
T-	64.44444	27.628	
TU	50	27.486	
TC	48.33333	26.6	

Número de plantas Suelo T T+ T- T- TC TC

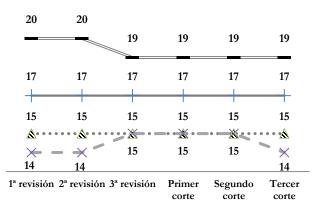


Figura 28. Surgimiento de plantas en el suelo de Tehuixtla (T), durante el periodo experimental. Se muestra el número de plantas registradas en cada una de las seis revisiones al cultivo.

En la segunda y tercera revisiones se encontraron más plantas con hojas trifoliadas en TC, que en TU y T- y, a su vez, estos lotes con mayor porcentaje de este tipo de hojas que T+ (Figura 29).

Macetas con ☐ Tercera revisión hojas trifoliadas (%) ☐ Segunda revisión

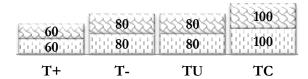


Figura 29. Porcentaje de macetas que presentaron plantas con hojas trifoliadas en la segunda y tercera revisiones en cada tratamiento.

En la primera revisión, TU tuvo similar degeneración de cotiledones que TC y este más que T+; T-, este último, con el porcentaje más pequeño de cotiledones en esta fase fenológica (Figura 30).

En la segunda revisión, T+ presentó el porcentaje más grande de plantas con cotiledones en senescencia, le sigue TU, que fue mayor que TC y mayores a T-. En la última revisión, T+ fue mayor en el indicador que se analiza, TU le sigue en orden descendiente, a continuación TC rebasa a T- que queda como el tratamiento que muestra signos más lentos de madures en sus plantas. (Figura 30).

La floración comenzó la misma semana en todos los tratamientos. Sin embargo, se encontraron más estructuras florales en TC y T- que en TU y T+, siendo este último, el de menor magnitud (Figura 31).

Porcentaje de plantas sin cotiledones

☑ 3a revisión☑ 2a revisión

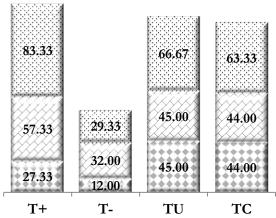


Figura 30. Porcentaje de plantas con los cotiledones marchitos en las tres primeras revisiones. Los valores sobre puestos presentan en modo ascendente la cantidad de plantas en ese estado fenológico desde la primera hasta la tercera revisión del suelo T.

Macetas con botones florales (%)

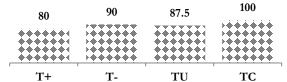


Figura 31. Porcentaje de macetas con plantas en fase de floración al tiempo de la tercera revisión en el suelo M.



Figura 32. Muestra de macetas de T con cinco plantas de 58 días. De izquierda a derecha: +T, -T, UT y CT

Suelo de Tequesquitengo (Q)

En este suelo se identifica gran variación en la dinámica de surgimiento de las plantas (Figura 33). El tratamiento positivo presentó el mayor número de plantas y fluctuó entre 21 y 23 de ellas. Los tratamientos biofertilizados tuvieron un momento de 16 plantas: QC en el final del experimento y QU en la mitad del proceso, sin embargo este tratamiento llegó a 19 plantas.

Los promedios de las alturas de los lotes son bastante homogéneos (Tabla 26).

Tabla 26. Porcentaje de germinación de las plantas de cada tratamiento del suelo M. Se muestra la altura promedio de las plantas en cada grupo experimental.

Tratamiento	% de germinación	Altura promedio del lote (cm)		
Q+	73.33333	20.1		
Q-	66.66667	20.475		
QU	60.55556	21.525		
QC	58.33333	21.706		

Número de plantas Suelo Q

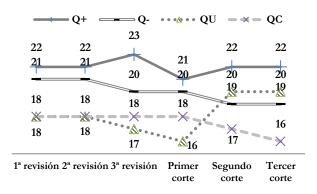


Figura 33. Surgimiento de plantas en el suelo de Tehuixtla (T), durante el periodo experimental. Se muestra el número de plantas registradas en cada una de las seis revisiones al cultivo.

Las fases de crecimiento se alcanzaron casi totalmente en las mismas semanas para todos los tratamientos. Solo se observó que el surgimiento de las hojas trifoliadas ocurrió en los tratamientos biofertilizados (QU y QC) una semana antes que Q+ y Q- (figura 34).

Fenología en suelo Q

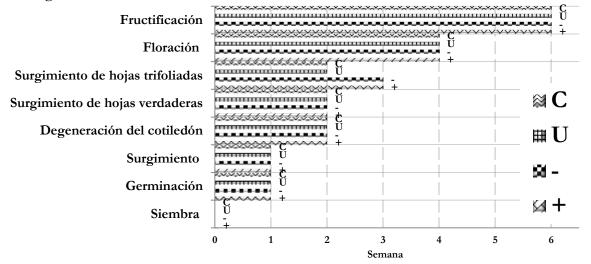


Figura 34. Fases de desarrollo de las plantas de frijol ejotero que crecieron en el suelo T. Se muestra la semana en que se registraron plantas en el estado fenológico revisado y se puede comparar el tiempo de madurez entre tratamientos.

El mayor porcentaje de germinación se registró en Q+, le siguió Q-, QU en tercer lugar y, por último, QC (Tabla 26). La germinación no se adelantó en ningún caso, tampoco el tiempo de surgimiento de hojas verdaderas o trifoliadas, así como la degeneración de los cotiledones. Las etapas de floración y la de fructificación ocurrieron por igual en todos los tratamientos (Figura 34).

Sin embargo, en la primera revisión, la cantidad de plantas con cotiledones en senescencia (figura 35) fue mayor en QU, que en QC y esta fue mayor que Q+ y, a su vez, la anterior superó a Q-. La dinámica cambió en la segunda revisión, donde, Q+ prevalece sobre Q-, y QC pero no sobre QU que registra la mayor cantidad de plantas con este signo de madures. En la tercera revisión Q+ prevalece sobre todos los tratamientos, siguiendo en orden descendente Q-, QU y QC, estos dos últimos con el mismo valor. Este patrón también se presentó en el porcentaje de plantas con racimos florales (figura 36: Abajo).

Se encontró también que, en las revisiones segunda y tercera, registró una mayor presencia de hojas trifoliadas en QU y QC que en Q+ y coincidieron Q-, porcentajes de surgimiento de este tipo de hojas en el cultivo, como si los biofertilizados tratamientos inoculados con rizobios cumplieran un patrón de surgimiento de ellas y los testigos otro. Con lo anterior, podemos considerar que biofertilización incrementa la cantidad de plantas con hojas trifoliadas, mientras adición la de agroquímicos no tiene efecto en esta fase fenológica, pues ocurre como en el testigo negativo (Figura 36: Arriba).

Porcentaje de plantas 3a revisión sin cotiledones 2a revisión 1a revisión

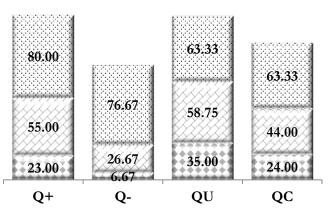


Figura 35. Porcentaje de plantas con los cotiledones marchitos en las tres primeras revisiones. Los valores sobre puestos presentan en modo ascendente la cantidad de plantas en ese estado fenológico desde la primera hasta la tercera revisión del suelo Q.

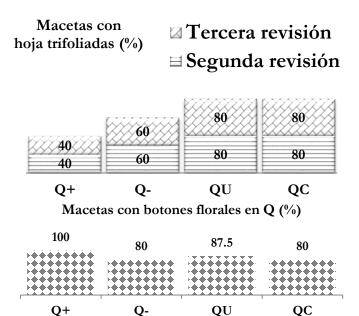


Figura 36. Arriba: porcentaje de macetas que presentaron plantas con hojas trifoliadas en la segunda y tercera revisiones en cada tratamiento Abajo: porcentaje de plantas en etapa de floración.

La cantidad de racimos florales (figura 36. Abajo) en Q+ fue total, superando a los demás tratamientos, que se empatan en Q- y QC, que son rebasados por QU.



Figura 37. Macetas de Q con cuatro plantas de 58 días. De izquierda a derecha: +Q, -Q, UQ y CQ

Análisis estadístico de la cantidad de plantas por suelo.

De acuerdo a la comparación de medias Tukey HSD del programa SAS JMP 10, la cantidad de plantas entre suelos-tratamientos no fue afectada significativamente (α =0.05).

En todos los tratamientos, se observó que las macetas que han desarrollado más cobertura vegetal conservan más agua que las que la han desarrollado en menor grado; este rasgo es notorio pues las macetas con menor cobertura vegetal fueron regadas con mayor frecuencia.

Rendimiento.

El cultivo experimental de frijol ejotero se organizó con cuatro suelos (Q, T, X y M), cuatro tratamientos (+, -, U y C) y cinco repeticiones de cada uno. De las 420 plantas sembradas en total, 279 plantas emergieron en el proceso de experimentación; esta proporción representa un porcentaje de supervivencia de 66.42%. La cosecha de ejotes se realizó en tres ocasiones, llamadas cortes: 1 (7 de junio), 2 (14 de junio) y 3 (27 de junio).

Se cosecharon 869 ejotes (Figura 38) cuyo peso fresco total fue de 1657.66 gramos (Figura 39); cabe destacar que los ejotes pueden ser comercializables con calidad suprema conforme a las normas mexicanas (SAGARPA - SE -BANCOMEXT, 2006), con cuatro diferentes clases de tamaños: menores a 8 cm, entre ocho y once, de once a catorce y mayores a 14 cm; en este experimento se obtuvieron de todas estos rangos de tamaños.

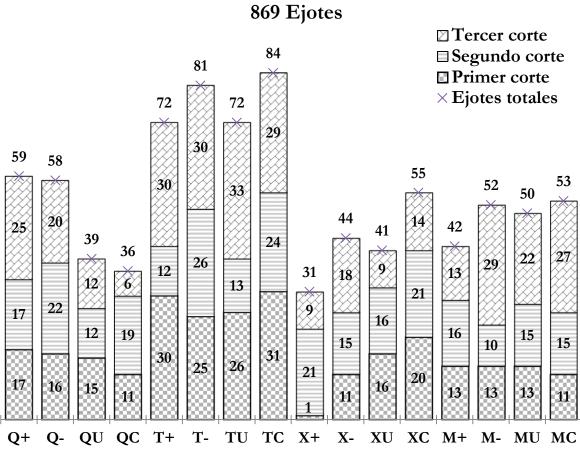


Figura 38. Análisis global del número de ejotes cortados en total para cada tratamiento en los tres cortes.

En el primer análisis global del rendimiento del cultivo, basado únicamente en los ejotes producidos por tratamiento, la mayor producción –ochenta y cuatro ejotes- se logró en el lote TC, que corresponde al grupo de plantas desarrolladas en el suelo de Tehuixtla, inoculadas con un Consorcio de cepas competentes nativas del lugar. El menor número de ejotes producidos se cuantificó en el tratamiento testigo positivo del suelo X que produjo treinta y un ejotes (Figura 38).

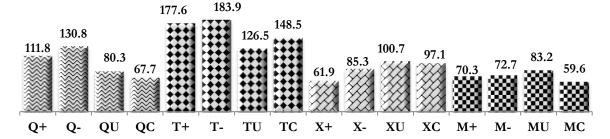


Figura 39. Peso total de ejotes de cada tratamiento del cultivo de ejotero examinado.

En total, se obtuvieron 2714 frijoles o semillas; los tratamientos que más semillas produjeron fueron el TC con 285 y T+ con 284. El que menos semillas produjo fue el testigo X+ con 86.

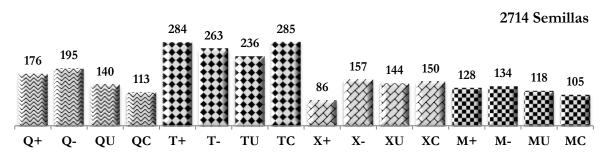


Figura 40. Cantidad total de semillas contadas en los 869 ejotes cosechados. Se expone el número de semillas por tratamiento

Las variables de respuesta se analizaron estadísticamente con la prueba de Tukey HSD del programa SAS JMP 10. Este análisis contempló el rendimiento del cultivo por cortes para obtener el grado de significancia, en las diferentes variables de respuesta con la fertilización química y biológica, en los tres periodos de cosecha.

Análisis global del rendimiento por corte.

Siendo uno de los objetivos del presente trabajo conocer la variedad Strike bajo condiciones experimentales, se realizó un análisis comparativo de su rendimiento en cada corte, poniendo énfasis en la producción de ejotes por planta y en cuatro variables calculadas por ejote: longitud de la vaina, el peso seco, fresco y número de semillas por ejote.

La mayor producción de ejotes por planta se reconoce en el tercer corte, aunque los valores en el tiempo son muy cercanos entre sí y toman magnitudes próximas a 1, mientras que la mayor longitud de los ejotes se registró en el primer corte (Tabla 27). Esta es una variable muy importante para la comercialización de estos frutos, del mismo modo que el peso fresco de los mismos, cuya mayor medida se obtuvo en este mismo corte, en el que también se detectaron las vainas con más semillas. Quedando claro que sólo en el primer corte se cosecharon ejotes grandes.

Tabla 27. Análisis de las variables en el tiempo (tres cortes). Como modelo de comparación entre ellos, se muestra el rendimiento neto de cada corte en cada una de las nueve variables: PF1= Peso fresco; #SEM= número de semillas; PS= Peso seco; # EJ= Número de ejotes; EJ/PL= Ejotes por planta; LONG= Longitud promedio del ejote; PF/EJ= Peso fresco por ejote; PS/EJ= Peso seco por ejote; SEM/EJ= Semillas por ejote. Las casillas sombreadas y en negritas exponen el máximo valor alcanzado en el tiempo.

Corte	#EJ	PF	#SEM	PS	EJ/PL	LONG	PF/EJ	PS/EJ	SEM/EJ
1	269	891	1300	83.1	0.96	10.84	2.9	0.28	4.75
2	274	496.03	761	83.6	0.99	8.01	1.45	0.33	2.72
3	326	270.636	653	27.3242	1.17	5.45	0.21	0.0270	1.92
Total	869	1657.666	2714	194.03					

La evaluación del peso seco por ejote nos dio a conocer el valor nutrimental de la biomasa del fruto, biosintetizada en el tiempo, que puede estar constituida por: proteínas, fibra, carbohidratos, grasas, vitamina A, vitamina B6, vitamina C, vitamina K, calcio, hierro, magnesio, manganeso, fósforo, potasio y zinc. La mayor magnitud del peso seco por ejote se registró en el segundo corte; comparado con el primer corte, se encontró un número similar de ejotes, correspondiente a cerca de la mitad del peso fresco total del primer corte; sin embargo el peso seco total es similar en ambos cortes, lo que nos permite inferir que la biomasa neta de los ejotes es similar (Tabla 26). Lo anterior se confirma con el peso seco por ejote en ambos cortes, cuyos valores son muy cercanos. Con esto se puede definir que:

- 1. Los ejotes de los primeros dos cortes son similares en calidad nutrimental.
- 2. Los ejotes del tercer corte, aunque fueron más abundantes que en los dos primeros cortes, tienen menor calidad comercial y nutrimental.

Corte 1. Panorama general

Se recolectaron 269 ejotes (Figura 41), cuyo peso fresco fue de 891 gramos (Figura 42 Arriba) y el seco de 83.1 gr. (Figura 42. Abajo.)

Los valores de estas variables de respuesta junto con los correspondientes a los pesos fresco y seco, la longitud promedio por ejote, la producción de vainas por planta y el número de semillas totales, indican que la cosecha del suelo T fue significativamente distinta a la de los otros tres suelos (Q, M y X).

269 Ejotes. Primer corte

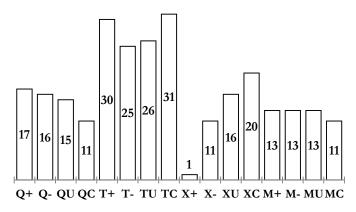


Figura 41. Ejotes del primer corte en cada uno de los tratamientos.

Debido a que el número de plantas del suelo T, no fue significativamente distinta de los otros suelos, esta variable no fue determinante como respuesta; no obstante, el suelo T tuvo el patrón de supervivencia más estable de todos los suelos, pues a lo largo del experimento no se registró mucha variabilidad en la emergencia-marchitamiento de las plántulas. Por otro lado, el suelo T mostró la mayor capacidad de retención de agua en los ejotes, propiedad que es benéfica para el agricultor, debido a que se refleja en el peso y por tanto en el valor de la cosecha; los análisis químicos del suelo T muestran que es tan rico en fósforo, potasio y magnesio disponibles, como lo es el suelo Q. En este corte, debido a la riqueza en nutrimentos del suelo T, el número de ejotes, el peso fresco, peso seco, ejotes por planta, peso seco por ejote y semillas por repetición provocaron la distinción estadística de la producción de ejotes respecto a los otros tres suelos.

Peso fresco 891 gr.

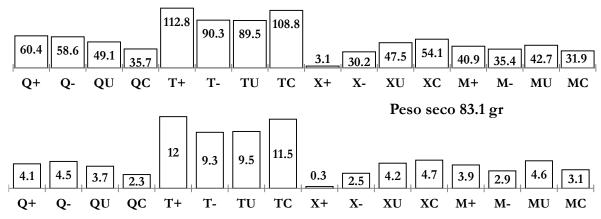


Figura 43. Arriba: Peso fresco de los 269 ejotes cosechados en el primer corte. Abajo: Peso seco de los mismos ejotes.

En los suelos T y Q el peso fresco por ejote fue similar estadísticamente, es decir, que en el peso fresco promedio por ejote, encontraron se diferencias estadísticamente significativas entre los suelos calcimagnésicos (Q y T); mientras que la misma variable en el suelo M resultó estadísticamente diferente de los otros suelos, de manera similar que el suelo X; sin embargo, los suelos volcánicos no comparten similitud estadística en el peso fresco del ejote (Figura 43).

Peso fresco por ejote (gr)

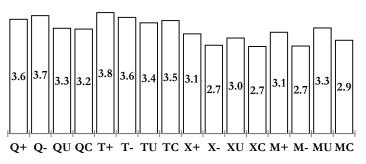
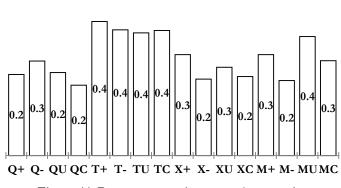


Figura 42. Peso fresco por ejote en cada tratamiento.

Esta variable de respuesta depende de la riqueza de nutrimentos, textura del suelo, así como la especificidad y efectividad de sus rizobios. Estas propiedades, en conjunto, pueden dar la aptitud del suelo para una determinada leguminosa. Sin embargo, respecto a la efectividad y especificidad de los rizobios propios de un suelo, se puede mejorar a través del aislamiento y selección de estas bacterias para, posteriormente utilizarse como inoculantes o biofertilizantes.

En el caso del peso seco por ejote (Figura 44) se encontró que cada suelo fue estadísticamente diferente. El análisis por la prueba estadística de Tukey, mostró que hay cercanía estadística entre el peso seco del ejote de M y el de Q; mientras que este último tiende a emparentarse paramétricamente con el de X; no obstante: todos fueron significativamente diferentes.



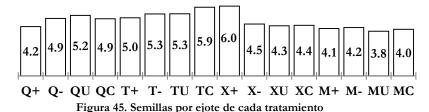
Peso seco por ejote (gr)

Figura 44. Peso seco por ejote en cada tratamiento

Esta información permite suponer que la biomasa seca de los ejotes en el corte uno es sintetizada de modo particular en los sustratos. De acuerdo a las características nutrimentales de cada suelo, las plantas crecen conforme a los nutrimentos y rizobios que tienen disponibles; en este sentido, no hubo similitud entre los suelos volcánicos y los calcimagnésicos. El análisis por tratamiento de esta variable, permitirá saber de qué modo se asimilan los nutrimentos, suministrados en los cuatro diferentes modos.

De modo similar, la cantidad de semillas en cada ejote (Figura 45), difiere significativamente entre suelos, pero existe cercanía estadística entre los suelos arenosos y similitud entre los suelos arcillosos, teniendo también conexión M con T.

Semillas por ejote (#)



Análisis del rendimiento de los tratamientos en el primer corte.

Para el siguiente desarrollo no se mantiene un patrón descriptivo homogéneo en las diferentes variables de respuesta porque estas se enuncian de acuerdo a las similitudes que guardan entre sí en los diferentes tratamientos y cortes.

Suelo T

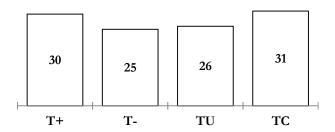
La producción de ejotes (Figura 46: Arriba) del tratamiento inoculado con el Consorcio de cepas de rizobios (TC) fue significativamente diferente de los otros tratamientos, superando por poco al testigo positivo (T+), el cual se distingue estadísticamente del control negativo (T-) y del tratamiento unicepa (TU), que no son diferentes entre ellos; como si la inoculación con una cepa competente, en T, no alterara la producción de vainas.

Con el peso fresco correspondiente (Figura 46: Abajo) se observó cercanía estadística entre TC y T+; este último supera a TC en el peso fresco de la cosecha y ambos prevalecen sobre T- y TU, que son paramétricamente iguales.

El peso seco (Figura 47) evidencia la diferencia entre los tratamientos de un modo similar a lo observado en las variables de respuesta previas: el método de Tukey HSD iguala estadísticamente al control positivo (T+) con el Consorcio T (TC), mientras que el tratamiento negativo y el inoculo unicepa fueron idénticos.

Este patrón se reconoció en la cantidad de ejotes por planta (Figura 48), donde el Consorcio produjo significativamente más que los otros tratamientos, los cuales guardan similitud.

Número de Ejotes



Peso fresco (gr)

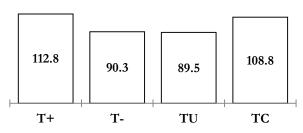


Figura 46. Primer corte. Arriba: Cantidad total de ejotes producidos en cada tratamiento del suelo de Tehuixtla (T). Abajo: Peso fresco de la cosecha de ejotes en el mismo suelo.

Peso seco (gr)

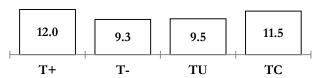


Figura 47. Peso seco de la cosecha del suelo T, en su primer corte

Ejotes por planta

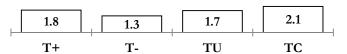
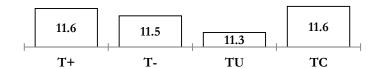


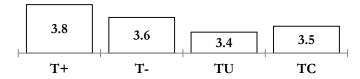
Figura 48. Cantidad de ejotes por planta, calculado en función del número de plantas de cada tratamiento y el número de ejotes producidos en cada lote.

La longitud promedio del ejote (Figura 49: a)) del primer corte en T-, TC T+, resultó estadísticamente homogénea v se significativamente distinguen TU, cuyo ejote parece ser más pequeño y liviano de acuerdo al análisis de medias del peso fresco por ejote (Figura 49: b)), así como del número de semillas por ejote (Figura 50: Derecha) y también del peso seco individual (o peso seco por ejote), en las cuales se reconoce el mismo patrón; pero el peso seco por ejote (Figura 49 c)) permite ver que los ejotes de los diferentes tratamientos, tuvieron distinta cantidad de biomasa neta: las vainas secas promedio de TU, TC y T- son estadísticamente iguales, mas son superadas significativamente por T+.

a) Longitud promedio



b) Peso fresco por ejote (gr)



c) Peso seco por ejote (gr)

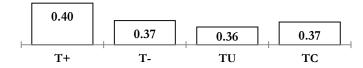


Figura 49. Tres variables de respuesta en el primer corte, que son indicadores de calidad de los ejotes: a) longitud del ejote. Medida representativa de cada tratamiento. b) Peso fresco por ejote. Peso promedio del ejote cosechado en este corte. c) Peso seco por ejote. Representa la biomasa contenida en los ejotes de cada uno de los tratamientos

Por último, la cantidad de semillas obtenidas en TC es significativamente mayor que T+ y esta es superior estadísticamente a TU, la cual supera paramétricamente a T-.

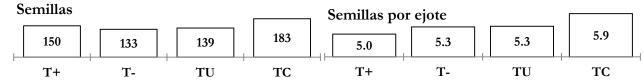


Figura 50. Número semillas obtenidas en el primer corte de ejotes en el suelo Q. Se muestran los tratamientos con las semillas contadas. Derecha: es el conteo total de semillas en el cultivo del suelo T por sus tratamientos. Izquierda: es la cantidad de semillas promedio calculada de acuerdo al número de ejote y de semillas.

Suelo Q.

La producción de ejotes fue similar con biofertilizante unicepa (QU), sin agroquímicos (Q-) y con adición de estos (Q+); sólo resultó estadísticamente diferente el tratamiento Consorcio (QC) que produjo menor número de ejotes (Figura 51).

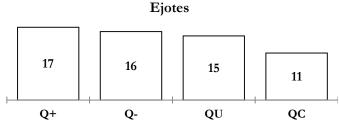


Figura 51. Cantidad total de ejotes producidos en cada tratamiento del suelo de Tequesquitengo (Q).

Este patrón se observó también en el peso seco del corte, la longitud representativa o promedio de la vaina, el peso seco individual y el número de semillas (Figura 52).

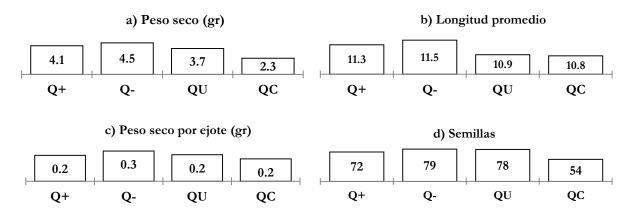


Figura 52. Suelo Q, primer corte. a) Peso seco de la cosecha del suelo Q, en su primer corte; b) Longitud promedio; c) Peso seco por eiote; d) Semillas totales contadas en el corte uno.

Esté fue un comportamiento no esperado, pues en las nueve variables de respuesta, Q- rindió estadísticamente lo mismo que Q+, y en seis de nueve variables, (que son las cinco variables enunciadas en los dos párrafos anteriores y la producción de ejotes por planta), los rendimientos de estos tratamientos fueron iguales al de QU.

La producción de ejotes por planta, (Figura 53) es una de estas seis variables mencionadas y es especialmente importante debido a que con ella queda probado que ninguna planta de ningún tratamiento produjo significativamente más ejotes, i. e. todos los tratamientos son estadísticamente iguales. Esto indica que la riqueza natural de nutrimentos de este suelo opaca la respuesta de Q+ y hace que Q- sea similar en su rendimiento; sin embargo, la biofertilización con una cepa de rizobios (QU) superó a todos los tratamientos en la variable de ejotes por planta.

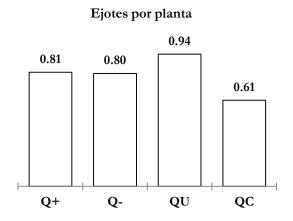


Figura 53. Número de ejotes producidos por planta en el primer corte del suelo Q.

También puede ser que la carga de nutrimentos en Q sea abundante, de tal modo que la dosis de agroquímicos (AQ) haya sido irrelevante, y así las plantas no fertilizadas contaran ya con el suplemento nutrimental necesario. Esto explicaría también la nula respuesta en peso seco del corte, la longitud representativa o promedio de la vaina, el peso seco individual, el número de semillas y numero de ejotes cosechados, en las plantas inoculadas (biofertilización) en sus dos modalidades (QU y QC); considerando la información en la literatura respecto al efecto de las altas concentraciones de nitritos, que inhiben la nodulación y la actividad de las bacterias fijadoras de nitrógeno nativas (Buttery et al., 1987); además, se tiene información acerca de la correlación que existe entre el suministro de P y la masa nodular (Graham y Rosas 1979 en Buttery et al., 1987), así como de que la disponibilidad de P interviene en la fijación de nitrógeno según Ssali and Keya 1983 en Buttery et al., 1987.

De acuerdo a los análisis químicos de los suelos, Q, posee 38.8 mg P (Bray)/kg y 0.26% de N, mientras que el suelo T, presenta 9 unidades más de P y posee la misma cantidad de N. Finalmente, en Q se cuantifican 36 cmol/kg de Mg que, en comparación con el suelo T, tiene 8 unidades de Mg más, lo que nos permiten confirmar que estos suelos (Q y T) son ricos en estos nutrimentos de tal forma que podría ser un factor que reduciera la posibilidad de encontrar una respueta a la biofertilización.

Por otra parte, la diferencia en el grado de respuesta a la biofertilización entre los suelos Q y T, pudo haberse debido a que las cepas nativas de rizobios de ambos suelos tenían diferente capacidad para nodular a las plantas y fijar el N₂, más que a la distinta concentración de nutrimentos.

Otra posible causa de este singular efecto en estos suelo, pudo haber sido la competencia entre las cepas nativas y las de los inoculantes. Con el análisis de los resultados fue notorio que los tratamientos biofertilizados con el Consorcio de cepas (QC), mantuvieron estándares de respuesta por debajo del testigo negativo en ocho de nueve variables, lo cual invita a pensar que las cepas de este Consorcio no incrementaron la asimilación de nutrimentos de la planta. En la cantidad de semillas por ejote, peso fresco por ejote y peso fresco total, Q+ y Q- fueron iguales entre ellos pero superiores a QU y QC, que de estas tres variables solo fueron distintas en el peso fresco total donde QC quedó revasado.

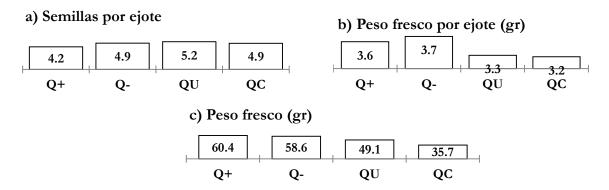


Figura 54. a) Semillas por ejote; b) peso fresco por ejote y c) peso fresco total de la cosecha.

Suelo X

Todos los tratamientos del suelo X dieron resultados estadísticamente diferentes entre sí. Esta observación induce el razonamiento de que las cepas aisladas e inoculadas en este suelo brindaron un efecto conveniente en el cultivo, pues los tratamientos biofertilizados produjeron más ejotes que los controles (Figura 55).

Ejotes

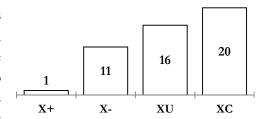
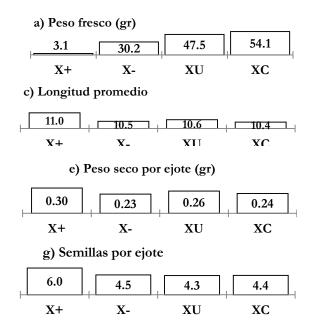
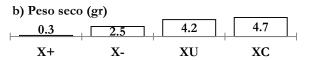


Figura 55. Cantidad de ejotes cortados en la primera cosecha del suelo X.

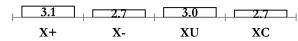
Algo interesante fue que el testigo negativo tuvo mayor rendimiento que el testigo positivo, lo que da cabida a pensar que, por un lado, las cepas nativas del suelo X fueron suficientes para rendir más que el suelo al que se le agregaron agroquímicos; es posible que los fertilizantes químicos hallan inhibido la acción de los rizobios nativos en el control positivo; también es posible que la dosis de AQ necesaria para incrementar la producción por encima del estado "natural" del suelo, no haya sido la óptima, lo cual orilla a que se emplee mayor cantidad de fertilizante, en este caso, se favorece y recomienda más que la adición de agroquímicos, el uso de inoculantes elaborados con cepas nativas seleccionadas. En algunos casos, dosis moderadas de agroquímicos, particularmente de P, serían las recomendadas para ser congruente con las capacidades productivas de este suelo, en pro de mantener la sustentabilidad natural de suelos como este.

En este suelo, los tratamientos inoculados superaron al testigo positivo en ocho variables de respuesta (número de ejotes (Figura 55), peso fresco, peso seco, longitud de ejote, peso fresco por ejote, peso seco por ejote, número de semillas y semillas por ejote (Figura 56)).





d) Peso freco por ejote (gr)



f) Semillas

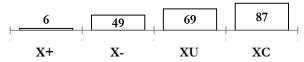


Figura 56. Siete variables de respuesta que indican superioridad estadística de los tratamientos inoculados sobre el testigo positivo en el suelo X: a) Peso fresco. b) Peso seco. c) Longitud promedio de vaina. d) Peso fresco por ejote. e) Peso seco por ejote. f) Semillas totales y g) semillas por ejote

En la cantidad de semillas por ejote y peso fresco del mismo, el control negativo (X-) resultó similar estadísticamente a XU y XC; lo que se debe a que las cepas nativas son potencialmente efectivas. Sin los tratamientos fueron embargo, estadísticamente en el número de ejotes por planta (figura 57). Lo que indica que cada planta produjo ejotes homogéneamente; no obstante, la calidad de estos varía significativamente en los tratamientos, desde la humedad que portaron cada uno de ellos (peso fresco por vaina), la biomasa neta de cada una (peso seco por ejote), semillas dentro de cada vaina y la longitud de las mismas.

Suelo M

Del suelo M, el tratamiento MU es el único con el valor más alto de significatividad en las nueve variables de respuesta evaluadas en este suelo. Esta cualidad del cultivar biofertilizado con una cepa (MU), lo sitúa por encima de la producción evaluada tanto en el control positivo (M+) como en el negativo (M-) además, del inoculado con el Consorcio de cepas (MC). Estos tres últimos se igualan estadísticamente, con MU sólo en tres variables de respuesta: peso fresco, ejotes por planta y semillas por ejote (Figura 58).

Lo anterior sugiere, por un lado, que los tratamientos produjeron, conforme a la capacidad de la variedad y por otro, que la fertilización, sea biológica o química, no influyó en la producción de ejotes por planta; por su parte, las vainas poseen un número de semillas similar que no se distingue significativamente entre tratamientos. El peso fresco (Figura 58 a)) de la cosecha de cada uno de los lotes analizados, también cumplió con la homogeneidad paramétrica.

Ejotes por planta

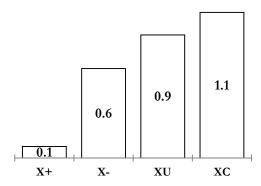
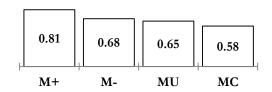


Figura 57. Ejotes por planta en el primer corte de los diferentes tratamientos del suelo X.

a)Peso fresco (gr)



b) Ejotes por planta (#)



c) Semillas por ejote

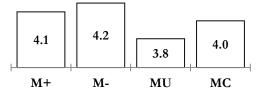


Figura 58. Tres variables de respuesta que igualan la producción de todos los tratamientos del suelo M en el primer corte: a) Peso fresco de todos los ejotes; b) Número de ejotes producidos por planta; c) Número de semillas por ejote

No ocurrió así con el número de ejotes cortados (Figura 59: arriba): El tratamiento MC se distinguió significativamente, por tener dos ejotes menos que los otros, que son similares estadísticamente.

Lo mismo se determinó para el número de semillas (Figura 59: abajo).

El peso de la biomasa seca y la longitud media del ejote del primer corte (figura 60), igualan estadísticamente a M+ y MU, los cuales fueron diferentes significativamente a M- y MC.

Número de ejotes

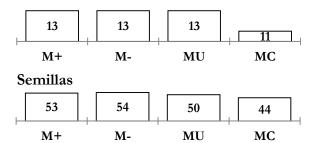


Figura 59. Arriba: Número de ejotes producidos en cada tratamiento del suelo M. Abajo: Número de semillas de los tratamientos de M.

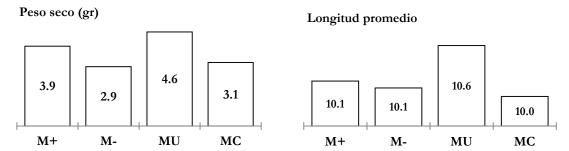


Figura 60. Izquierda: Peso seco total del corte. Derecha: Longitud promedio de cada tratamiento.

Los pesos fresco y seco (promedio) representativos del ejote de MU se distinguen de los otros tratamientos (figura 61).

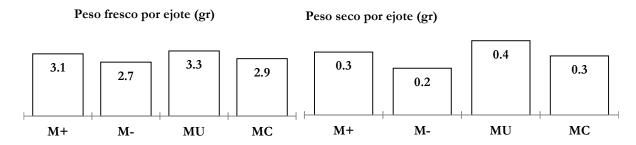


Figura 61. Izquierda: Peso fresco por ejote. Derecha: Peso seco por ejote.

Corte 2. Panorama general

Se cosecharon 274 ejotes (Figura 62): cinco más que en el primer corte; su peso fresco (Figura 63: arriba) fue de 496.03 gramos, equivalente al 55% del primer corte. Estos datos ponen en evidencia que los ejotes cortados en la segunda cosecha fueron más pequeños que en la primera. Su peso seco (83.6 gramos) (Figura 63: abajo) fue mayor que la cosecha del primer corte por cinco décimas, lo que significa que los ejotes del primero y segundo cortes tuvieron una biomasa estadísticamente similar.

274 Ejotes

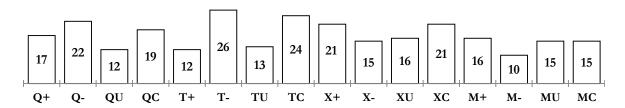
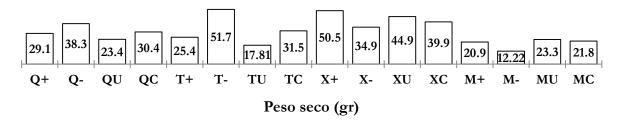


Figura 62. Total de ejotes cosechados en el segundo corte, en cada tratamiento.

La producción de ejotes (Figura 62) en el segundo corte fue estadísticamente igual en los cuatro suelos, conforme a la comparación de medias de Tukey. Además, tampoco hubo diferencias en los pesos, fresco y seco, (Figura 63) de las cosechas, ni en la longitud promedio del ejote, (Figura 74) que resultó menor que la producción de ejotes del primer corte.

Peso fresco 494 gr.



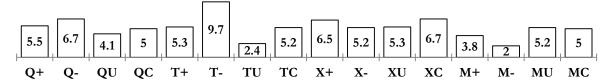
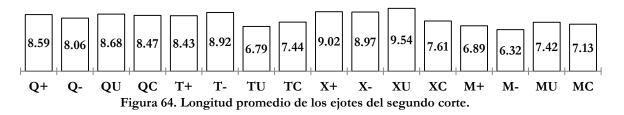


Figura 63. Arriba: Peso fresco total de la cosecha del segundo corte. Abajo: Peso seco global del mismo.

Longitud promedio



La producción de ejotes por planta (Figura 65) en el suelo T se distinguió significativamente de los suelos X, Q y M.

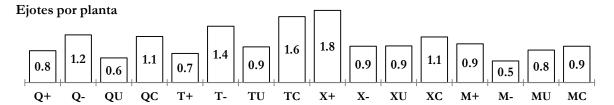
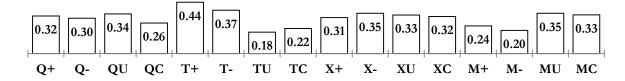


Figura 65. Número de ejotes por planta en cada suelo y tratamiento

El peso fresco individual (Figura 66: abajo.) de los ejotes del suelo X fue significativamente diferente de los de los otros tres suelos (Q, T y M) que fueron similares. Esto indica que los ejotes del suelo X lograron captar más agua en el segundo corte debido a que en este, se produjo el brote y corte principales de frutos; sin embargo, no hubo diferencias significativas en el peso seco por ejote (Figura 66: arriba) en los cuatro suelos, de manera que la biomasa de las vainas fue similar en el segundo corte, en los cuatro suelos, es decir que el contenido seco de las vainas fue similar en todas los sustratos.

Peso seco por ejote (gr)



Peso fresco por ejote (gr)

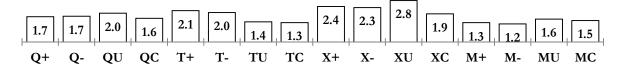


Figura 66. Arriba: Pesos seco representativo del ejote promedio de cada tratamiento en el segundo corte.

Abajo: Peso fresco promedio de cada tratamiento en el mismo corte.

La cantidad de semillas total (Figura 67) producidas en el suelo, X, fue significativamente diferente de la producida en los suelos arcillosos (T y Q) y altamente significativa de la producida por el suelo M.

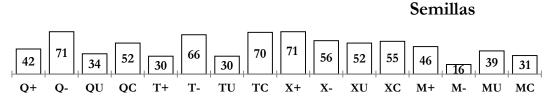


Figura 67. Semillas contadas en cada uno de los diez y seis tratamientos: corte dos

Sin embargo, la cantidad de semillas por vaina (Figura 68) fue similar en los cuatro suelos.

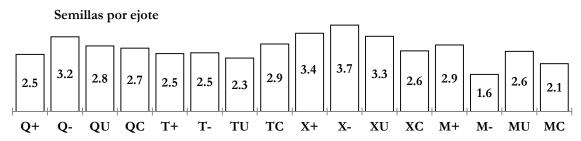


Figura 68. Semillas por ejote calculadas en el segundo corte de cada tratamiento

Análisis del rendimiento de los tratamientos en el segundo corte.

Debido a que en este corte se encontró un patrón de rendimiento diferente al descrito en el corte 1, donde las variables de respuesta no se comportaron homogéneamente en los suelos, la presentación de los resultados de este corte cambia porque en este se observa homogeneización de las variables de respuesta en todos los suelos.

En los cuatro suelos, todos los tratamientos fueron estadísticamente iguales en las variables: producción de ejotes, peso fresco, peso seco, peso fresco por ejote, peso seco por ejote, semillas por repetición, semillas por ejote, y longitud promedio, que son ocho de las nueve variables de respuesta analizadas donde no se muestran diferencias significativas. Únicamente la variable "ejotes por planta" presentó diferencias entre tratamientos en los suelos T, Q y M, es decir, que el suelo de X ya no distingue el efecto de los tratamientos al segundo corte. Con lo anterior se puede suponer que el efecto, tanto de la fertilización química como de la bioinoculación o biofertilización pierde eficacia en el tiempo.

Suelo T

El tratamiento inoculado con un Consorcio de cepas (TC), presentó diferencias altamente significativas, en el número de ejotes producidos por planta, comparado con los otros tres tratamientos (TU, T+ y T-) que resultaron estadísticamente iguales entre sí (Figura 69). Lo anterior se puede notar en que el tratamiento biofertilizado con un Consorcio de rizobios produjo 126.67% más ejotes por planta que el T+, superando al T- en 16.92%.

Ejotes por planta

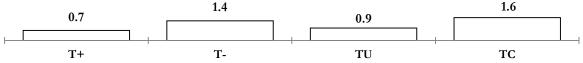


Figura 69. Ejotes por planta registrados en el segundo corte de los tratamientos del suelo T.

Suelo O

Esta misma variable presentó diferencias significativas en el suelo Q (Figura 70), donde el testigo negativo (Q-) fue estadísticamente igual al tratamiento Consorcio (QC), siendo estos tratamientos significativamente mayores a Q+ y QU que, además, comparten similitud en sus parámetros.

Ejotes por planta

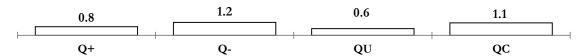


Figura 70. Ejotes por planta registrados en el segundo corte de los tratamientos del suelo Q.

Lo anterior significa que el testigo negativo tuvo un rendimiento por planta similar al generado por el uso de un biofertilizante Consorcio. En el segundo corte, el hecho de que este suelo haya sido rico en nutrimentos, implica que el rendimiento resultó mayor en ciertas variables debido a la propia riqueza del suelo, más que a la adición de agroquímicos.

No obstante la riqueza en nutrimentos, hecho que pudo haber disminuido la eficiencia de la simbiosis de los rizobios, particularmente por el N, la inoculación con un Consorcio de cepas seleccionadas, estimuló la producción de ejotes por planta. Sobre este particular, se observa que el incremento en el rendimiento en esta variable en el tratamiento Consorcio (QC) fue 44.64% mayor que el control positivo (Q+).

Suelo X

En el suelo X, todos los tratamientos fueron similares en la producción de ejotes por planta.

Suelo M

En el suelo M, los tratamientos con fertilización química (M+) y con inoculación (MC y MU) fueron similares estadísticamente en la producción de ejotes por planta, pero resultaron superiores estadísticamente al testigo negativo (M-), de tal forma que se evidencia que la inoculación resultó equiparable a la adición de fertilizante químico, lo que significa un resultado importante. Precisamente estos resultados exponen que el tratamiento (MU) produjo 50% más ejotes por plantas que el testigo negativo (M-); a su vez, el tratamiento unicepa (MC) incrementó la producción de vainas o ejotes por planta en un 67.65%, por encima del testigo negativo. Las diferencias entre las otras variables y los tratamientos fertilizados no fueron significativas.

Ejotes por planta



Figura 71. Ejotes por planta registrados en el segundo corte de los tratamientos del suelo M.

El hecho de que esta variable (producción de ejotes por planta) se distinga de las otras ocho, indica que el efecto de la biofertilización, comparada con la fertilización química, mostró ventajas en los suelos T, M y Q, pues permaneció durante los dos primeros cortes y los respectivos estados fenológicos de las plantas de la variedad Strike; este resultado constituye una evidencia sumamente interesante a favor del uso de biofertilizantes en las leguminosas como el frijol, y de la ineficacia de los AQ en ciertos suelo ya que, en el tiempo, no se asimilan al cien por ciento, además de que la pérdida de estos por lixiviación es alta, lo que constituye riesgo ambiental y a la salud.

Se aprecia que las variables de respuestas parecen homogeneizarse estadísticamente, lo que refleja que, en esta etapa del desarrollo, comienza a cesar la biosíntesis de compuestos destinados a la producción de estructuras reproductivas.

Corte 3. Panorama general

Fueron recolectados 326 ejotes que, en fresco, pesaron 270.6 gramos y secos 27.32 gr. Se aprecia que los ejotes de este corte fueron más livianos y pequeños que los reunidos de las cosechas anteriores, así que no tienen interés comercial y su potencial nutricional requiere ser estudiado, aunque son un aporte discreto de fibra, minerales y vitaminas.

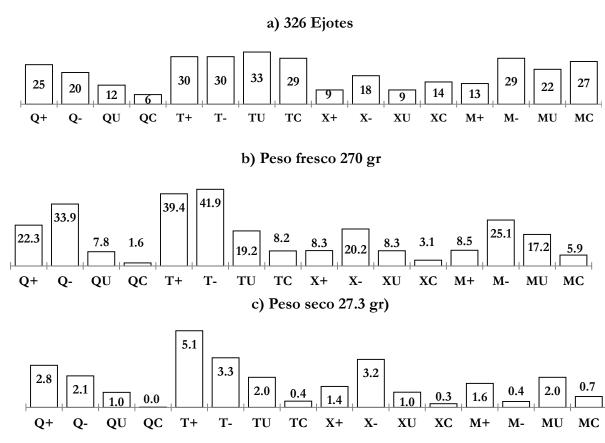


Figura 72. Análisis global del tercer corte conforme a los tratamientos y su producción. a) Número de ejotes cosechados en los diez y seis tratamientos. b) Peso fresco de la cosecha del segundo corte. c) Peso seco de los ejotes obtenidos en este corte.

Las 653 semillas cuantificadas, representan la mitad de las contadas en el primer corte, observándose que, en su mayoría, fueron semillas inmaduras. El peso fresco por ejote fue insignificante para la venta y, por tanto, el peso seco por vaina es sumamente bajo y carente de interés.

a) 653 Semillas 64 **X**+ **Q**U QC T+ T-TUTC X-XU \mathbf{XC} M+ O+O-M-MU MC b) Peso fresco por ejote 1.7 1.3 0.9 Q-QU QC T+T-TU TC X+X-XUQ+XC M+M-MC

Figura 73.a) Semillas totales colectadas en el tercer corte de acuerdo a cada tratamiento. b) Peso fresco por ejote registrado para este corte en cada tratamiento de los cuatro suelos.

Por la cantidad de semillas, el número de ejotes totales y los cosechados por planta, el suelo T se distinguió estadísticamente de M y de los suelos Q y X; estos dos últimos, guardan similitud paramétrica, ya que produjeron menos que los anteriores y estadísticamente son iguales. El peso fresco de la cosecha hace diferente al suelo T, que se distinguió primeramente de Q y M, similares, y en seguida de X. La biomasa seca (o peso seco) resultó estadísticamente igual en todos los suelos, al igual que la longitud promedio por ejote, el peso fresco por ejote, peso fresco por vaina, y la cantidad de semillas por ejote.

Análisis del rendimiento de los tratamientos en el tercer corte

Suelo T

En todos los tratamientos del suelo T, el número de ejotes total (Figura 74 a), el promedio de ejotes por planta (Figura 74 b)), así como la longitud promedio (Figura 74 c)) y el peso seco por ejote (Figura 74 d)), mostraron que ningún tipo de fertilización mantuvo su efecto en esta etapa del cultivo.

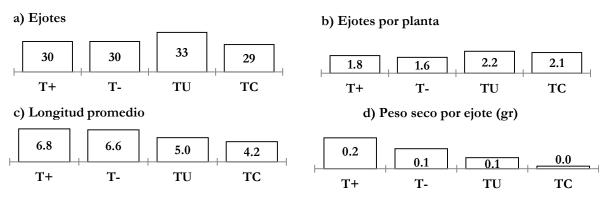


Figura 74. Cuatro variables de respuesta donde no se registraron diferencias entre tratamientos, es decir, que no mostraron diferencias significativas entre ellos.

Por otro lado, el peso fresco (Figura 75 a)) del corte presentó homogeneidad estadística entre los tratamientos fertilizados (T+, TC y TU). Estos tratamientos se distinguieron significativamente del testigo negativo (T-) que contó con un mayor índice de peso húmedo. En cuanto al peso seco (Figura 75 b)), T+ tuvo el mayor registro, siendo significativamente diferente a T- y TU que, a su vez, fueron similares entre sí, pero se distinguieron estadísticamente de TC; este mismo patrón se reconoció en el número de semillas por ejote.

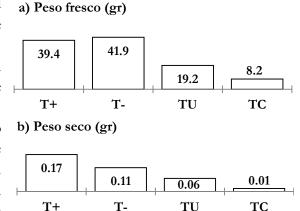
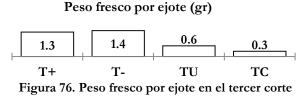


Figura 75. a) Peso fresco del tercer corte. b) Peso seco del tercer corte.

Se encontró que el testigo negativo (T-) registró el mayor índice de peso fresco por_ejote (Figura 76), diferente estadísticamente a (T+), que, a su vez, se distinguió de TU y este de TC, en orden descendente.



del suelo T.

La cantidad de semillas (Figura 77) contadas en T+, alcanzó a diferenciarse de T-, TU y TC, que fueron paramétricamente idénticos.

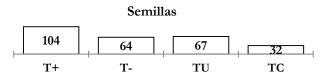


Figura 77. Semillas colectadas de la tercera cosecha,

No se reconoció un indicador de distinción definitivo entre tratamientos, pues no hubo un tratamiento que se destacara entre las variables de respuesta. Sin embargo, ya se comentó que la producción en este corte, resultó de escasa importancia en este experimento y, por tanto, es posible descartar el tercer corte en este trabajo.

Suelo Q

Algo similar ocurrió en el suelo Q, donde no se reconoce el efecto de los tratamientos ni se encontraron diferencias entre los mismos, en las siguientes variables: número de ejotes totales y ejotes por planta, longitud del ejote y peso seco por ejote (Figura 78).

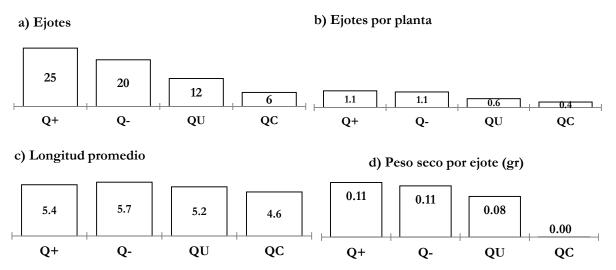


Figura 78. Cuatro variables de respuesta que no detectan efecto ni de la inoculación, ni de la fertilización química en el rendimiento del tercer corte en el suelo Q. a) Ejotes cortados. b)

Ejotes por planta. c) Longitud promedio del ejote d) Peso seco por ejote.

En el peso fresco (Figura 79 a)) se reconoció homogeneidad estadística en Q-, Q+ y QU, estos a su vez, se distinguieron significativamente de QC, con menor peso; este mismo patrón se reconoció en el peso seco y número de semillas (Figura 79; b) y c)).

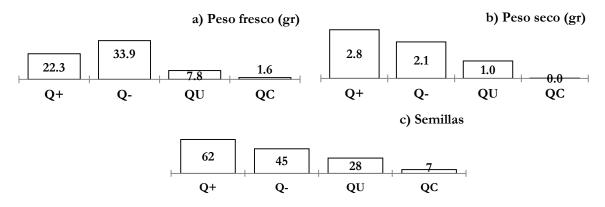


Figura 79. a) Peso fresco de la cosecha de ejotes en el suelo Q, tercer corte. b) Peso seco de los ejotes cortados en la tercera cosecha del suelo Q, conforme a los tratamientos probados.

La cantidad de semillas por ejote (Figura 80) dejó ver que los testigos (Q+ y Q-) no mostraron diferencias entre ellos, pero estos fueron superiores a los tratamientos biofertilizados (QU y QC) que, entre ellos, fueron similares.

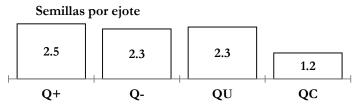


Figura 80. Semillas por ejote de mismo corte, en el suelo Q.

Por los resultados anteriores relativos al tercer corte, no se reconoció un tratamiento que pudiera destacar por generar una mejora en la producción, como ya se mencionó, la cosecha no mostró cualidades destacables para ser considerada comercial.

Suelo X

En suelo X, tampoco se reconoció ningún efecto, ni diferencias entre los tratamientos en las siguientes variables (Figura 81): número de ejotes totales y de ejotes por planta, longitud del ejote y peso seco por ejote.

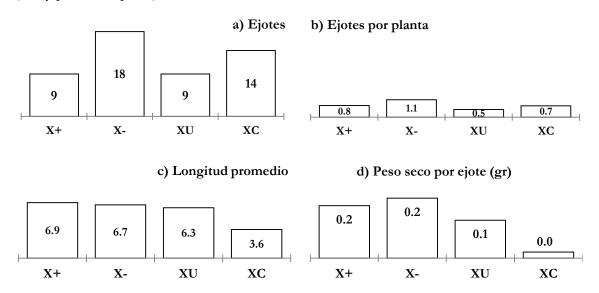


Figura 81. Cuatro variables de respuesta que no indican efecto ni diferencia entre tratamientos en el tercer corte del suelo X. (a) Ejotes totales cortados en X. (b) Ejotes por planta, (c) Longitud promedio (d) Peso seco por ejote,

En el peso fresco, (Figura 82 izquierda) se reconoció homogeneidad estadística en X-, X+ y XU, que se distinguieron significativamente de XC, por su menor peso; este mismo patrón se reconoció en el peso seco (Figura 82: derecha).

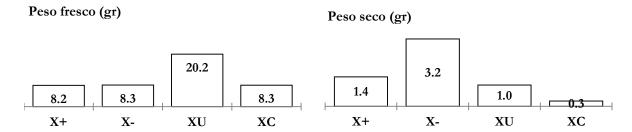


Figura 82. Izquierda: Peso fresco del tercer corte de ejotes realizado en los tratamientos del suelo X. Derecha: Peso seco de los ejotes obtenidos en el tercer corte del suelo X.

El peso fresco por ejote (Figura 83) indicó que X- y XU fueron iguales, mostrando una superioridad significativa por ser estadísticamente diferentes a (X+), que estuvo por encima de XC.

Peso fresco por ejote (gr)

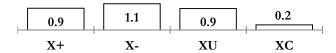


Figura 83. Peso freso por ejote de la producción en los tratamientos del suelo X en el tercer corte.

El número de semillas (Figura 84) fue similar en los tratamientos (X+) y (XC), que estuvieron por debajo de XU y X- y no se distinguen entre sí.

Semillas

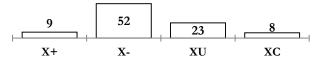


Figura 84. Número de semillas colectado en la tercera cosecha del suelo X, en cada uno de sus tratamientos.

Por último, la cantidad de semillas por ejote (Figura 85) unificó paramétricamente a los testigos y a los tratamientos biofertilizados.

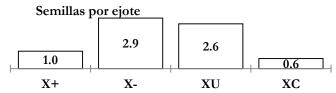


Figura 85. Semillas por ejote en cada tratamiento del suelo X, calculadas en el tercer corte de vainas.

Suelo M

Los mismos parámetros que marcaron igualdad estadística en los otros suelos, también lo hicieron en el suelo M. En la figura 86 se presentan: el número de ejotes totales, cantidad de ejotes por planta, longitud del ejote y peso seco por ejote, además (en la figura 87) del peso fresco del corte y número de semillas que también fueron homogéneos.

a) Ejotes b) Longitud promedio 5.7 5.5 29 27 5.0 22 4.3 13 M+ M-MU MC MU MC M+Mc) Peso seco por ejote (gr) d) Ejotes por planta 0.12 0.09 3.0 0.01 0.03 2.5 2.7 2.6 M+ M-MUMC M+M-MU MC

Figura 86. Cuatro variables de respuesta que no mostraron diferencias significativas entre tratamientos en el tercer corte de los cuatro suelos. a) Ejotes producidos en M. b) Longitud promedio de los ejotes del suelo M. c) Peso seco por ejote en cada tratamiento.

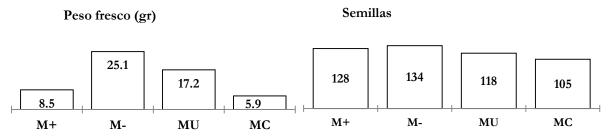


Figura 87. Dos variables de respuesta adicionales que igualan estadísticamente, los cuatro tratamientos del suelo M en el tercer corte. a) Peso fresco del total de ejotes cosechados. b) Semillas contadas en toda la producción del suelo M.

El peso seco (Figura 88: izquierda) reflejó similitud paramétrica entre M+ y MU, estos a su vez, fueron diferentes significativamente de M- y MC. En el peso fresco por ejote (Figura 88: derecha), se igualaron estadísticamente los testigos, ya que fueron mayores que MC y, a su vez, menores paramétricamente que MU. Por último, MU, M+ y M-, fueron idénticos entre ellos y diferentes estadísticamente a MC, ya que presentó un menor peso.

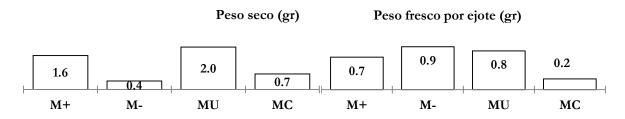


Figura 88. Izquierda Peso seco de la cosecha del tercer corte en cada tratamiento del suelo M. Derecha: Peso fresco por ejote en el mismo corte.

Como ocurrió también en los otros suelos, solo algunos parámetros marcaron diferencias significativas entre los tratamientos, y ningún patrón destacó, solo el que pudiera notarse el hecho de que los tratamientos mostraron similitud estadística en la mayoría de las variables de respuesta.

Se puede resumir que, el tercer corte, no tuvo un rendimiento de interés en este trabajo y que los tratamientos tendieron a homogeneizarse estadísticamente.

El número de ejotes totales, ejotes por planta, longitud del ejote y peso seco por ejote, fueron variables de respuesta que marcaron estabilidad estadística en los cuatro suelos, lo que permitió suponer que estas variables reflejaron un decremento de la actividad reproductiva en esta etapa del ciclo biológico de la variedad Strike, bajo las condiciones experimentales en que se realizó este trabajo.

Nodulación inducida por los tratamientos probados.

El análisis de la nodulación, permite confirmar algunos de los resultados más interesantes relacionados con el rendimiento de la biofertilización.

En el caso del suelo Q (figura 89), no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, debido probablemente, a las características nutrimentales y biológicas del suelo. Se confirma que la adición de agroquímicos inhibe la nodulación y por lo tanto la fijación biológica de nitrógeno. Esta es la causa de que el rendimiento de Q+ haya sido similar al testigo negativo, en el que se encontró una nodulación importante que coadyuvó a que las plantas rindieran de manera similar a las de los tratamientos fertilizados. Estos hechos confirman que la carga natural de nutrimentos de este suelo fue suficiente para producir ejotes sin adición de agroquímicos (AQ).

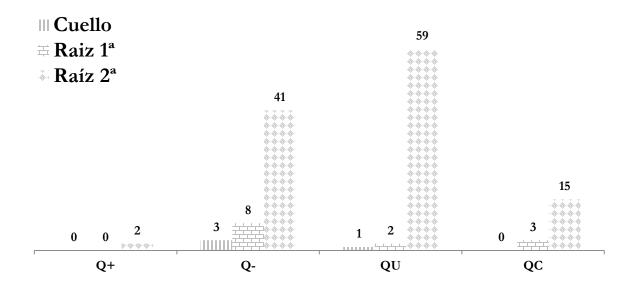


Figura 89. Nodulación en los tratamientos del suelo Q de acuerdo a la posición de los nódulos encontrados.

Es factible decir que la producción de este suelo se basó en un consorcio de cepas nativas más grande que el tratamiento QC que también poseía una gran gama de bacterias.

El hecho de que, en los tratamientos biofertilizados QU y QC se haya detectado un menor número de nódulos que en el Q- tiene que ver con lo dicho anteriormente, además de varios aspectos que lo pueden explicar como son:

- (1) Que la elección de los organismos (selección artificial) haya fomentado que la nodulación ocurriera por competencia, donde la formación de nódulos no siempre corresponde a las cepas más efectivas en la fijación del nitrógeno sino a las más hábiles para nodular.
- (2) A su vez, estas relaciones no pudieron promoverse adecuadamente debido a que las condiciones ambientales a veces no son favorables para todas las cepas aplicadas, teniendo por tanto, ventaja las nativas.
- (3) Lo anterior ratifica el hecho de que los inoculantes deben tener un carácter regional; es decir, que el uso de un mismo inoculante no puede garantizar el mismo efecto en un suelo que en otro y, por tanto, su uso no debe globalizarse ni hacerse general para todos los suelos ni todos los ambientes; esto quiere decir que tenemos que usar bacterias nativas seleccionadas de cada suelo. Es un buen indicador el que QC y Q- hayan destacado de los otros dos tratamientos en la producción de ejotes por planta, lo que debe ser causa de que estos lotes guardaran condiciones más parecidas a las iniciales de este suelo, siendo favorables para la siembra de esta leguminosa. Al menos la cepa que se eligió para el inoculante unicepa QU, se observó en la colecta de nódulos, donde se obtuvo un nódulo de cuello. Finalmente, debe tenerse en cuenta que si la evaluación de la nodulación se lleva a cabo al final del ciclo biológico de la planta o cuando ya están madurando los frutos, algunos nódulos de poca funcionalidad, pueden desprenderse de la raíz disminuyendo la cantidad de estos detectables después de la cosecha de ejotes.

Un suceso similar ocurrió en los tratamientos del suelo T (figura 90), pues T+ solo favoreció el desarrollo de cepas de poco interés, ya que se ubicaron en las raíces terciarias; mientras que en T-, además de los nódulos en estas, presentó nódulos en raíz primaria; en TC y TU se formaron cepas en cuello, pero el Consorcio propició la formación un gran número de nódulos, de tal manera que se reflejó en la distinción estadística de este tratamiento sobre todos los de su suelo y sobre los demás sustratos. En el tratamiento unicepa (TU) del suelo T, también se logró una buena nodulación en todos los niveles radiculares; sin embargo, la inoculación de esta cepa de rizobios parece que no propició plantas más productivas.

Se observó un patrón en T+; es decir, la fertilización química parece haber favorecido la nodulación localizada en un solo sitio radicular; mientras que la nodulación producida por las cepas nativas en el (T-) se generó en sitios radiculares más diversos; por otra parte, la inoculación con un solo tipo de cepa (TU) incrementó la nodulación en una mayor área radicular; no obstante, la inoculación con un Consorcio de cepas de rizobios (TC) promovió

aún más la colonización en todos los estratos de la raíz; por tanto, TC, fue el tratamiento con mayor rendimiento, generando la mayoría de sus nódulos en las raíces secundarias y terciarias, y solo dos en cuello, lo cual permite suponer que la fijación biológica de nitrógeno aun desde nódulos generados por cepas poco invasivas también es de alta significancia para la productividad de ejotes.

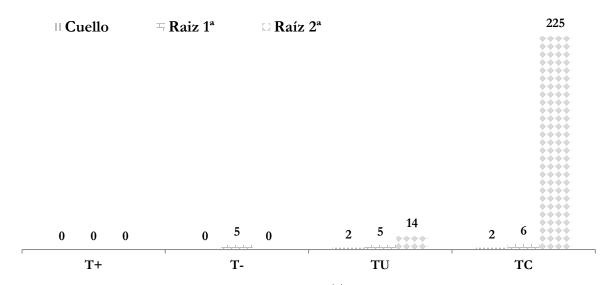


Figura 90. Nodulación en los tratamientos del suelo T de acuerdo a la posición de los nódulos encontrados

Una de las consecuencias de la biofertilización o inoculación sobre la biodiversidad del suelo, es que se favorece la supervivencia y reproducción de cepas previamente seleccionadas por tener cualidades en particular (como es el que sean más capaces para colonizar); ello corresponde a lo que los darwinistas llaman "selección artificial" que, a este nivel, promueve el incremento de ciertas poblaciones bacterianas que benefician a las plantas y a su vez, estas las asisten al hacer simbiosis efectivas con ellas.

Este incremento en la supervivencia y reproducción de cepas seleccionadas se presentó en los tratamientos inoculados (TU y TC) en el suelo de Tehuixtla (T) pero también en los de Xochimilco (XU y XC), pues se observó que la cantidad de nódulos se incrementó notablemente en estos tratamientos biofertilizados, frente a los testigos, en los que las cepas que nodularon fueron de poca relevancia para los intereses de esta investigación.

Por ejemplo, en el tratamiento X+ solo hubo nódulos en las raíces terciarias, mientras que en X- se establecieron en los cuatro niveles radiculares. Confrontar estos dos casos nos confirma, por un lado, que la administración de AQ a los suelos, merma la biodiversidad de rizobios nativos del suelo y, por otro, que el hecho de que el testigo negativo rindiera estadísticamente más que el positivo, se debió al potencial propio del suelo para crear relaciones simbióticas, las

cuales se inhiben en presencia de niveles altos de nutrimentos inorgánicos y culminan por reducir la capacidad productiva del suelo para este tipo de leguminosas.

Por otro lado, se percibió que la fertilización viva o inoculación abastece del nitrógeno que necesita la planta, desde las primeras fases del desarrollo y hasta la formación del fruto. Podemos decir que el control negativo fungió como un ejemplo de la capacidad natural del suelo, en lo relativo a que, en este tratamiento, sólo actuaron las cepas nativas capaces de nodular a las plantas, que lograron fijar suficiente nitrógeno para hacer rendir a las plantas por encima del tratamiento adicionado con AQ (X+), lo que sugiere que el suelo de Xochimilco tiene aptitudes para el cultivo de la variedad Strike por sí mismo, pues su estado prístino es más productivo que cuando se le fertiliza químicamente, y mejor aún, el manejo adecuado del gran recurso que son sus cepas, pues al inocularlas, la capacidad productiva del mismo se potencializa sustancialmente a la par del incremento de la cantidad de cepas benéficas con las que se logra, tanto cualitativa como cuantitativamente una buena cosecha, debido a que la planta hospedera prefiere cepas locales (Aguilar et al., 2004 citado por Ribeiro, et al., 2013). Este hecho finalmente nos conduce al cuidado de la salud ambiental (por no requerirse AQ para obtener un buen rendimiento en la cosecha) y social (por generarse un alimento más rico en proteínas, producto de un nivel alto de fijación del nitrógeno); es decir, que suelos con este potencial natural deben no sólo conservarse, sino estudiarse para lograr aprovechamientos inteligentes que integren los aspectos adecuados para que el impacto social sea favorable, incluida la alimentación para todos y todas y por último y menos importante, la comercialización pues es más prioritaria la eliminación del hambre y la desnutrición que la proliferación de negocios capitalistas.

En el tratamiento inoculado con una cepa (XU) de este suelo de Xochimilco (X) se recolectaron doce nódulos ubicados en el cuello de las plantas; en esa misma posición, el tratamiento biofertilizado con un Consorcio de cepas (XC) consiguió quince nódulos; por otra parte, la nodulación generada únicamente por los rizobios nativos (X-) solo fue de dos nódulos, mientras que no se detectaron rizobios que nodularan el cuello en el tratamiento adicionado con AQ (X+), es decir, que las bacterias más efectivas en la simbiosis, muy probablemente fueron inhibidas por los AQ de este tratamiento. En este suelo, confirmamos la relación que hay entre la cantidad de nódulos y el rendimiento de la cosecha de ejotes; también reafirmamos con lo anterior, que la actividad nodular se inhibe con la adición de AQ como lo menciona Buttery et al., 1987.

El análisis de la figura 91 expone el contraste tan evidente en el número de nódulos colectados en los diferentes nichos radiculares de cada tratamiento del suelo X, poniendo en evidencia la muy poca cantidad de organismos con potencial simbiótico que per se este suelo presenta (X-) y que el uso de agroquímicos conduce a su completa supresión (X+).

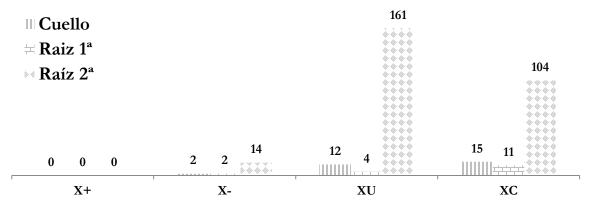


Figura 92. Nodulación en los tratamientos del suelo de Xochimilco (X) de acuerdo a la posición de los nódulos encontrados

Para concluir con la revisión del potencial microbiano rizobiótico de este suelo, podemos observar en la figura 92, una masa nodular obtenida de una de las plantas inoculadas con el Consorcio de cepas de este suelo.

En el suelo de Magdalena Petlacalco (M) nuevamente encontramos que la adición de AQ reduce el número de nódulos (figura 93); es decir, que la presencia de los fertilizantes químicos (M+) afecta negativamente la simbiosis rizobios-leguminosa, pues comparando el estado nativo del suelo (M-) con el M+, que lleva AQ, y los tratamientos biofertilizados, se apreció una importante disminución de la cantidad neta de nódulos; sin embargo, el tratamiento (M+) fue el que más nódulos en cuello presentó (probablemente generados por cepas más invasivas). Lo que indica que este suelo proporcionó cepas nativas muy competentes pues, aun con la presencia de AQ, fueron capaces de colonizar la raíz principal a nivel del cuello de las plantas.

La buena calidad de la colonización de los rizobios inoculados en este suelo, se sustenta en el mejor rendimiento que tuvo, identificado en el tratamiento biofertilizado con una cepa aislada de este suelo (MU), al compararlo con los tratamientos testigos (M-) y (M+) que fueron menores, dejando de lado que estos poseyeron más cepas invasoras tempranas como son los que forman nódulos en el cuello y que no por ello alcanzaron las mejores cualidades de la cosecha de ejotes, las cuales, recalco, se concentraron en MU.



Figura 91. Conjunto de nódulos posicionados en el cuello de una planta de frijol ejotero, que se desarrolló en el suelo de Xochimilco con una selección de bacterias fijadoras de nitrógeno inoculadas en Consorcio. Un nódulo puede haber sido generado por varias cepas de bacterias nativas o de un Consorcio.

Se deduce, por tanto, que la selección de cepas fue sumamente favorable, más por la calidad de las cepas inoculadas que por la cantidad de nódulos de cuello.

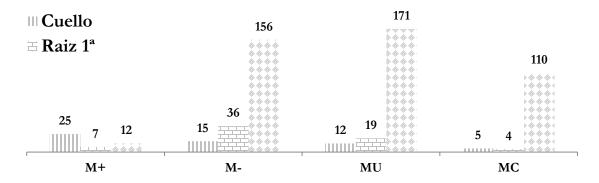


Figura 93. Nodulación de los cuatro tratamientos del suelo de Magdalena Petlacalco (M), Tlalpan de acuerdo a la posición en que fueron encontrados después de tres cortes de ejotes.

Del mismo modo que el testigo positivo, es asombroso que a pesar de que M- y M+ presentaron respectivamente 15 y 25 nódulos en cuello, los rendimientos de estos no alcanzaron los logrados por MU con 12 cepas seleccionadas. Por su parte, esta inoculación Unicepa superó, en rendimiento a todos los tratamientos, teniendo solo doce nódulos en cuello, y diez y nueve en raíz primaria. Estas cepas provienen de la interacción de las nativas y de las seleccionadas; este hecho sugiere que la divergencia de la Unicepa en variedades o subespecies, puede dar como creación de resultado Consorcios bacterianos más efectivos que la inoculación con una sola cepa. Entiendo que este procedimiento es necesario para una correcta implementación de la biofertilización en nuevas especies vegetales, con biota no habituada a ellas y en suelos con características similares a M. Esta interacción hace que en dicho sustrato el efecto de la fertilización



Figura 94. Nódulo de cuello en plantas desarrolladas en el suelo de Magdalena Petlacalco (M), Tlalpan.

biológica se prolongue aún a etapas avanzadas de edad de la variedad Strike, la cual también responde con aporte químico de nutrientes. Por último, se estima que un segundo aislamiento e inoculación de bacterias fijadoras de nitrógeno nativas de M, pueden hacer rendir el cultivo por encima de lo obtenido en este experimento.

Los resultados antes expuestos significan una compleja red de implicaciones en diferentes dimensiones, tanto culturales, donde la sociedad es beneficiada por los efectos de una fertilización orgánica, libre de procesos industriales y residuos perjudiciales a la salud, además de aumento de conocimientos científicos; pero también es posible extrapolar lo evaluado a la visión ambiental que es imposible separarla de la cultura o sociedad.

Al respecto, encontramos que existe una alternativa real al uso de fertilizantes químicos, pero ¿por qué es necesaria o útil esta? Vale la pena considerar seriamente, que la estrategia de cultivo de alimentos, que rige nuestra nutrición, es completamente perjudicial. La única ventaja es que los frutos, son atractivos a la vista ¿Esto qué tiene de importante en un sistema socio ambiental en crisis que está expuesto a la inestabilidad climática producto de su misma decadencia y proceder que le hace anhelar expandirse a todo el mundo (¡qué peligroso!)? Ni siquiera es capaz de erradicar las hambrunas y la pobreza con su masiva abundante producción, pues su interés es financiero, no poblacional (ni ambiental). Así que la alternativa investigada en esta tesis, es necesaria y útil para dos situaciones simultáneas que quiero tratar: 1.- ofrecer al socio ambiente capitalista en el que vivo otra opción viable de seguir produciendo abundante cantidad de insumos alimenticios y 2.- crear otro modelo de vida basado en otra manera de ver la producción y el consumo de alimento.

El componente ambiental es también favorecido, es decir, que asumir una forma natural de fertilizar los suelos, hace que su calidad sea más congruente con la habilidad de sustentar ("sustentabilidad"). Retomando el replanteamiento de este concepto, en esta tesis se probó con diferentes tipos de suelo, evaluaciones fenológicas (Salinas-Ramírez, et al., 2011), análisis de rendimiento productivo (Elkoca, 2010), (Gharib, et al., 2009), (Mahmoud, et al., 2010), (Sanoria & Yadav, 1993), (Singer, et al., 2000) (Salinas, et al., 2011) e inducción de nodulación (Aguilar et al., 2004 citado por Ribeiro, et al., 2012) (Singer, et al., 2000), que la biofertilización cuenta con mayor "sustentabilidad" que la fertilización química, no solo porque produce igual o más que cuando se agregan agroquímicos (AQ), sino porque genera alimentos mientras da un beneficio al suelo, al mismo tiempo que este conserva su potencial productivo. Lo anterior hace que dicha habilidad pueda ser mantenida por tiempo indefinido y con menos costos, los cuales son parámetros útiles para evaluar la habilidad de sustentar dentro del sistema capitalista actual o fuera de él, pues también ocurren en los sistemas agroecológicos de "sociedades" muy otras, que mantienen el conocimiento ancestral de respeto y prioridad por lo natural y que funciona para saber vivir y saber convivir en este mundo finito. Estos dos saberes son dos indicadores adicionales de la otra sustentabilidad.

⁹ Hago un énfasis en la palabra ("sociedades") porque su definición está gestada desde los paradigmas occidentales que pueden o no aplicar a los usos y costumbres organizacionales de las comunidades no globalizadas, que emplean estrategias naturales como la biofertilización para "ser soberanos alimentacionalmente"⁹.

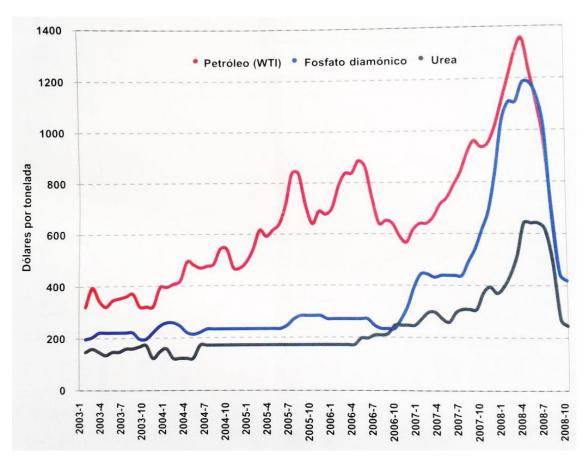


Figura 95. Relación histórica de los precios del petróleo, urea y fosfato diamónico (Aguado, et al., 2012).

Ambientalmente, la biofertilización prescinde del uso de petróleo, que se usa para elaborar los AQ. Estos son dos de los pilares de la contaminación ambiental, calentamiento global y, por ende, de los daños a la salud. Repensando la sustentabilidad, estos son criterios que hacen que la biofertilización pueda mantenerse por tiempo indefinido, porque no hay razones ambientales ni financieras ni salubres para ignorarla, aunque viéndolo con ojos capitalistas, existe una gran inversión en el rubro petrolero, el cual tiene una íntima relación y abundantes ganancias monetarias por el comercio de la producción de comida agroquímica (Aguado, et al., 2012), por lo que la biofertilización, desde este punto de vista, es la competencia de los AQ, los cuales aumentan de precio porque dependen de un recurso escaso no renovable cada vez más inaccesible (el petróleo) (Figura 95), sujeto a la dinámica del mercado que lo encarece por su alta demanda, de tal forma que los alimentos adquieren un precio cada vez más alto. En este sentido, se planteó dos párrafos antes, que la presentación de esta alternativa a mi sociedad es simultánea a la creación de otro modelo de vida, separado pero dentro del proceder monetarista preponderante, que requiere ejemplos vivos de que es posible prescindir del dinero para vivir. Eso aprendí en la Licenciatura en Biología.

Inevitablemente, lo anterior me conduce a proponer que el uso de fertilizantes debe ser suplido; quienes consideremos la propuesta, precisamos organizarnos para hacer iniciativas que demuestren su conveniencia y comenzar a reformular un modo propio de generar nuestra comida, para hacer otra manera de vivir. En lo personal quiero hacerlo en las ciudades en vista

de que estos socioambientes están completamente alterados y desequilibrados, y cualquier esfuerzo por mejorarlos no les hace más daño, en cambio proyectar iniciativas en la ruralidad puede culminar en llevar la urbanidad al campo que mantiene aún su propia estabilidad.

Consideraciones generales relativas a los resultados

Fase A.

Con el propósito de comparar el comportamiento de la población nativa de los rizobios que se asocian simbióticamente con el frijol (*Phaseolus vulgaris L.*) y, en particular, el de aquellas cepas que pueden generar una simbiosis efectiva con la variedad "ejotera" (Strike), se eligieron suelos que contrastaran tanto por su origen como por sus características físicas, físico-químicas, químicas y por su contenido en nutrimentos.

Entre los suelos de origen volcánico X y M (de la Cuenca de México D.F., localidades de Pedregal de San Francisco, Delegación Xochimilco y Magdalena Petlacalco, Delegación Tlalpan, respectivamente) y los de origen calcimagnésicos T y Q del Estado de Morelos (de las localidades de Tehuixtla y Tequesquitengo, respectivamente), existen diferencias relacionadas con su textura, pH, capacidad de retención de humedad, contenido de carbono y de nutrimentos.

Propiedades físicas, físico-químicas y químicas de los suelos

Desde el punto de vista granulométrico, los suelos M y X de origen volcánico, con texturas areno-francosa y franco-limosa respectivamente, fueron significativamente diferentes a los suelos de origen calcimagnésico T y Q con textura arcillosa ambos suelos.

- * El suelo M fue el más ácido; y el más pobre en N, P, K, Ca y Mg
- ** El suelo X le sigue en capacidad productiva. Resultó ser menos ácido (ligeramente ácido); rico en N, pobre en P y medio en K, Ca y Mg.
- *** El Suelo T es ligeramente ácido, tuvo el pH más cercano a la neutralidad; siendo también rico en N, P, Ca y Mg.
- **** Finalmente, el suelo Q resultó ligeramente ácido y el más rico de los cuatro en: N, P, K, Ca y Mg.

En relación al contenido en carbono orgánico (C), los cuatro suelos fueron muy pobres; no obstante, el porcentaje de carbono, no explica las diferencias tan contrastantes encontradas en el rendimiento de la cosecha.

La productividad teórica, planteada con base en el pH, contenido de carbono orgánico y nutrimentos, fue inconsistente con lo obtenido en el rendimiento de la cosecha, pues las variables de respuesta no se comportaron de acuerdo a las propiedades físicas, físico-químicas y químicas de los suelos, lo que indica que para explicar la capacidad productiva de estos cuatro suelos, se requiere incluir las características biológicas de los suelos y el manejo de los mismos.

Sin embargo, la textura del suelo tuvo un efecto significativo en la capacidad de retención de humedad o capacidad de campo (CC) de los suelos, observándose que en los suelos con un contenido mayor de arcilla (T y Q) la CC fue mayor respecto a los suelos M y X, de textura areno-francosa y franca limosa, respectivamente; en ellos dicha capacidad fue significativamente menor. Paradójicamente, se observó que en aquellos suelos con texturas arcillosas (suelos T y Q) la capacidad de absorción de agua por las plantas fue menos favorecida que en los suelos con texturas arenosas o limosas (suelos M y X).

Nodulación

La presencia nitrógeno, muy probablemente en forma de nitritos, en los suelos T y Q inhibe o altera la nodulación nativa.

En los cuatro suelos se pudieron aislar cepas de interés, tanto por nodular tempranamente (nódulos a nivel de cuello y/o raíz principal), como por su tamaño y color, lo que denota mayor capacidad para fijar el N_2 . No obstante en el suelo X se detectó la mayor nodulación total, seguido de M, Q y T. Este último presentó la mayor cantidad de nódulos de cuello, seguido de Q, X y M

Fase B

Fenología.

Suelo de Xochimilco (X).

Las plántulas de XC y XU (inoculadas con un Consorcio de rizobios y con una sola cepa, respectivamente) emergieron en mayor proporción y antes que en los tratamientos testigos o controles (no inoculados); del mismo modo que las hojas trifoliadas surgieron antes en las plantas con inoculante que en los controles. En los tratamientos biofertilizados o inoculados, (XC y XU) se generaron un mayor número de plantas con flores que en ambos testigos y, en estos tratamientos, el testigo negativo, es decir sin fertilizante químico (X-) presentó floración más cuantiosa que el testigo fertilizado (X+). También se produjo un efecto significativo positivo en la altura de las plantas biofertilizadas (XC y XU), respecto al control positivo (X+), no ocurrió así con el control negativo (X-) donde se registró la mayor altura.

Suelo M, de Magdalena Petlacalco.

La germinación no mostró un comportamiento estadísticamente diferente a los otros suelos ni entre tratamientos. Sin embargo la fructificación ocurrió antes en los tres tratamientos fertilizados (MU, MC y +) respecto al testigo negativo no fertilizado ni inoculado (M-). Lo que significa que el efecto de los inoculantes fue similar al de los fertilizantes químicos.

La madurez, evaluada en función de la aparición de las hojas trifoliadas, en los tratamientos M-, MC y MU fue más rápida que en el M+.

En este suelo no se detectó ninguna diferencia significativa en la floración por efecto de los tratamientos.

Suelo de Tehuixtla (T).

En este suelo no hubo diferencias fenológicas significativas por efecto de los tratamientos en el tiempo de maduración de las plantas. Lo que se observó fue que las plantas de T- mostraron signos más lentos de madures por las cantidades de plantas maduras, lo cual se expone a continuación.

El testigo positivo (T+) y el tratamiento Unicepa (TU) coincidieron en el porcentaje de macetas con racimos. El tratamiento testigo negativo (T-) y el Consorcio (TC) igualaron en porcentaje de estructuras de flores que fueron mayores que T+ y TU.

La biofertilización, tanto con el tratamiento TU como con TC, tuvo un efecto positivo en la altura de las plantas; sin embargo, sólo con el tratamiento TC el efecto fue significativo, con respecto a los controles (T+ y T-).

Suelo de Tequesquitengo (Q).

En todos los tratamientos de este suelo, las plantas alcanzaron sus respectivas etapas fenológicas sin diferencias significativas. Las únicas excepciones fueron:

El surgimiento de las hojas trifoliadas ocurrió antes en los tratamientos biofertilizados o inoculados que en los testigos (Q+ y Q-),

La biofertilización incrementó la cantidad de plantas con hojas trifoliadas, mientras que la adición de agroquímicos no tuvo efecto en esta fase fenológica, pues ocurrió como en el testigo negativo.

Las plantas biofertilizadas o inoculadas (QU y QC) presentaron más botones florales que los testigos.

La biofertilización en sus dos formas (QC y QU) incrementó significativamente la altura de las plantas.

Análisis del rendimiento por tratamiento en el primer corte.

Suelo X

Los tratamientos biofertilizados (XC y XU) tuvieron mayor rendimiento que el control positivo (X+) en todas las variables de respuesta, a excepción del número de ejotes por planta donde comparten igualdad estadística. No hubo diferencias significativas entre tratamientos en el número de ejotes por planta.

Las fertilizaciones, química y biológica, no incrementaron la cantidad de ejotes por planta.

El testigo negativo produjo ejotes frescos que pesaron igual que los obtenidos con inoculación bacteriana, así como vainas con una cantidad estadísticamente semejante de semillas por ejote.

En este corte, se cosecharon significativamente más ejotes en XC –inoculado con un Consorcio de cepas-, que en X+, tratado con agroquímicos;

En este corte se cosecharon más ejotes en los tratamientos biofertilizados, porque las plantas tratadas con agroquímicos (X+) tardaron más tiempo en alcanzar la fase reproductiva que las que se inocularon con rizobios. Estos datos permiten asegurar que la biofertilización es una importante alternativa para incrementar el rendimiento del cultivo sin los altos costos económicos y riesgos asociados al uso de fertilizantes químicos.

Suelo M

La inoculación con la cepa seleccionada de este suelo (MU), por sus propiedades simbióticas, incrementó el rendimiento en nueve variables de respuesta; es decir que, mejoró la cantidad y la calidad de la cosecha, superando el efecto de la fertilización química del suelo (M+), al de la inoculación con un Consorcio de cepas de rizobios (MC) y al posible efecto de la participación de los rizobios nativos dispersos en el suelo original (M-). Se percibió un incremento en el peso seco por ejote, del tratamiento inoculando con el Consorcio de cepas (MC) con respecto al testigo positivo (M+) y al testigo negativo (M-).

Con el tratamiento unicepa (MU) también se incrementó el peso fresco por ejote con respecto a los controles positivo (M+) y negativo (M-).

Suelo T

En el suelo T, la producción de ejotes del tratamiento inoculado con el Consorcio (TC) superó significativamente a los otros tratamientos. La fertilización química produjo estadísticamente más que el tratamiento negativo (T-). La inoculación con una cepa competente (TU), no produjo diferencias significativas, con respecto a los otros tratamientos, en la producción de vainas en el primer corte.

Con el peso fresco y el peso seco correspondientes se observó cercanía estadística entre TC y T+; este último superó a TC por muy poco en el peso seco de la cosecha y ambos superaron a prevalecen sobre T- y TU, que fueron paramétricamente iguales.

El Consorcio (TC) produjo significativamente más ejotes por planta, que los otros tratamientos, que guardan similitud.

TU, produjo ejotes más pequeños y livianos que los otros tratamientos (T-, TC y T+) que fueron estadísticamente homogéneos en las variables más importantes (peso fresco y seco por ejote, longitud promedio del ejote y número de semillas).

Los pesos secos promedio de las vainas de TU, TC y T- fueron estadísticamente iguales, pero son superadas significativamente por T+.

La cantidad de semillas generadas en TC fue significativamente mayor que T+ y esta es superior estadísticamente a TU, la que supera paramétricamente a T-.

En cinco de las nueve variables de respuesta, (peso fresco y seco totales, peso fresco por ejote, número de semillas por ejote, longitud promedio del ejote) la inoculación del frijol con un Consorcio de cepas nativas aisladas del suelo T (TC) respondió igual que la fertilización con agroquímicos AQ (testigo positivo T+). Estas variables son de suma importancia para la soberanía alimentaria del país, debido a que la biofertilización con bacterias es más económica y limpia que la aplicación de fertilizantes químicos. TC mostró mejores cualidades que el control positivo en el número de ejotes, número de semillas y cantidad de ejotes por planta, tres variables de suma importancia para la soberanía alimentaria.

La fertilización con una sola cepa (TU) es menos efectiva que la aplicación del Consorcios TC;

Como alternativa al uso de fertilizantes químicos para la producción de frijol ejotero variedad Strike, la biofertilización comprueba su eficiencia en el suelo T.

La inoculación con un Consorcio de cepas (TC) incrementó la producción de ejotes por planta y de semillas por ejote respecto al tratamiento con agroquímicos (T+). Además, las dos modalidades de biofertilización – TU y TC - superan al testigo negativo (T-) en la productividad de ejotes por planta. Lo anterior denota el potencial de la biofertilización para la producción orgánica de ejotes.

Por otro lado, la producción de semillas por ejote, que es un reflejo de la calidad nutrimental y potencial reproductivo de la variedad Strike, también se vio incrementada por la biofertilización sobre ambos testigos -positivo y negativo-.

Suelo Q

La producción de ejotes en sus nueve variables, reflejó que la adición de agroquímicos no elevó el rendimiento en el suelo Q, en parte, por la previa riqueza en nutrimentos de este suelo. La inoculación bacteriana tampoco rebasó la producción control no fertilizada, debido al alto contenido en nutrimentos del suelo.

En seis de nueve variables (ejotes cortados, peso seco del corte, la longitud representativa o promedio de la vaina, el peso seco individual y el número de semillas), QU igualó la producción del tratamiento fertilizado químicamente, lo que significa un efecto importante de la biofertilización.

El tratamiento unicepa (QU) incrementó la cantidad de ejotes por planta respecto al control positivo y negativo; lo que significa un efecto importante de la inoculación. Esta variable indicó un mayor beneficio de la biofertilización en la productividad de ejotes por planta, comparado con el estado natural del suelo y el efecto de la fertilización química en el mismo. Por otra parte, también se observó un incremento significativo en la cantidad de semillas por

ejote con el tratamiento QU, mayor que Q+ y Q-; del mismo modo, en QC se incrementó la cantidad de semillas por ejote comparado con Q+.

Análisis del rendimiento por tratamiento en el segundo corte.

En los cuatro suelos, todos los tratamientos fueron estadísticamente iguales en las siguientes ocho de las nueve variables de respuesta analizadas: producción de ejotes, peso fresco, peso seco, peso fresco por ejote, peso seco por ejote, semillas por repetición, semillas por ejote, y longitud promedio, donde no se muestran diferencias significativas.

Únicamente la variable ejotes por planta presentó diferencias entre tratamientos en los suelos T, Q y M, es decir, que el suelo de X ya no distingue el efecto de los tratamientos al segundo corte con ninguna variable.

Con lo anterior se puede suponer que el efecto, tanto de la fertilización química como de la bioinoculación o biofertilización pierde eficacia en el tiempo por la senectud de la variedad Strike.

En el suelo T, el tratamiento inoculado con un Consorcio de cepas (TC), presentó diferencias altamente significativas, en el número de ejotes producidos por planta, comparado con los otros tres tratamientos (TU, T+ y T-) que resultaron estadísticamente iguales entre sí

En el suelo Q, donde el testigo negativo (Q-) fue estadísticamente igual al tratamiento Consorcio (QC), siendo estos tratamientos significativamente mayores a Q+ y QU que, además, comparten similitud en sus parámetros.

En el suelo X, todos los tratamientos fueron similares en la producción de ejotes por planta.

En el suelo M, los tratamientos con fertilización química (M+) y con inoculación (MC y MU) fueron similares estadísticamente en la producción de ejotes por planta, pero resultaron superiores estadísticamente al testigo negativo (M-).

Análisis del rendimiento por tratamiento en el tercer corte.

Los ejotes producidos por la variedad Strike en el tercer corte, no presentaron interés comercial.

La producción total de ejotes, ejotes por planta, longitud y peso seco por ejote, fueron variables de respuesta que marcaron estabilidad estadística en los cuatro suelos, lo que permitió suponer que estas variables reflejaron el decremento de la actividad reproductiva en esta etapa del ciclo biológico de la variedad Strike.

En estas consideraciones se mostraron recurrentemente, las evidencias que soportan la conveniencia de los fertilizantes biológicos que, en mi experiencia, fue sencillo producirlos e implementarlos. Es una técnica que vale la pena poner en práctica en estos tiempos, en los que ya se ha roto la idea de que la producción de comida solo está en el campo, lo cual invita a realizarlo en los espacios urbanos que tanto rescate merecen. Por otro lado, la generación de alimento abre una perspectiva muy amplia en las mentes pues se trasciende la idea de que el dinero es imprescindible para comer o vivir. Afortunadamente no es necesario esperar a que cambie la iniciativa de los demás para comenzar uno mismo.

CONCLUSIONES

Fase A.

Suelos

- En la fase A, la textura fue la propiedad de los suelo que más influyó en la capacidad de retención de humedad o capacidad de campo (CC) de los suelos, observándose que en los suelos con un contenido mayor de arcilla (T y Q) la CC fue significativamente mayor respecto a los suelos M y X, de textura areno-francosa y franca limosa, respectivamente, en los que dicha capacidad fue significativamente menor.
- De los cuatro suelos se pudieron aislar cepas de interés, tanto por nodular tempranamente (nódulos a nivel de cuello y/o raíz principal), como por su tamaño y color. No obstante, en el suelo X se detectó la mayor nodulación total, seguido de M, Q y T. Este último presentó la mayor cantidad de nódulos de cuello, seguido de Q, X y M

Fase B.

Desarrollo de la plantas.

Efecto de los tratamientos en la fenología de las plantas de cada suelo.

En el suelo X, la germinación, el surgimiento de hojas verdaderas, la floración y la degeneración de los cotiledones no fueron influenciadas por los tratamientos. El brote de la plántula y la aparición de hojas trifoliadas se adelantan una semana con biofertilizantes (XC y XU), respecto a los testigos (X- y X+).

Comparado con los otros tratamientos, X+ retrasó la formación de los frutos una semana.

En el suelo M, la fructificación se adelantó una semana con los tres tipos de fertilización (MU, MC y M+), pues ocurrió antes que en M-, no fertilizado. Las demás etapas del desarrollo no fueron influenciadas por la inoculación o la fertilización química.

El Consorcio de bacterias (MC) en este suelo estimula la madurez de las plantas en un mayor porcentaje de hojas trifoliadas y de plantas con flores comparada con los otros tratamientos

En el suelo T, no se observó ningún efecto de los tratamientos sobre las etapas fenológicas de las plantas.

TU estimuló el surgimiento de hojas trifoliadas en más plantas que en los otros tratamientos.

Los tres tipos de fertilización (TU, T+ y TC) son superiores al testigo negativo en la cantidad de plantas en fase de senescencia de cotiledones.

En el suelo Q, únicamente el surgimiento de las hojas trifoliadas se adelantó una semana, por efecto de los tratamientos inoculados QU y QC, comparados con Q- y Q+.

Efecto de los tratamientos en el rendimiento de la cosecha, en cada suelo.

Efecto en la cantidad y calidad de ejotes.

Suelo X, primer corte:

Los tratamientos inoculados XU y XC, superaron al testigo positivo en ocho variables de respuesta relativas al rendimiento: número total de ejotes, peso fresco total, peso seco total, longitud de ejote, peso fresco por ejote, peso seco por ejote, número de semillas y semillas por ejote). El número de ejotes por planta no fue influenciado por los tratamientos.

Suelo X, segundo corte:

Los tratamientos no produjeron diferencias significativas en las nueve variables de respuesta analizadas: producción de ejotes, peso fresco, peso seco, peso fresco por ejote, peso seco por ejote, semillas por repetición, semillas por ejote, y longitud promedio ejotes por planta.

Suelo X, tercer corte:

Se obtuvieron ejotes que no tienen interés comercial.

Suelo M, primer corte:

El tratamiento MU incrementó significativamente las nueve variables de respuesta evaluadas, es decir, que la calidad y la cantidad de los ejotes fue mejorada con la inoculación unicepa.

Suelo M, segundo corte:

Los tratamientos no produjeron un efecto que se tradujera en diferencias significativas en ocho de las nueve variables de respuesta analizadas: producción de ejotes, peso fresco, peso seco, peso fresco por ejote, peso seco por ejote, semillas por repetición, semillas por ejote, y longitud promedio. No obstante, los tres tratamientos fertilizados (M+, MC y MU) fueron similares y superiores estadísticamente al testigo negativo (M-) en la producción de ejotes por planta.

Suelo M, tercer corte:

Se obtuvieron ejotes que no tienen interés comercial.

Suelo T, primer corte:

El inoculante a base de un Consorcio bacteriano (TC), produjo un efecto significativo, detectado en la producción de más ejotes con respecto a los demás tratamientos. La producción de ejotes por plantas también resultó mayor en el tratamiento TC, del mismo modo, el efecto del Consorcio se apreció en la producción de semillas. Este tratamiento resultó similar a T+ en los pesos fresco y seco de la cosecha. El peso fresco por ejote, la cantidad de semillas por ejote y la longitud promedio de los ejotes fueron menores en TU (con una sola cepa de bacterias) que en T+, T- y TC. Sin embargo, el peso seco por ejote fue significativamente mayor en T+ que en los demás tratamientos.

Suelo T, segundo corte:

Los tratamientos no tuvieron diferencias significativas en ocho de las nueve variables de respuesta analizadas:: producción de ejotes, peso fresco, peso fresco por ejote, peso seco por ejote, semillas por repetición, semillas por ejote, y longitud promedio.

El tratamiento inoculado con un Consorcio de cepas (TC), presentó diferencias altamente significativas, en el número de ejotes producidos por planta, comparado con los otros tres tratamientos (TU, T+ y T-) que resultaron estadísticamente iguales entre sí.

Suelo T, tercer corte:

Se obtuvieron ejotes que no tienen interés comercial.

Suelo Q, primer corte:

Los tratamientos QU, Q+ y Q- fueron iguales y significativamente mayores a QC, en la cantidad total de ejotes producidos y en las variables representativas de la calidad de los ejotes: el peso seco del corte, la longitud representativa o promedio de la vaina, el peso seco individual y el número de semillas.

No hubo diferencias significativas en la producción de ejotes por planta entre tratamientos.

Q- y Q+ rindieron lo mismo en las nueve variables de respuesta y fueron superiores a QC y QU en la cantidad de semillas por ejote, peso fresco total y peso fresco por ejote. De estas tres, QU sólo se distinguió de QC en el peso fresco total que fue menor.

Suelo Q, segundo corte:

Los tratamientos no generaron diferencias significativas en ocho de las nueve variables de respuesta analizadas: producción de ejotes, peso fresco, peso seco, peso fresco por ejote, peso seco por ejote, semillas por repetición, semillas por ejote, y longitud promedio. Sin embargo, si se detectaron diferencias significativas en la variable ejotes por planta donde el testigo negativo (Q-) fue estadísticamente igual al tratamiento Consorcio (QC), siendo estos tratamientos significativamente mayores a Q+ y QU que, además, comparten similitud en sus parámetros.

Suelo Q, tercer corte:

Se obtuvieron ejotes que no tienen interés comercial.

• Biofertilización versus Fertilización química.

La respuesta a la inoculación fue diferente entre los cuatro suelos estudiados, por eso no hubo una respuesta generalizable y cada suelo brindó una lección distinta respecto al efecto de la biofertilización. En los suelos volcánicos, X y M, se demostró que la inoculación incrementa la producción de ejotes y su calidad, mientras que la adición de agroquímicos (AQ) las demeritan; por lo tanto, se establece que es posible suplir los requerimientos nutrimentales del cultivo de frijol ejotero, particularmente de nitrógeno, con la inoculación de cepas efectivas de rizobios y, con ello, evitar los altos costos de los fertilizantes químicos y los problemas ambientales que genera su uso excesivo.

En el suelo Q, la riqueza de nutrimentos enmascaró el efecto, tanto de la fertilización agroquímica como de la biológica (inoculación) de tal manera que el tratamiento control no fertilizado químicamente ni inoculado, produjo estadísticamente los mismos resultados que los fertilizados por ambos medios. La inoculación aun con una cepa competente (QU), logró rendimientos similares a Q+ y Q- en la cantidad de ejotes producidos y ejotes por planta, el peso seco del corte, la longitud representativa o promedio de la vaina, el peso seco individual y el número de semillas, mientras que los tratamientos a base de un Consorcio de cepas fue superado.

No obstante, en el suelo T el efecto fue diferente; la inoculación con un Consorcio de cepas (TC) superó e igualó la producción fertilizada químicamente. TC brindó significativamente más ejotes totales que los demás tratamientos. La producción de ejotes por planta también fue mayor en el tratamiento con el Consorcio (TC); ese mismo efecto se detectó en la producción

de semillas. Este tratamiento fue similar a T+ en los pesos fresco y seco de la cosecha total de ejotes. Por otra parte, el peso fresco por ejote, la cantidad de semillas por ejote y la longitud promedio de los mismos, fue menor en TU que en T+, T- y TC. El peso seco por ejote fue significativamente mayor en T+ que en los demás tratamientos pero cercano estadísticamente a TC.

Nodulación

Suelo Q,

Se confirma que la adición de agroquímicos inhibe la nodulación y por lo tanto la fijación biológica de nitrógeno, esta es la causa de que el rendimiento de Q+ haya sido similar al testigo negativo, en el que se encontró una nodulación importante que coadyuvó a que las plantas rindieran de manera similar a las de los tratamientos fertilizados.

Suelo T,

T+ solo favoreció el desarrollo de cepas de poco interés, ya que se ubicaron en las raíces terciarias; mientras que en T-, además de los nódulos en estas, presentó nódulos en raíz primaria; en TC y TU se formaron cepas en cuello, pero el Consorcio (TC) propició la formación un gran número de nódulos, de tal manera que se reflejó en la distinción estadística de este tratamiento sobre todos los de su suelo y sobre los demás sustratos.

Suelo X,

Se observó que la cantidad de nódulos se incrementó notablemente en los tratamientos biofertilizados XU y XC, frente a los testigos, en los que las cepas que nodularon fueron de poca relevancia para los intereses de esta investigación

Esto nos confirma, por un lado, que la administración de AQ a los suelos, merma la biodiversidad de rizobios nativos del suelo y, por otro, que el hecho de que el testigo negativo rindiera estadísticamente más que el positivo, se debió al potencial propio del suelo para crear relaciones simbióticas, las cuales se inhiben en presencia de niveles altos de nutrimentos inorgánicos y culminan por reducir la capacidad productiva del suelo para este tipo de leguminosas.

Es recomendable mantener las cualidades prístinas del mismo y mejor aún, realizar un manejo adecuado del gran recurso que significan sus cepas,

Suelo M,

Nuevamente encontramos que la adición de AQ reduce el número de nódulos. Este suelo proporcionó cepas muy competentes pues, aun con la presencia de AQ, las cepas nativas fueron capaces de colonizar la raíz principal a nivel del cuello de las plantas.

Un segundo aislamiento e inoculación de bacterias fijadoras de nitrógeno nativas de M, pueden hacer rendir el cultivo por encima de lo obtenido en este experimento.

Después de haber indagado acerca del método alimentario del sistema de organización capitalista, el presente trabajo queda corto comparado con la gran cantidad de temáticas relacionadas con él: enfermedades, problemas ambientales, crisis, fraudes, despojos, leyes, historia, alternativas, propuestas, proyectos, resultados, éxitos, nuevas perspectivas, etc., etc. En realidad se está abordando una pequeña parte de un gran tema desde la perspectiva que busca mayor impacto en la sociedad globalizada. En vista de que en ella, existe un anhelo profundo de cambio, he aquí una manera de vislumbrar una esperanza para asegurar la provisión de alimento, lo cual es algo sustancial para cualquier modelo de organización social y a partir de ello transitar a un estado de soberanía alimentaria, donde los individuos son libres y suficientes para tener su alimento.

Las enseñanzas que brinda la biofertilización van más allá de que se incrementa la producción o de que se tiene más rendimiento con ella que con AQ, pues se alcanzó a notar que la naturaleza tiene una habilidad para sustentar terriblemente mayor que la que tenemos los humanos, limitados por las propias ambiciones o fallas con las cuenta todo ser vivo. Además, la inoculación alcanza a enseñar que el respeto y uso consecuente de la naturaleza aseguran la estabilidad de los sistemas alimentarios. El suelo de Xochimilco ejemplifica esto, pues fue claro que la introducción de compuestos AQ, inhibió la manifestación de las bondades de la fijación de nitrógeno, haciendo mucho más productiva la participación de las cepas nativas. Otro ejemplo de lo mismo, pero desde una perspectiva distinta fue lo aprendido del suelo Q, el cual enseñó que su alteración química llega a impedir los beneficios simbióticos naturales y además los que los químicos pueden brindar.

Bibliografía

Aguado, G. A., Rascón, Q. & Luna, A., 2012. *Impacto económico y ambiental del empleo de fertilizantes químicos.*. Celaya(INIFAP/SAGARPA): s.n.

Allen, O. N. & Allen, E. K., 1981. *The Leguminosae, a source book of characteristics, uses, and nodulation.* Madison, Wisc: University of Wisconsin Press,.

Alvarado Martínez, Á. & Sánchez Gutiérrez, M. d. L., 2006. Programas de desarrollo regional Sustentable, el caso de San Andrés Totoltepec (1999-2001). *Mundo Siglo XXI*, pp. 88-93.

Amarger, N., Macheret, V. & Lague, G., 1997. Rhizobium gallicum sp. nov. and Rhizobium giardinii sp. nov., from Phaseolus vulgaris Nodules. *Internationa Journal of Sistematic and Evolutionary Microbiology*, 47(4), pp. 996-1006.

Baca, B. E., Soto Urzúa, L. & Pardo Ruiz, M. . P. A., 2000. Fijación Biológica de Nitrógeno. © Oscar Guzmán, Rincón sereno (después de la evacuación de Gálvez) después de la evacuación de Gálvez.

Buttery, B. R., Park, S. J. & Findlay, W. I., 1987. GROWTH AND YIELD OF WHITE BEAN (Phaseolus vulgaris L.) IN RESPONSE TO NITROGEN. PHOSPHORUS AND POTASSIUM FERTILIZER AND TO INOCULATION WITH Rhizobium. *Plant Sci.*, pp. 67:425-432..

Centro de investigación regional del centro experimental "ZACATEPEC", 2002. Principales enfermedades del frijol ejotero (Phaseolus vulgaris L.) en las principales regiones productoras del estado de Morelos. *Folleto técnico No. 17.*

Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria (COVECA), 2011. Monografía del frijol.

Díaz, E., Salvador, J. A., Rodríguez, M. T. & Gaytán, A., 2010. Producción de frijol ejotero en función del tipo de espaldera. *Revista Chapingo. Serie horticultura. Rev. Chapingo Ser. Hortic vol.16 no.3.*

Elkoca, E. T. M. a. M. F. D., 2010. EFFECTS OF SINGLE, DUAL AND TRIPLE INOCULATIONS WITH BACILLUS SUBTILIS, BACILLUS MEGATERIUM AND RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM BV. PHASEOLI ON NODULATION, NUTRIENT UPTAKE, YIELD AND YIELD PARAMETERS OF COMMON BEAN (PHASEOLUS VULGARIS L. CV. 'ELKOCA-05'). *Journal of Plant Nutrition*, pp. 33: 2104-2119.

Esquivel, G. y otros, 2006. PRODUCTIVIDAD Y ADAPTACIÓN DEL FRIJOL EJOTERO EN EL VALLE DE MÉXICO. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, Volumen 12(1):, pp. 119-126.

FAO, 2009. La agricultura mundial en la perspectica del año 2050.. Roma: s.n.

Fuzinatto Dall'Agnol, R. y otros, 2013. Rhizobium freirei sp. nov., a symbiont of Phaseolus vulgaris that is very effective at fixing nitrogen. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.

Gharib, A. A., Shahen, M. M. & Ragab, A. A., 2009. INFLUENCE OF RHIZOBIUM INOCULATION COMBINED WITH AZOTOBACTER, CHROCOCCUM AND BACILLUS MEGATERIUM VAR PHOSPHATICUM ON GROWTH, NODULATION, YIELD AND QUALITY OF TWO SNAP BEEN (Phasealus vulgaris L.) CULTIVARS.. s.l., s.n., pp. 650-662.

González Novo, M. y. M. C., 2000. *Agricultura urbana en la ciudad de la Habana: una respuesta popular a la crisis..* s.l.:Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo IDRC.

Graham, P. & Ranalli, P., 1997. Common bean (Phaseolus vulgaris L.). *Field Crops Research,* Volumen 53, pp. 131-146.

Grangea, L., Hungriab, M., Graham, P. H. & Martínez-Romero, E., 2007. New insights into the origins and evolution of rhizobia that nodulate common bean (Phaseolus vulgaris) in Brazil. *Elsevier*.

Han, T. X. y otros, 2008. Rhizobium multihospitium sp. nov., isolated from multiple legume species native of Xinjiang, China. *International Journal of Sistematic and Evolutionary Microbiology*, 58(7), pp. 1693-1699.

Huda, I. A. y otros, 2010. Response of Green Bean to Fertilization with Potassium and Magnesium. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*.

Hungria, M., Campo, R. & Mendes, I., 2003. Benefits of inoculation of the common bean (Phaseolus vulgaris) crop with efficient and competitive Rhizobium tropici strains.. *Biol Fertility Soils*, p. 39:88–93..

INE, 2006. "DIAGNÓSTICO DEL IMPACTO Y RIESGO DERIVADO DE LA VARIABILIDAD CLIMÁTICA Y EL CAMBIO CLIMÁTICO GLOBAL EN LA DISPONIBILIDAD Y MANEJO DEL AGUA Y EN LA AGRICULTURA". En: *Análisis de la Vulnerabilidad y Capacidad de Adaptaciónal Cambio Climático en los Sectores más Relevantes del Estado de Morelos*. Morelos: INE, p. 9.

Jordan, D. C., 1984. Family III. Rhizobiaceae. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology,* Volumen vol. I, p. pp. 234–242.

López, A. y otros, 2012. Rhizobium grahamii sp. nov., from nodules of Dalea leporina, Leucaena leucocephala and Clitoria ternatea, and Rhizobium mesoamericanum sp. nov., from nodules of Phaseolus vulgaris, siratro, cowpea and Mimosa pudica.. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, Volumen 62, pp. 2264-2271.

Mahmoud, A. R., EL-Desuki, M., Mona & Abdel-Mou, M., 2010. RESPONSE OF SNAP BEAN PLANTS TO BIO-FERTILIZER AND NITROGEN LEVEL APPLICATION. *International Journal of Academic Research*, pp. 179-183.

Martínez, E. y otros, 1991. Rhizobium tropici, a Novel Species Nodulating Phaseolus vulgaris L. Beans and Leucaena sp. Trees. *International Journal of Sistematic and Evolutionary Microbiology*, 41(3), pp. 417-426.

Masson-Boivin, C., Girau, E. & Per, X., 2009. Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes: how many rhizobium recipes?. *Elsevier*.

Morad, M. y otros, 2013. Effects of seed inoculation by Rhizobium strains on yield and yield components in common bean cultivars (Phaseolus vulgaris L.). *International Journal of Biosciences*, pp. 2222-5234 (Online).

Morán Alonso N y Aja Hernández, sin fecha. *Historia de los huertos urbanos. De los huertos para pobres a los programas de agricultura urbana ecológica,* Madrid: Universidad Politécnica de Madrid (UPM).

Moxley, J. C., 1982. The effects of indigenous Rhizobium phaseoli on the responses of white bena (Phaseolus vulgaris) to inoculation in Ontario. *M.Sc. Thesis. University of Guelph, Guelph, Ont.*.

Ofir, M., Grossa, Y., Bangerthb, F. & Kigela, J., 1993. High temperature effects on pod and seed production as related to hormone levels and abscission of reproductive structures in common e an (P h a s e o lus v u lg a r is L.) .. *Scientia Horticulturae*, pp. 55(3-4): 201-211..

ONU, 1996. Programa Hábitat. Estambul, s.n.

ONU, 2012. Realizing the future we want for all. New York: s.n.

Ormeño, E. y otros, 2012. Genomic basis of broad host range and environmental adaptability of Rhizobium tropici CIAT 899 and Rhizobium sp. PRF 81 which are used in inoculants for common bean (Phaseolus vulgaris L.). *BMC Genomics*.

Ramirez, M. y otros, 2008. Revision of the taxonomic status of the species Rhizobium leguminosarum (Frank 1879) Frank 1889AL, Rhizobium phaseoli Dangeard 1926AL and Rhizobium trifolii Dangeard 1926AL. R. trifolii is a later synonym of R.leguminosarum. Reclassification of the strain. *Int. J. Syst. Evol.Microbiol.*, Volumen 58, pp. 2484-2490..

Raymond, J., Siefert, J. L. & Staples, C. R. a. B. R. E., 2004. The Natural History of Nitrogen Fixation. *Molecular Biology and Evolution vol. 21 no. 3.*

Renan, A. R. y otros, 2013. Novel Rhizobium lineages isolated from root nodules of the common bean (Phaseolus vulgaris L.) in Andean and Mesoamerican areas. *Research in microbiology,* pp. 740-748.

Ribeiro, R. y otros, 2012. Reclassification of Rhizobium tropici type A strains as Rhizobium leucaenae sp. nov.. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*, Volumen 62, pp. 1179-1184..

SAGARPA-SE-BANCOMEXT, 2006. PLIEGO DE CONDICIONES PARA EL USO DE LA MARCA OFICIAL MEXICO CALIDAD SUPREMA EN EJOTE. p. 10.

Salinas, N., Escalante Estrada, J. A., Rodríguez González, M. T. & Sosa Montes, E., 2012. RENDIMIENTO Y CALIDAD NUTRIMENTAL DE FRIJOL EJOTERO EN DOS AMBIENTES. *Rev. Fitotec. Mex. Vol. 35 (4):*, pp. 317-323,.

Salinas, N., Escalante, J. A., Rodríguez, M. T. & Sosa, E., 2011. YIELD AND NUTRITIONAL QUALITY OF SNAP BEAN IN TERMS OF BIOFERTILIZATION [RENDIMIENTO Y CALIDAD NUTRICIONAL DEL FRIJOL EJOTERO FUNCIÓN DE LA BIOFERTILIZACIÓN]. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, pp. 347-355.

Sanoria, C. & Yadav, J., 1993. Testing of strains of Rhizobium phaseoli on French bean under greenhouse and field conditions.. *Indian Journal Of Agronomy.*, pp. 38(1): 28-32.

Secretaria de Economía, 2012. Análisis de la cadena de valor del frijol. s.l.:s.n.

Segovia, L., Young, J. P. W. & Martínez, E., 1993. Reclassification of American Rhizobium leguminosarum Biovar Phaseoli Type I Strains as Rhizobium etli sp. nov.. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 43(2), pp. 374-377.

Sengupta, S. & Sengupta, L., 1992. Phaseolus vulgaris L. var. HUR 15--a potential indigenous source for commercial PHA preparation.. *Indian Journal of Experimental Biology*.

Singer, S. y otros, 2000. SYNERGISTIC EFFECT OF BIO-AND CHEMICAL FERTILIZERS TO IMPROVE QUALITY AND YIELD OF SNAP BEAN GROWN IN SANDY SOIL. s.l., s.n., p. 213:220.

Sohlenkamp, C., Raetz, C. R. & Ingram, B. O., 2013. The calcium-stimulated lipid A 3-O deacylase from Rhizobium etli is not essential for plant nodulation. *ELSEVIER*.

Spudić, S., 2007. The new victory garden. Wisley.. *Royal Horticultural Society Dissertation. Diploma in Practical Horticulture.*.

Tantawy, A., Abdel-Mawgoud, A., Hoda, A. H. & Magda, . M. H., 2009. Growth, Productivity and Pod Quality Responses of Green Bean Plants Phaseolus vulgaris to Foliar Application of Nutrients and Pollen Extracts. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*.

Uson, s.f. *Geología regional del Estado de Morelos*. [En línea] Available at: http://tesis.uson.mx/digital/tesis/docs/22376/Capitulo4.pdf

Valverde, A. y otros, 2006. Rhizobium lusitanum sp. nov. a bacterium that nodulates Phaseolus vulgaris. *International Journal of Systematic and Evolutionary Biology*, 56(11), pp. 2631-2637.

Van Molle, L. Segers, Y., 2008. Micro-farming on other men's land. Allotments from the 19th to the 21st century: Belgian history in a global perspective..

Wang, F. y otros, 2011. Rhizobium vallis sp. nov., isolated from nodules of three leguminous species. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*, Volumen 61, pp. 2582-2588.

ZAAR, M. H. .., 2011. Agricultura urbana: algunas reflexiones sobre su origen y expansión.. *Revista Bibliográfica de Geografía y Ciencias Sociales.* [En línea]., Volumen Vol. XVI, (nº 944)..