



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

PRODUCTIVIDAD DE PLANTAS DE FRIJOL CULTIVADAS EN UN
SUSTRATO CON HONGOS MICORRIZÓGENOS ARBUSCULARES Y
SULFATO DE ZINC EN CONDICIONES DE INVERNADERO

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIÓLOGA
PRESENTA:
SANTIAGO ALCÁNTARA BRENDA LETICIA

Unidad de Investigación en Ecología Vegetal

DIRECTOR DE TESIS: DOCTOR ARCADIO MONROY ATA

Proyecto financiado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico
(DGAPA) de la UNAM mediante el proyecto PAPIME con clave PE206414.



Ciudad de México, abril de 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

DEDICATORIA

Con infinito amor dedico esta tesis a mi mamá por ser la mejor madre que pude tener. Gracias mamá por todo tu apoyo y por acompañarme incondicionalmente en las buenas y en las malas. Tu perseverancia, esfuerzo y enseñanzas han guiado mi camino con el mejor ejemplo y ha inspirado mi vida para ser una mejor persona.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza que me han brindado la oportunidad de prepararme profesionalmente.

Al Dr. Arcadio Monroy Ata por su apoyo, paciencia y consejos para la elaboración de mi tesis y por ser un gran ejemplo para mi vida profesional.

A mis sinodales, Esther García, Arcadio Monroy, Mario Orozco, Marco Hernández y Claudia de la Rosa, quienes con sus observaciones y comentarios, favorecieron a mejorar este trabajo.

A Maribel Flores por sus enseñanzas sobre educación ambiental y por su apoyo durante el desarrollo práctico y teórico de esta tesis.

A Fernando Nájera por su apoyo y compañía durante la toma de datos a pesar del periodo vacacional y la temperatura dentro del invernadero.

ÍNDICE

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	4
2.2 Morfología	4
2.3 Clima y suelos	6
2.4 Importancia	6
2.5 Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y Micorriza	7
2.6 <i>Terra Preta do Indio</i>	8
2.7 Zinc	10
3. PROBLEMÁTICA	11
4. HIPÓTESIS	13
5. OBJETIVOS	13
6. MATERIAL Y MÉTODOS	14
6.1 Material biológico	14
6.2 Sustrato	14
6.3 Preparación de lotes	15
6.4 Capacidad de campo	16
6.5 Conteo y extracción de esporas de HMA del suelo utilizado como inóculo	17
6.6 Medición de las variables	17
6.6.1 Cobertura	18
6.6.2 Altura	18
6.6.3 Clorofila	18
6.6.4 Evaporación	18
6.6.5 Evapotranspiración real acumulada (ETR)	19
6.6.6 Transpiración	19

6.6.7	Potencial hídrico caulinar (PHC)	19
6.6.8	Porcentaje de supervivencia	20
6.6.9	Tasa de crecimiento relativa	20
6.6.10	Porcentaje de colonización micorrízica	21
6.6.11	Análisis estadístico	22
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
7.1	Parámetros físico-químicos del sustrato utilizado	24
7.2	Capacidad de campo	26
7.3	Temperatura y humedad relativa	26
7.4	Caracterización del suelo utilizado como inóculo de HMA	28
7.5	Cobertura	29
7.6	Altura	30
7.7	Tasa de crecimiento relativo (TCR)	31
7.8	Concentración de clorofila	32
7.9	Evapotranspiración real acumulada (ETR), transpiración y potencial hídrico foliar.	33
7.10	Porcentaje de colonización micorrízica por tratamiento	35
7.11	Supervivencia	37
7.12	Número de hojas por tratamiento	38
7.13	Fases fenológicas	39
7.14	Número de semillas por tratamiento	40
7.15	Longitud de las semillas	41
7.16	Peso de las semillas	42
7.17	Síntesis de resultados	44
8.	CONCLUSIONES	45
9.	REFERENCIAS	46
10.	ANEXOS	53

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de frijol	5
Figura 2. Flor de frijol	5
Figura 3. Macetas donde se sembraron las plantas de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	15
Figura 4. Diagrama de flujo de la metodología	23
Figura 5. Temperatura del invernadero durante el periodo de cultivo	26
Figura 6. Humedad del invernadero durante el periodo de cultivo	27
Figura 7. Cobertura de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	29
Figura 8. Altura de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	30
Figura 9. Tasa de crecimiento relativo de <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	31
Figura 10. Concentración de clorofila.	32
Figura 11. Evapotranspiración real acumulada (ETR)	33
Figura 12. Transpiración	33
Figura 13. Potencial hídrico foliar (PHF)	34
Figura 14. Porcentaje de colonización micorrízica de los tratamientos a los que se les agregó inóculo de HMA.	35
Figura 15. Porcentaje de colonización micorrízica de los tratamientos a los que no se les agregó inóculo de HMA.	36
Figura 16. Micelio intra-radical, Vesícula y Micelio Extra radical en la raíz de <i>Phaseolus vulgaris</i> L. a 40X.	36
Figura 17. Porcentaje de supervivencia.	37
Figura 18. Número de hojas.	38
Figura 19. Fases fenológicas.	39
Figura 20. Número de semillas por tratamiento.	40
Figura 21. Longitud de las semillas.	41
Figura 22. Peso de semillas.	42

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Concentración de microelementos en una fracción de arcilla de los suelos antropogénicos en contraste con suelos no antropogénicos de Amazonia.	10
Cuadro 2. Número de repeticiones de los tratamientos a aplicar al cultivo de <i>Phaseolus vulgaris</i> en condiciones de invernadero.	16
Cuadro 3. Parámetros físicos y químicos del sustrato donde se cultivó.	25
Cuadro 4. Diversidad y densidad de esporas del inóculo de HMA.	28
Cuadro 5. Síntesis de resultados estadísticamente significativos.	44

RESUMEN

En esta investigación se evaluó el efecto de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y diferentes concentraciones de zinc sobre el crecimiento y productividad de plantas de *Phaseolus vulgaris* L. en condiciones de invernadero. Se trabajó con seis tratamientos los cuales constaron de 15 repeticiones (macetas con plantas individuales), con dos factores: concentraciones de Zn: 0 ppm, 50 ppm y 100 ppm e inoculación con HMA. El objetivo fue determinar la influencia de la relación inóculo-zinc sobre el crecimiento y esfuerzo reproductivo de las plantas cultivadas bajo estos tratamientos. Durante el cultivo se evaluó el desarrollo vegetal en altura, cobertura, tasa de crecimiento relativa (TCR), transpiración, evaporación y evapotranspiración real acumulada (ETR); después de la siembra (90 días) se analizó el porcentaje de supervivencia, porcentaje de colonización micorrízica, número de semillas y la longitud de las mismas.

Los resultados del análisis estadístico mostraron que no hubo diferencias significativas para las variables: altura, supervivencia, potencial hídrico foliar y número de hojas, no obstante los tratamientos con micorriza y zinc 50 ppm y 100 ppm obtuvieron el mayor valor promedio en altura en comparación con el resto. Los resultados de cobertura, TCR, concentración de clorofila, ETR y transpiración sí presentaron diferencias significativas entre tratamientos. Los tratamientos con mayor cobertura fueron a los que se les agregó inóculo de HMA, con diferencias significativas entre tratamientos con y sin HMA. Se registró una mayor concentración de clorofila en el tratamiento con inóculo y Zn (100 ppm), el análisis estadístico mostró diferencias significativas, entre este tratamiento y al que solo se agregó inóculo. La mayor TCR se registró en los tratamientos con zinc y sin inóculo de HMA. El número total de semillas obtenidas de los tratamientos a los que se les agregó inóculo de HMA y zinc fue mayor, lo que sugiere una influencia positiva entre ambos factores debido a la absorción de micronutrientes favorecida por las hifas extrarradicales de los HMA, lo que facilitó la absorción de zinc. Por ello es recomendable la adición de sulfato de zinc a plantas inoculadas con HMA pues podría aumentar la producción de semillas en cultivos de frijol.

1. INTRODUCCIÓN

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es un miembro de la familia Fabaceae, tribu Phaseoleae, subfamilia Papilionoideae; diferentes variedades se cultivan en todos los continentes excepto la Antártida (Gepts, 1998). El cultivo necesita entre 300 a 400 mm de lluvia. La falta de agua durante las etapas de floración, formación y llenado de vainas afecta seriamente el rendimiento (Killmann *et al.*, 1991).

El frijol común es la leguminosa de mayor consumo humano en varios países de América Latina y África. Semillas de frijol proporcionan importantes minerales, vitaminas, fibra dietética, pero no ácidos grasos insaturados (De Lafuente *et al.*, 2011). Entre más de 30 especies del género *Phaseolus* (según diversos autores es difícil estimar cuántas especies de *Phaseolus* existen, pero el número puede alcanzar incluso 50 o 60 especies), el frijol común es el cultivo más ampliamente distribuido, ya que ocupa más de 90% de la superficie destinada a los granos en general (Broughton *et al.*, 2003).

Después de haber sido adaptados a diversas condiciones ambientales, el frijol común no está exento de limitaciones bióticas y abióticas. Sufre de seis de las principales enfermedades generalizadas y algunas condiciones abióticas hostiles tales como la toxicidad del suelo, la sequía o las deficiencias nutricionales (Popelka *et al.*, 2004; Beaver y Osorno, 2009). Asimismo en los suelos agotados de nutrientes y minerales, las plantas utilizan varios tipos de relaciones microbianas para mejorar la adquisición de nutrientes, en particular la toma de fósforo (P) y nitrógeno (N). Entre estas relaciones microbianas se encuentra aquella que se establece con hongos del *phylum* Glomeromycota pertenecientes al orden Glomerales con aproximadamente 250 especies descritas (Alarcón, 2008), la relación es llamada simbiosis micorrízica arbuscular (Smith y Read, 2008). Los miembros de este *phylum* son simbiosis mutualistas que forman asociaciones de micorrizas arbusculares (AM) intracelularmente dentro de las raíces de la gran mayoría de plantas herbáceas y árboles tropicales. Las micorrizas son una asociación simbiótica mutualista entre raíces de plantas superiores y hongos del suelo. Estos hongos dependen de la planta para el suministro de carbono, energía y un nicho

ecológico a la vez que entregan nutrientes minerales (especialmente los pocos móviles); además les confieren otros beneficios como: estimulación de sustancias reguladoras de crecimiento, incremento de la tasa fotosintética, ajustes osmóticos cuando hay sequía, incremento de la resistencia plagas, tolerancia a estrés ambiental (Bethlenfalvay y Linderman, 1992).

Desde esta óptica, la micorriza no sólo contribuye a la nutrición de la planta, puesto que explora un volumen de suelo mayor que el de raíz sola, sino también a la nutrición del suelo (Bethlenfalvay y Linderman, 1992). Los iones más móviles de la solución de suelo, como NO_3 , son más fácilmente accesibles para las raíces absorbentes que los poco móviles como los de P, Zn, Cu y Mo, y en menor grado K y S (Sieverding *et al.*, 1991). Aproximadamente 2800 proteínas dependen del Zn para que puedan sintetizarse y actuar. Participa también en los procesos de maduración y producción de semillas por ello la deficiencia de zinc tiene mayor efecto en el rendimiento del grano que en el desarrollo vegetativo (Cakmak, 2005).

Por otra parte, en algunos puntos específicos de la cuenca amazónica la formación de suelos de origen antropogénico llamados *Terra Preta do Indio*, por su nombre en portugués, presentan características en su composición fisicoquímica muy diferentes a los suelos adyacentes y garantizan una productividad elevada en los cultivos tradicionales amazónicos (Sombroek *et al.*, 2002; Sombroek *et al.*, 2003; Arroyo-Kalim, 2012). En los análisis de suelo los horizontes A de los antropoles de la Tierra Negra contienen más de Mn y Zn que cualquiera de los oxisoles no antropogénicos. Altas concentraciones de Mn y de Zn en los Antropoles de Terra Preta del bajo Amazonas también han sido reportadas por Kern y Kampf (1989) y Kern y Costa (1997).

Por lo antes descrito, en este estudio se propone el cultivo de *Phaseolus vulgaris* con hongos micorrizógenos arbusculares, para inducir la micorrización y concentraciones de zinc análogas a las presentes en *Terra Preta* del Oeste de la Amazonia, en condiciones de invernadero buscando una alta productividad de las semillas.

2. Marco Teórico

2.1 *Phaseolus vulgaris*

El frijol pertenece a la familia de las Fabáceas, subfamilia Papilionoideae, tribu Phaseolae y especie *Phaseolus vulgaris* L. (Lara, 2015); el frijol es una planta anual, herbácea intensamente cultivada desde la zona tropical hasta las templadas (Killmann *et al.*, 1991). La distribución mundial de leguminosas incluye un gran número de géneros desde el punto de vista botánico, donde el más importante es el género *Phaseolus* y dentro de este la especie *Phaseolus vulgaris* (frijol) (Rodríguez, 2015).

El género *Phaseolus* al que pertenece el frijol es nativa de la región Neotropical de América, con dos orígenes geográficos (Mesoamérica y los Andes) (Broughton *et al.*, 2003; Lara, 2015). Se le conoce con diferentes nombres: poroto, haricot, caraota, judía, aluvia, habichuela y otros (Killmann *et al.*, 1991). Estudios filogenéticos que incluían tanto especies silvestres como domesticadas de *Phaseolus*, confirmaron utilizando datos morfológicos, bioquímicos y moleculares que el género es monofilético (Debouck, 1999).

2.2 Morfología

Son hierbas o plantas leñosas con flores cigomorfas o actinomorfas, normalmente hermafroditas (Figura 2). Hojas generalmente alternas compuestas, estipuladas (Figura 1) típicamente es una legumbre con una o varias vainas (Figura 1), dehiscente o indehiscente (Sánchez, 1980).

Hábito y forma de vida: Hierba de vida corta, enredada en forma de espiral en algún soporte, o erecta en forma de arbusto, con algunos pelillos.

Tamaño: De hasta 40 cm de alto los tipos arbustivos y de hasta 3 m de largo las enredaderas.

Hojas: En la base de las hojas sobre el tallo se presenta un par de hojillas (llamadas estípulas), estriadas; las hojas son alternas, pecioladas, compuestas con 3 hojitas (llamadas foliolos) ovadas a rómbicas, con el ápice agudo; en la

base de cada foliolo se encuentra un par de diminutas estípulas (llamadas estipelas).

Inflorescencia: Pocas flores dispuestas sobre pedúnculos más cortos que las hojas, ubicados en las axilas de las hojas; las flores acompañadas por brácteas estriadas.

Flores: El cáliz es un tubo campanulado que hacia el ápice se divide en 5 lóbulos, 2 de los cuales se encuentran parcialmente unidos; la corola rosa-púrpura a casi blanca, de 5 pétalos desiguales (Figura 2), el más externo es el más ancho y vistoso, llamado estandarte, en seguida se ubica un par de pétalos laterales similares entre sí, llamados alas y por último los dos más internos, también similares entre sí y generalmente fusionados forman la quilla, que presenta el ápice largo y torcido en espiral y que envuelve a los estambres y al ovario; estambres 10, los filamentos de 9 de ellos están unidos y 1 libre; ovario angosto, con 1 estilo largo y delgado, con pelos hacia el ápice, terminado en un estigma pequeño (Vibrans, 2009).



Figura 1. Planta de frijol. Hojas (A), vaina (B).

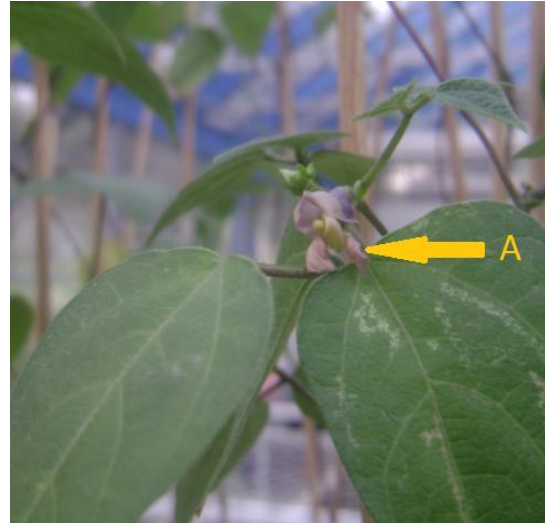


Figura 2. (A) Flor de frijol.

2.3 Clima y suelos

El frijol se adapta bien desde 200 hasta 1,500 msnm. El cultivo necesita entre 300 a 400 mm de lluvia. La falta de agua durante las etapas de floración, formación y llenado de vainas afecta seriamente el rendimiento (PITTA, 2001).

Los suelos más adecuados para el cultivo de frijol son profundos, preferiblemente de origen volcánico con no menos de 1.5% de materia orgánica en la capa arable y de textura liviana con no más de 40% de arcilla como los de textura, franco arenosos y franco arcillosos, ya que el drenaje y la aereación adecuadas son fundamentales para el rendimiento óptimo de este cultivo por la asociación con bacterias nitrificantes (PITTA, 2001; IICA, 2009).

Se debe evitar sembrar en suelos ácidos, con contenidos altos en manganeso y aluminio. El pH óptimo para frijol está comprendido entre 6.5 y 7.5 aunque es tolerante a pH entre 4.5 y 8.2 (PITTA, 2001).

2.4 Importancia

El frijol común es la leguminosa de mayor consumo humano en varios países de América Latina y África. Los frijoles son una fuente importante de proteína (aproximadamente 22%), vitaminas y minerales (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn) para la dieta humana, pero no ácidos grasos insaturados (Broughton *et al.*, 2003; De Lafuente *et al.*, 2011).

Las legumbres son vitales en la agricultura, ya que forman asociaciones con bacterias que fijan el nitrógeno del aire. Esta aportación de nitrógeno a las plantas es la principal razón por la cual las legumbres son más ricas en proteínas que el resto de las familias botánicas (Lott *et al.*, 2000). El frijol común es el cultivo más ampliamente distribuido, ocupa más de 90% de la superficie destinada a los granos en general (Broughton *et al.*, 2003; Morales, 2006).

2.5 Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y Micorriza

Los hongos micorrizógenos arbusculares se clasifican dentro del *phylum* *Glomeromycota* (Schubler *et al.*, 2001) particularmente en el orden Glomerales, el cual comprende aproximadamente 250 especies descritas (Alarcón, 2008).

Los HMA no forman una estructura especializada de reproducción, sino solo estructuras de resistencia que son esporas asexuales, solas, agregadas o formando esporocarpos (Morton, 1988). Las esporas germinan en el suelo y al contacto con una raíz, forman el apesorio que es la estructura que permite penetrar las células corticales de la planta hospedera sin modificar la estructura radical (Redecker, 2008).

La micorriza arbuscular es una relación simbiótica mutualista entre plantas y hongos del *phylum* *Glomeromycota*; estos hongos favorecen la absorción de agua y nutrientes, como fósforo y nitrógeno a la planta hospedera. En contraparte más del 20% del carbono fijado por la planta es transferido al hongo endófito (Parniske, 2008). La micorriza no sólo contribuye a la nutrición de la planta, puesto que explora un volumen de suelo mayor que el de raíz sola (Bethlenfalvay y Linderman 1992).

La micorriza arbuscular (MA) tiene tres componentes importantes; la propia raíz, las estructuras del hongo dentro y entre las células de la raíz, y el micelio extrarradical en el suelo (Smith y Read, 2008). El hongo desarrolla estructuras altamente especializadas en el intercambio de nutrimentos denominadas arbusculos y se forman dentro de las células corticales de su hospedero también presentan hifas cenocíticas dentro y fuera de la raíz, estas últimas son conocidas como micelio extrarradical; otras estructuras que se forman dentro de las raíces son las vesículas las cuales son órganos de reserva para el hongo, sin embargo no todos los géneros de HMA los forman (González *et al.*, 2005; Finlay, 2008).

A través de las hifas que colonizan el suelo que rodea la raíz, participan en la adquisición de los elementos esenciales, fundamentalmente los de lenta movilidad,

tales como P, K, Cu y Zn y alternativamente, reducen la captación de elementos fitotóxicos como Mn y Al (Borie *et al.*, 2003).

Se estima que aproximadamente el 80-90% de las especies vegetales conocidas establecen de forma natural y constante este tipo de simbiosis con hongos del suelo (Azcón y Barea 1980). En esta asociación mutualista ambos participantes, hongo y planta, mantienen un balance de beneficios y costos positivo, ya que a pesar de los costos que representa el estar juntos, los beneficios son mayores y recíprocos, lo cual se ve reflejado en un mayor crecimiento, supervivencia reproducción y producción de biomasa de las poblaciones involucradas (Allen, 1991; Fisher y Joyachandran, 2002).

Además de incrementar la capacidad de fijar nitrógeno en las plantas de la familia de las leguminosas, aumentan la tolerancia a diversos tipos de estrés como es el provocado por la salinidad, la sequía, patógenos de la raíz y metales pesados, mientras, que las plantas suministran al hongo sustratos energéticos y carbohidratos que elaboran a través de fotosíntesis (Jakobsen y Rosendal, 1990; Brundrett *et al.*, 1996).

2.6 Terra Preta do Indio

La región amazónica está distribuida en una cuenca que abarca más de 7.5 millones de kilómetros cuadrados (Hoorn *et al.*, 2010). En esta región predominan suelos caracterizados por su bajo nivel de fertilidad clasificados como oxisoles y ultisoles (Woods y McCann, 1999; Sombroek *et al.*, 2003, Woods *et al.* 2006).

Dentro del paisaje de los suelos infértiles en el centro de la Amazonía, hay pequeñas islas de suelos fértiles altamente sostenibles conocido como *Terra Preta (do Indio)* por su nombre en portugués, actualmente pueden encontrarse parches de este suelo esparcidos casi por toda la selva Amazónica, con áreas que van desde las dos hectáreas hasta parches extensos que superan las 80 hectáreas (Sombroek *et al.*, 2003; Glasser, 2007; Lehemann, 2009).

Los suelos de la Terra Preta tienen en promedio tres veces más materia orgánica, niveles más altos de nutrientes y capacidad de retención de los mismos que la de los suelos infértiles que lo rodean (Zech *et al.*, 1990, Glaser *et al.*, 2001). La formación de estos suelos está asociada a las actividades sociales, económicas y ambientales como la superposición de casas, la generación de quemadas controladas y la disposición de desperdicios, así como otras actividades asociadas con pueblos antiguos que se consolidaron en la antigua Amazonia (Neves *et al.*, 2003; Sombroek *et al.*, 2003; Arroyo-Kalin, 2010; Arroyo-Kalin, 2012). Por sus características y elevada fertilidad, los suelos de *Terra Preta* son usados hoy en día para desarrollar actividades agrícolas de manera intensiva en diversas zonas por la población local (Caboclos), obteniendo beneficios económicos y bienestar social (Sanabria y Ricaurte, 2013).

Estudios donde se analizaron los microelementos presentes en *Terra Preta* mostraron que la arcilla de los horizontes A de los antrosoles contienen más de Mn y Zn que cualquiera de los horizontes B o los horizontes A y B de oxisoles no antropogénicos. En cuanto a Cu, Cd, Ni y Cr entre *Terra Preta* y suelos inundables existe poca diferencia (Lima *et al.*, 2002) (Tabla 1).

Cuadro 1. Los tres primeros suelos de la tabla corresponden a antrosoles de *Terra Preta* (Tomado de Lima *et al.*, 2002).

Horizon	Fe g kg ⁻¹	Mn mg kg ⁻¹	Cu	Zn	Cd	Ni	Cr
<i>Anthropic Xanthic Kandiuult</i>							
A	79.4	627	104	150	21	78	172
Bt	90.2	71	62	45	22	84	146
<i>Anthropic Xandic Kandiuodox</i>							
A	57.4	387	90	245	20	97	17
Bw	68.5	84	42	97	19	94	1
<i>Anthropic Dystropepts</i>							
A	59.3	289	69	248	18	88	3
Bi	54.2	97	49	73	21	97	0
<i>Xanthic Kandiuodox</i>							
A	53.7	84	81	41	21	86	92
Bw	76.8	81	36	44	21	89	138
<i>Typic Plinthuodox</i>							
A	67.2	87	123	41	21	91	98
Bw	71.0	102	101	50	20	84	89
<i>Typic Fluvaquent</i>							
A	72.3	778	148	176	22	108	92
C	57.7	379	106	168	18	99	80
<i>Typic Udifluvent</i>							
A	74.9	755	121	156	17	103	0
5C ₅	64.1	502	82	158	16	91	54

2.8 Zinc

Los elementos esenciales para el crecimiento vegetal se clasifican normalmente en macronutrientes y micronutrientes, de acuerdo con su concentración relativa en el tejido vegetal (Taiz y Zeiger, 2006).

El boro, el cloro, el cobre, el hierro, el manganeso, el molibdeno y el zinc son considerados micronutrientes esenciales de las plantas porque solo necesitan estos elementos a niveles muy bajos y son tóxicos a niveles más altos (Manahan, 2007).

El zinc es un elemento de transición que no está sujeto a cambios de valencia y está presente en las plantas solamente como Zn (II). El elemento funciona principalmente

como catión divalente en metaloenzimas, algunas de las cuales ligan las enzimas y sus correspondientes sustratos, mientras que en otros casos, el Zn forma complejos tetrahídricos con el N y el O y particularmente ligados de S en una variedad de compuestos orgánicos (Kirkby y Römheld, 2007). Aproximadamente 2800 proteínas dependen del Zn para que puedan sintetizarse y actuar, se requiere para la síntesis de carbohidratos durante la fotosíntesis y en la transformación de los azúcares en almidón. Participa también en el metabolismo de hormonas al regular el nivel de auxinas a través de la síntesis del aminoácido triptófano. En los procesos de maduración y producción de semillas el Zn favorece la formación y fertilidad del polen, por ello la deficiencia de zinc tiene mayor efecto en el rendimiento del grano que en el desarrollo vegetativo (Cakmak, 2005).

Otras funciones del Zn en las plantas reportadas por Cakmak (2008) y Peck y McDonald (2010) son el mantenimiento de un saludable sistema de la raíz, la activación de enzimas, la desintoxicación de los radicales libres y el mantenimiento de la tolerancia al estrés de las plantas.

3. Problemática

Todas las prácticas de manejo usadas en la agricultura convencional tienden a favorecer la alta productividad de los cultivos a corto plazo, comprometiendo así la productividad de los cultivos en el futuro. En consecuencia, cada vez es más evidente que las condiciones necesarias para sostener la productividad se están erosionando (Gliessman, 2002).

El problema de la agricultura industrial es que la población humana depende de los servicios ecológicos proporcionados por la naturaleza (por ejemplo, el equilibrio climático, la polinización, control biológico, la fertilidad del suelo), pero la sociedad los está empujando más allá de su punto de equilibrio (Perfecto *et al.*, 2009). La amenaza a la seguridad alimentaria es el resultado directo del modelo agroindustrial caracterizado por monocultivos a gran escala y cultivos transgénicos, mientras los agrocombustibles ejercen mayor presión sobre los ecosistemas degradados,

socavando con ello aún más la capacidad de éstos para el suministro de alimentos, fibra y energía a una población humana en crecimiento (Altieri y Toledo, 2011).

No hay duda de que la humanidad necesita un paradigma alternativo de desarrollo agrícola, uno que fomente una agricultura biodiversa, resiliente, sostenible y socialmente justa. La base de estos nuevos sistemas son la gran variedad de estilos agrícolas ecológicos (Altieri y Nicholls, 2012).

Particularmente en México, el frijol es la leguminosa de mayor consumo humano y representa el 36% de la ingesta diaria de proteínas (Lara, 2015). Sin embargo, después de haber sido adaptados a diversas condiciones ambientales, el frijol común no está exento de limitaciones bióticas y abióticas. Sufre de seis de las principales enfermedades generalizadas y algunas condiciones abióticas hostiles tales como la toxicidad del suelo, la sequía y las deficiencias nutricionales (Beaver y Osorno, 2009; Popelka *et al.*, 2004). Un criterio fundamental para la conservación de los suelos es mantener su productividad potencial, lo cual se logra utilizando un paquete de estrategias mecánicas y biológicas; entre estas últimas se utiliza la vegetación y la biota edáfica, por ejemplo el uso de hongos micorrízicos y bacterias fijadoras de nitrógeno (Montaño y Monroy, 2000). Asimismo, se ha demostrado la efectividad de la inoculación con micorrizas en cultivos de plantas hortícolas (lechuga, cebolla, ajo, espárrago, fresa, pimiento, tomate, leguminosas etc.) (Barea, 1998). Además de diferentes beneficios se ha observado que las raíces de las plantas inoculadas con hongos micorrízicos adquieren más eficientemente nutrientes como Zn, Cu, P y probablemente amoníaco que las plantas sin simbiosis (Smith *et al.*, 2008). El Zn es un elemento de poca movilidad dentro de la planta, pero con numerosas funciones. La estructura y funcionalidad de muchas enzimas dependen de la presencia de Zn en la planta además favorece los procesos de producción y maduración de las semillas, por ello está más relacionado con el rendimiento del grano que en el desarrollo vegetativo (Camak, 2005). Por lo cual la aplicación de inóculos de HMA es una alternativa recomendable para favorecer el establecimiento y crecimiento de las plantas (Camargo, 2001) y la aplicación de zinc para beneficiar el rendimiento de las semillas. Gracias al uso eficiente que hacen las plantas micorrizadas de los nutrientes del suelo, permiten ahorrar fertilizantes

químicos y reducir por consiguiente los problemas de contaminación que el uso excesivo de fertilizantes conlleva (Árciga, 2008).

Por lo anterior, es importante implementar una alternativa de cultivo y seguridad alimentaria sustentable y altamente productiva. Por lo que en este trabajo se ensayaron dos tipos de aporte nutricional en plantas de *Phaseolus vulgaris*: a través de hongos micorrizógenos arbusculares y diferentes concentraciones de zinc, con la finalidad de eficientizar la producción de semillas en condiciones de invernadero con base a las siguientes preguntas:

¿Cuál es la influencia del sulfato de zinc sobre la biomasa de semillas de frijol en plantas cultivadas en condiciones de invernadero?

¿Cuál es la influencia de aplicar un inóculo con esporas de HMA en plantas de frijol cultivadas en condiciones de invernadero?

¿Existe efecto sinérgico entre los HMA y el zinc producción de semillas de frijol?

4. Hipótesis

El crecimiento y producción de semillas de las plantas de *Phaseolus vulgaris* con los factores: micorriza y zinc será mayor en contraste con las plantas sin ellos. .

5. Objetivo

Determinar la productividad mediante el esfuerzo reproductivo (biomasa de semillas) de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) cultivadas en un sustrato edáfico, adicionado con inóculo de hongos micorrizógenos arbusculares y diferentes concentraciones de sulfato de zinc, en condiciones de invernadero.

Objetivos particulares

Caracterizar el crecimiento en altura y cobertura de plantas inoculadas y no inoculadas con HMA y adicionadas o no con ZnSO₄.

Cuantificar la producción de semillas de frijol en plantas cultivadas con HMA y con sulfato de zinc.

Determinar la influencia de la relación micorriza-zinc en el sustrato sobre la producción de las plantas cultivadas.

6. Material y Método

6.1 Material biológico

Semillas de color negro de *Phaseolus vulgaris* se obtuvieron del vivero de la FES Zaragoza; las semillas provienen de los cultivos que se siembran en el mismo vivero.

Se realizó la siembra en el invernadero del laboratorio de restauración ecológica de la Unidad de Investigación en Ecología Vegetal de la FES Zaragoza, del 6 de noviembre de 2014 al 19 de enero de 2015.

6.2 Sustrato

Se recolectó suelo para la obtención del inóculo de hongos micorrizógenos arbusculares, del Parque Ecológico "Cubitos" (Pachuca Hidalgo), 20° 6' y 20° 7' latitud norte 98°44' y 98° 45' longitud oeste. El Parque se encuentra ubicado en la ciudad de Pachuca, en el Municipio de Pachuca de Soto. El suelo se tamizó con una malla de 2 mm para eliminar partículas grandes de materia orgánica, raíces y gravilla, posterior a esto se realizó una mezcla homogénea con arena sílica 1:2 (v/v). Después el suelo se esterilizó en bolsas de polipapel con calor húmedo y en autoclave a 110-120° C y con presión de 1.2 y 1.4 libras/pulgadas tres veces durante una hora cada vez (Álvarez-Sánchez y Monroy, 2008).

6.3 Preparación de lotes

El cultivo de *Phaseolus vulgaris* se llevó a cabo con plantas individuales en macetas cilíndricas de 30 cm de altura x 10 cm de diámetro, durante tres meses. En estas macetas se germinaron dos semillas; en aquellas donde las dos germinaron se eliminó una de las plántulas después de la primera semana.



Figura 3. Macetas donde se sembraron las plantas de *Phaseolus vulgaris*.

Los tratamientos sin inóculo fueron preparados con 1400 g de sustrato estéril y su respectiva concentración de sulfato de zinc, exceptuando el tratamiento testigo, los tratamientos que contenían inóculo fueron preparados con 1300 g de sustrato más 100 g de inóculo y diferentes concentraciones de sulfato de zinc (Cuadro 1). El inóculo empleado tenía 286 esporas por 100 g de suelo.

Tratamientos con micorriza: 1300 g de suelo + 100g de inóculo + ZnSO₄ (diferentes concentraciones)

Tratamiento sin micorriza: 1400 g de suelo + ZnSO₄

La aplicación de sulfato de zinc se realizó mediante riego a capacidad de campo para esto se prepararon 100 mL de solución por maceta; las diferentes cantidades

agregadas de ZnSO₄ se determinaron a partir de cálculos estequiométricos para obtener la concentración de 50 ppm y 100 ppm únicamente de zinc.

Cuadro 2. Número de repeticiones de los tratamientos a aplicar al cultivo de *Phaseolus vulgaris* en condiciones de invernadero.

Zn(ppm) Micorrización	100 (0.3076 g de ZnSO ₄)	50 (0.3097g de ZnSO ₄)	0 (0 g de ZnSO ₄)
M+	15	15	15
M-	15	15	15

M+: (plantas inóculadas); M-: (plantas no inóculadas)

6.4 Capacidad de campo

La capacidad de campo es la máxima cantidad de agua que el suelo puede retener después que éste ha sido saturado con agua y se ha permitido drenar durante 3 días (Palmer y Troeh, 1979).

La técnica consiste en hacer pasar 250 ml de agua en 50 gr de suelo seco por un papel filtro sobre un embudo, dejando reposar hasta tener peso constante. El cálculo se realizó con la siguiente formula:

$$CC = \frac{Phs - Pss}{Pss} \times 100$$

donde:

CC: Capacidad de campo del suelo

Phs: Peso húmedo del suelo

Pss: Peso seco del suelo

6.5 Conteo y extracción de esporas de HMA del suelo utilizado como inóculo

La extracción de las esporas de HMA del suelo se hizo mediante la técnica de tamizado vía húmeda descrita por Gerdemann y Nicolson (1963) con modificaciones de Morton (2009)

Se pesaron 100 g de suelo, el cual es una mezcla de suelo con raíces colonizadas y micelio externo de los HMA, la muestra se colocó en un agitador eléctrico, se adicionó agua de la llave hasta cubrir $\frac{3}{4}$ partes de la capacidad del recipiente. Se agitó la mezcla durante 3 minutos para romper los agregados y raíces para así liberar las esporas. La agitación se detuvo y se dejó reposar 30 segundos, luego la suspensión se filtró a través de un tamiz de 2000 μ ; posteriormente se agregó más agua al vaso que contenía la muestra de suelo y se agitó la mezcla durante 3 minutos hasta completar tres veces la operación. Las muestras retenidas se enjuagaron al chorro de agua y posteriormente se recuperaron y fueron adicionados a tubos de centrifuga, éstos se centrifugaron durante 7 minutos a 2000 rpm, luego se decantó el contenido del tubo (aquí se eliminaron restos de materia orgánica y esporas de HMA muertas), el suelo que quedó en el tubo se resuspendió con una solución de sacarosa al 50% y nuevamente se centrifugó durante 3 minutos a 1000 rpm, al término cada tubo se decantó en un tamiz de 44 μ (aquí se encontraron y contaron las esporas de los HMA viables).

La muestra del tamiz se lavó a chorro de agua para eliminar la solución de azúcar, posteriormente la muestra se recuperó en cajas Petri con cuadrículas (0.5 cm X 0.5 cm), bajo un microscopio de disección se realizó el conteo de esporas.

6.6 Medición de las variables

A partir de la primera semana después de la siembra de semillas se inició la medición de variables: cobertura, altura, clorofila, evaporación, evapotranspiración real acumulada y transpiración. El potencial hídrico caulinar se realizó antes de finalizar el experimento una vez que las plantas alcanzaron el estadio de adultas. Al concluir el experimento se determinó: porcentaje de supervivencia, tasa de crecimiento relativo y porcentaje de colonización micorrízica.

6.6.1 Cobertura

La cobertura se midió utilizando una regla graduada de 30 cm, se midió el diámetro mayor y el menor de cada planta, con los cuales se calculó el área del círculo medio lo que fue considerado como la cobertura.

6.6.2 Altura

La altura de cada planta fue medida semanalmente a cada planta con un flexómetro a partir de la base de cada planta y hasta el ápice.

6.6.3 Clorofila

Se realizó la medición de la clorofila a cada planta semanalmente con un medidor de clorofila Minolta SPAD-502.

El manejo del medidor se llevó a cabo de la siguiente manera:

Para iniciar la medición primero se calibro el aparato; sin muestra se cerró el cabezal de medición y se mantuvo cerrada hasta escuchar un pitido y observar en la pantalla del medidor las letras "CH". Una vez calibrado se insertó una hoja de la planta en la ranura de muestra, se presionó sobre el reposapiés para cerrar la cabeza de medición y se mantuvo cerrado hasta que sonó un pitido y el valor medido apareció en la pantalla

6.6.4 Evaporación

La evaporación se determinó con el peso de las 5 macetas del control antes y después del riego semanal (Fernández. 1995; Belmonte y Romero, 1999)

$$EC= PCDR-PCAR$$

donde:

EC= Evaporación semanal del control

PCDR= Peso del control después del riego

PCAR= Peso del control antes del riego de la siguiente semana

6.6.5 Evapotranspiración real acumulada (ETR)

La cantidad de agua perdida por evaporación del suelo más la transpiración de la planta es la evapotranspiración y esta se calculó semanalmente pesando las macetas que tenga planta de manera inicial en el experimento y restando el peso de las mismas antes del riego de la siguiente semana de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{ETR} = \text{PDR} - \text{PAR}$$

donde:

ETR = Evapotranspiración real quincenal

PDR = Peso de la maceta después del riego (g)

PAR = Peso de la maceta antes del riego

6.6.6 Transpiración

La transpiración de las plantas se calculó restando la evapotranspiración real acumulada y la evaporación del suelo (Peña, 2002):

$$\text{Tr} = \text{ETR} - \text{Ec}$$

donde:

Tr= Transpiración

ETR= Evapotranspiración real

EC= Evaporación

6.6.7 Potencial hídrico caulinar (PHC)

Para determinar el potencial hídrico de la planta se empleó una cámara de Schollander, para la cual se utilizaron 5 plantas por tratamiento, la determinación se realizó cortando la parte aérea desde la base del tallo; ésta se colocó en el orificio del tapón de goma, para después insertarla en la cabeza del aparato de modo que la planta quedara invertida y dentro de la cámara y que la base del tallo pasara a

través del tapón hacia el exterior, asegurando que la cámara quedara herméticamente cerrada. Enseguida se abrió lentamente la válvula que dejó pasar el gas inerte (N₂) hacia la cámara hasta el punto de generar una presión que indujo la formación de una gota de agua en la base del peciolo de la hoja, entonces se detuvo el flujo del gas y se tomó la lectura de la presión a la que se forma la burbuja de agua en el tejido vegetal.

6.6.8 Porcentaje de supervivencia

Para determinar el porcentaje de supervivencia se dividió el número de plantas vivas (de cada tratamiento) al final de experimento, entre el número de los individuos iniciales:

$$\% \text{ de supervivencia} = \text{PS/PI}$$

donde:

PS= número de plantas al final del experimento

PI= número de plantas al inicio del experimento

6.6.9 Tasa de crecimiento relativa

Para calcular la tasa de crecimiento primero se calculó el promedio general de crecimiento en cada uno de los tratamientos, posteriormente se le aplicó algoritmo natural y se dividió entre el número de semanas que duró el experimento (Hunt *et al.*, 2002).

$$\text{TCR} = \{\ln(L2) - \ln(L1)\} / T2$$

donde:

TCR= tasa relativo de crecimiento

L2= Altura final (cm)

L1= Altura inicial

T2= (tiempo final) Número de días al finalizar el experimento

ln= Logaritmo natural

6.6.10 Porcentaje de colonización micorrízica

Se extrajo la raíz completa de 5 plantas de cada uno de los tratamientos, se lavaron cuidadosamente para quitar partículas del suelo adheridas. Se utilizó la técnica de Philips y Hayman (1970). El porcentaje de colonización micorrízica se obtuvo por el número de hifas, vesículas y arbuscúlos encontrados en 100 campos observados. Para la tinción de las raíces se sustituyó el uso de autoclave por el de un microondas.

Esta técnica consistió en colocar las raíces en solución de KOH al 10% la solución se calentó por periodos de 25 segundos (en un horno de microondas), se realizaron cambios de KOH cada vez que se enturbio, esto se repitió hasta que la solución permaneció transparente, se enjuagaron las raíces con agua destilada y se pusieron en una solución de peróxido de hidrogeno (H_2O_2) al 10% durante 3 minutos (blanqueo) terminando este lapso se enjuagaron y se agregó ácido clorhídrico (HCL) al 10% durante 3 minutos (acidificación), para después quitar el exceso de ácido y sin enjuagar se agregó una solución de azul de tripano al 0.05 %. Nuevamente se calentaron durante 25 segundos se dejaron enfriar y posteriormente se quitó el exceso de colorante, las raíces se colocaron en lactoglicerol.

Las raíces se montaron, paralelamente en un portaobjetos se colocaron 20 segmentos, a los que se agregó 1 o 2 gotas de lactoglicerol, después se colocó un cubreobjetos y se presionó uniformemente para aplastar las raíces, eliminando burbujas de aire. La observación de las raíces se hizo al microscopio óptico, con un aumento de 40x. La estimación del porcentaje de colonización de las raíces se utilizó haciendo tres pasajes equidistantes sobre cada segmento teniendo un total de 60 campos visuales en cada placa.

El número de secciones colonizadas se divide entre el número de secciones observadas multiplicado por cien es el porcentaje de colonización representado con la siguiente formula:

$$\% \text{ de colonización micorrízica} = \left(\frac{\text{Segmentos colonizados}}{\text{Total de segmentos}} \right) \times 100$$

6.6.11 Análisis estadístico

Se utilizó el programa estadístico InfoStat 2011, para determinar si los resultados se comportaban de acuerdo a la distribución; normal, se aplicó una prueba estadística de normalidad (Shapiro-Wilks). Los datos fueron analizados según se requirió mediante un análisis de varianza paramétrico y no paramétrico en el caso de los resultados con distribución no normal (ANOVA y Kruskal Wallis respectivamente).

Diagrama de flujo de la metodología

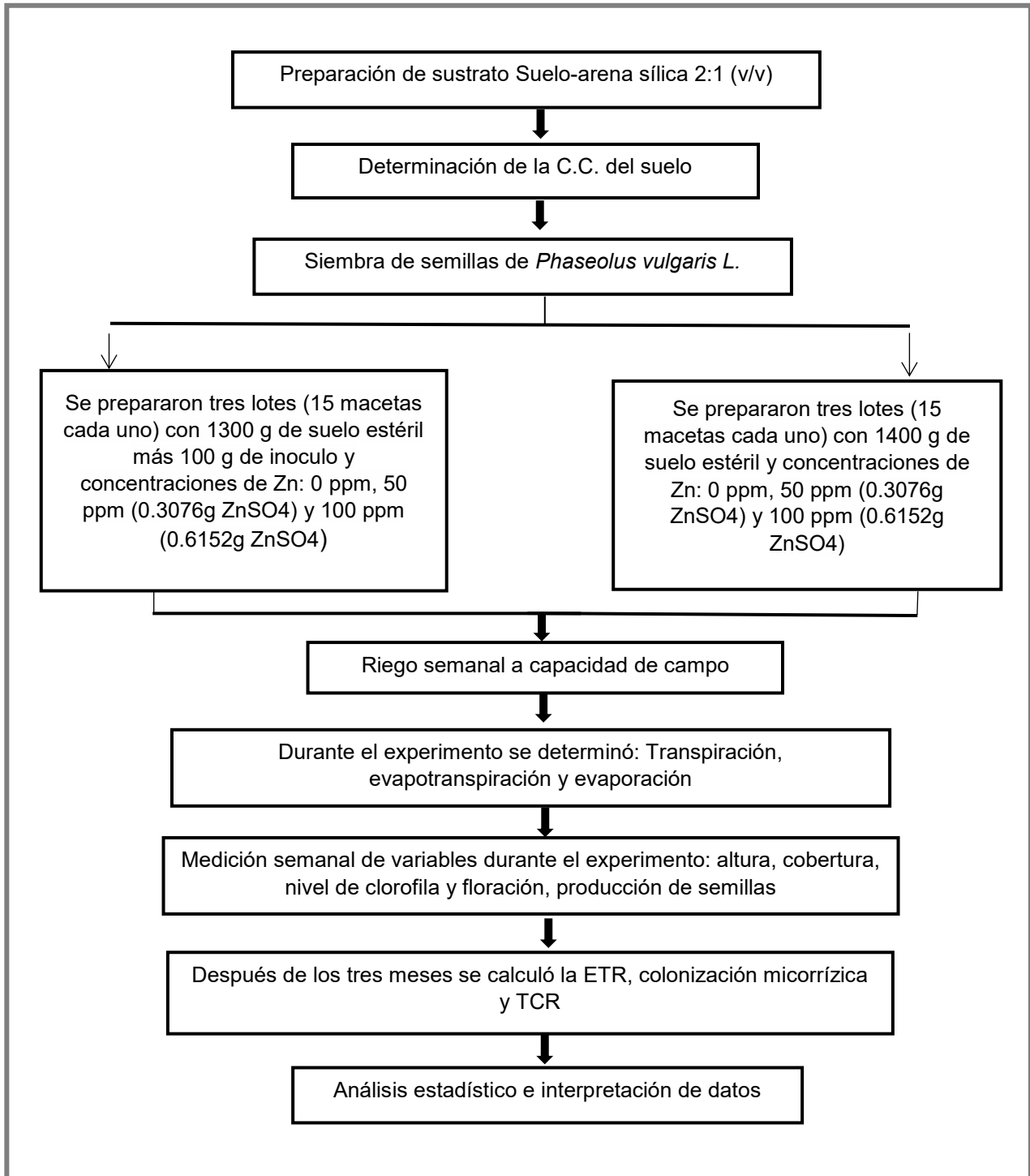


Figura 4. Diagrama de flujo de la metodología.

7. Resultados y Discusión

7.1 Parámetros físico-químicos del sustrato utilizado

La caracterización física del sustrato empleado en el experimento, se presenta en el cuadro 2, estos datos son promedios de 3 repeticiones de la cuantificación de los parámetros reportados por Simancas (2007).

El cuadro 2 muestra las propiedades físicas del sustrato empleado en el experimento. El suelo presenta color grisáceo (10YR5/2) en seco y color café muy oscuro en húmedo (7.5YR2.5/2) según las tablas Münsell. En lo que se refiere a la textura, se clasifica como un suelo franco-arenoso, lo cual contrasta con lo reportado por Luna, (2005) quien lo clasifica como un suelo franco-arcilloso; esto es debido a que a pesar de que el suelo empleado proviene del mismo municipio, no lo es así para el sitio de colecta, el tipo de textura encontrada se caracteriza tener infiltración excesiva, capacidad de retención de humedad baja y una aireación de buena a excelente. Presentan una densidad aparente entre 1.48-1.54 gcm^{-3} y densidad real entre 2.27-2.63 gcm^{-3} .

En cuanto a las propiedades químicas mostradas en el cuadro 2, se observa que este suelo es bajo en materia orgánica, con un pH medianamente alcalino, lo cual es de esperarse para suelos de zonas áridas. La importancia de cuantificar el contenido de materia orgánica radica en que ésta puede afectar (si se encuentra en porcentajes altos) otras propiedades como la estructura, aireación, drenaje, retención de humedad, capacidad de intercambio de cationes, color, D.A, D.R, E.P, y pH (Ríos, 1985). Rzedowski (1994) reporta que para la zona del municipio de Santiago de Anaya el pH varía de 6 a 8.5, con contenido de materia orgánica frecuentemente bajo.

La conductividad eléctrica muestra un suelo moderadamente salino con valores que van de 2.08- 3.8 ds/m, La Capacidad de Intercambio de Cationes es baja, lo cual indica que es un suelo con poca fertilidad. Para nitrógeno total y fósforo los valores encontrados se consideran bajos según las tablas de interpretación para el contenido de estos elementos en el suelo.

Cuadro 3. Parámetros físicos y químicos del sustrato donde se cultivó *Phaseolus vulgaris* L. (Simancas, 2007)

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA								
Tratamiento	pH (suelo- agua 1- 1)	pH Pasta de saturación	C.I.C. (meq/100g)	M.O. (%)	P extraíble (mg/kg)	N total (%)	C.E. (dS/m ⁻¹)	
Suelo esterilizado	7.40	8.38	7.54	0.87	5.1171	0.0186	2.08	
CARACTERIZACIÓN FÍSICA								
Tratamiento	Color		D.A g/cm ³	D.R g/cm ³	EP (%)	Textura (%)		
	Seco	Húmedo				Arcilla	Limo	Arena
Suelo esterilizado	grisáceo (10YR5/2)	café muy oscuro (7.5YR2.5/2)	1.54	2.27	32.16	1.80	10.02	88.18

7.2 Capacidad de campo

La capacidad de campo del suelo (esterilizado con calor húmedo) donde se realizó el cultivo de *Phaseolus vulgaris* es del 15.6 % que es la capacidad máxima de retención de agua de acuerdo al sustrato utilizado por maceta (textura arenosa), en los tratamientos (Maderrey, 2005).

7.3 Temperatura y humedad relativa

En las figuras 9 y 10 se muestran los registros de temperatura y humedad respectivamente del invernadero donde se cultivó *Phaseolus vulgaris*. Las mediciones se obtuvieron con un higrómetro que realizó el registro durante todos los días que duró el experimento.

La temperatura mínima registrada fue de 5.5 °C y máxima de 38.6 °C, mientras que el registro mínimo de humedad fue de 6.8 y 94.75 %. Según Lim (2012) *Phaseolus vulgaris* L. puede crecer con temperaturas medias de 15-25 °C durante el periodo de crecimiento y tolerar temperaturas diurnas ocasionales de 35 °C.

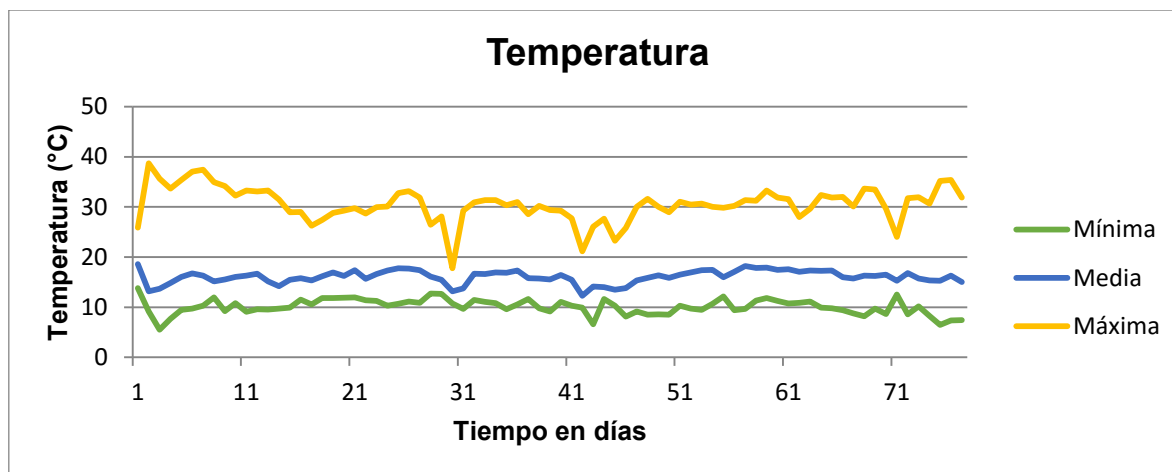


Figura 5. Temperatura mínima, media y máxima del invernadero durante el periodo de cultivo de *Phaseolus vulgaris* L.

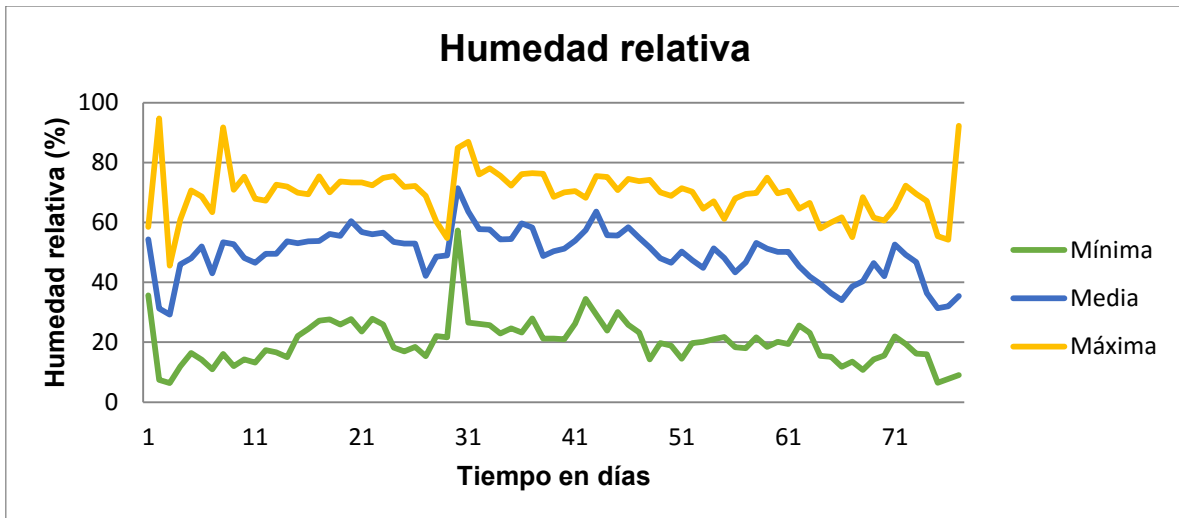


Figura 6. Humedad mínima, media y máxima del invernadero durante el periodo de cultivo de *Phaseolus vulgaris* L.

7.4 Caracterización del suelo utilizado como inóculo de HMA

La caracterización del inóculo fue realizada en el invernadero de la FES Zaragoza por el Biólogo Eduardo Chimal Sánchez en mayo del 2010; el cual encontró 11 morfotipos fúngicos en total, con una densidad de 286 esporas contenidas en 100 g de suelo lo cual fue contrastante con el número de esporas encontradas durante el análisis. El resultado promedio de cinco repeticiones fueron 51 esporas en 100 g de suelo (Cuadro 3).

Cuadro 3. Diversidad y densidad de esporas de HMA en 100 g de suelo colectado en la localidad de Cubitos, estado de Hidalgo.

Morfotipo	Proporción	Densidad esporas
<i>Glomus</i> sp1 blanco a amarillo paja aprox. 120 μ	36.7%	105
Esporas sin hifa blanco con tintes amarillentos	8.0%	23
<i>Glomus</i> sp2 amarillo aprox. 100 μ	9.0%	26
<i>Glomus</i> sp3 color naranja brillante aprox. 120 μ	13.2%	38
<i>Glomus</i> sp4 color amarillo-naranja	5.2%	15
<i>Acaulospora</i> sp2 naranja aprox. 105 μ	5.2%	15
Esporas naranja aprox. 65 μ	2.5%	7
<i>Glomus</i> sp5 naranja-rojizos	9.4%	27
<i>Glomus</i> sp6 rojo muy pequeño	3.5%	10
<i>Gigaspora</i> amarillo-pálido 350 μ	3.1%	9
<i>Acaulospora</i> sp3	3.8%	11
11 morfotipos en total	100 %	286

7.5 Cobertura

Los tratamientos con mayor cobertura fueron a los que se les agrego inóculo de HMA en un inicio como se muestra en la figura 7, existen diferencias significativas ($p < 0.0001$) entre los tratamientos con y sin HMA. Lo cual se atribuye al efecto de los hongos micorrizógenos arbusculares, ya que promueven el incremento de la longitud radical y aumentan la absorción de minerales necesarios para el crecimiento vegetal (Luna y Monroy, 2009).

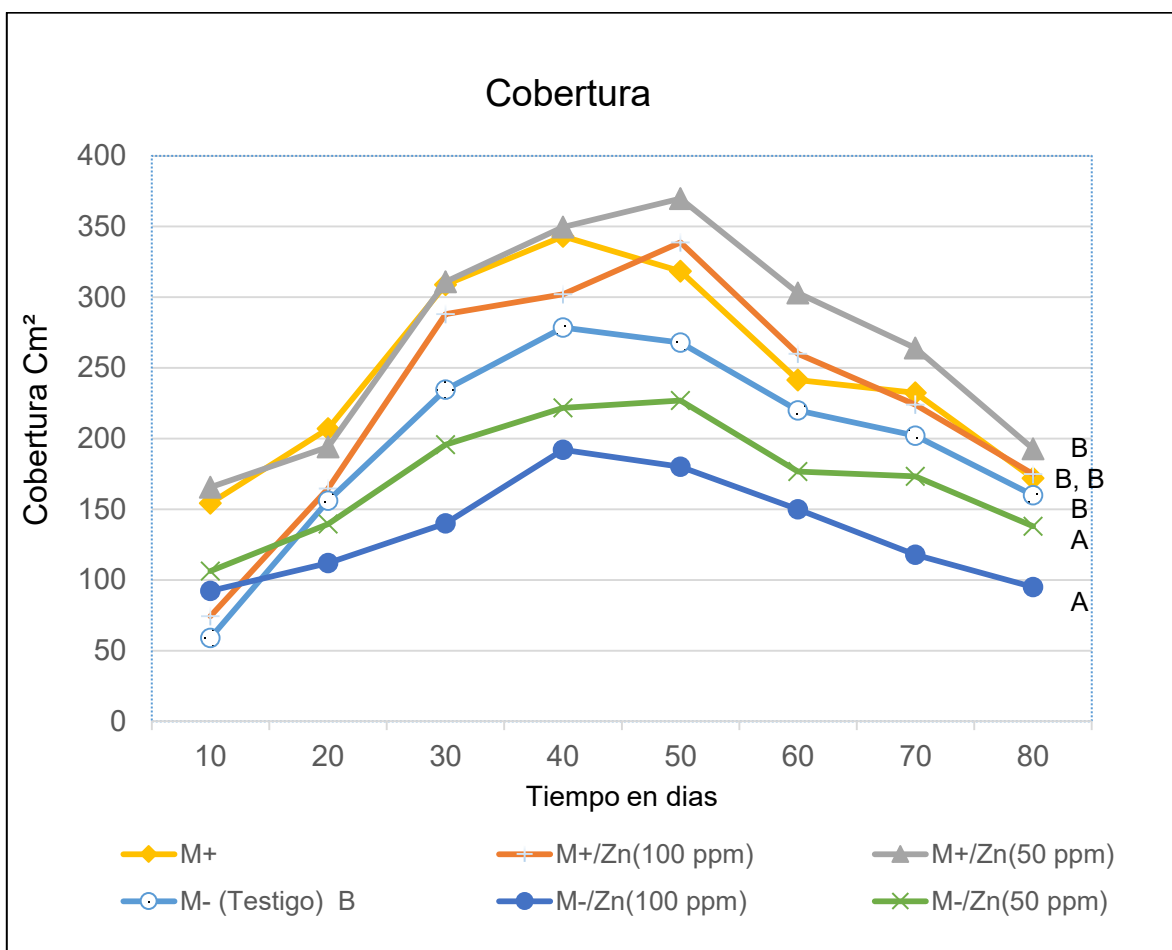


Figura 7. Cobertura de los seis tratamientos de *Phaseolus vulgaris* L. M+ plantas micorrizadas. M- plantas no micorrizadas. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.0001$).

7.6 Altura

No se encontraron diferencias significativas entre los seis tratamientos ($p < 0.1971$) en el análisis de altura, sin embargo el valor más alto se localizó en plantas no micorrizadas a las que se les aplicó Zn a una concentración de 10 y 50 ppm (Figura 8).

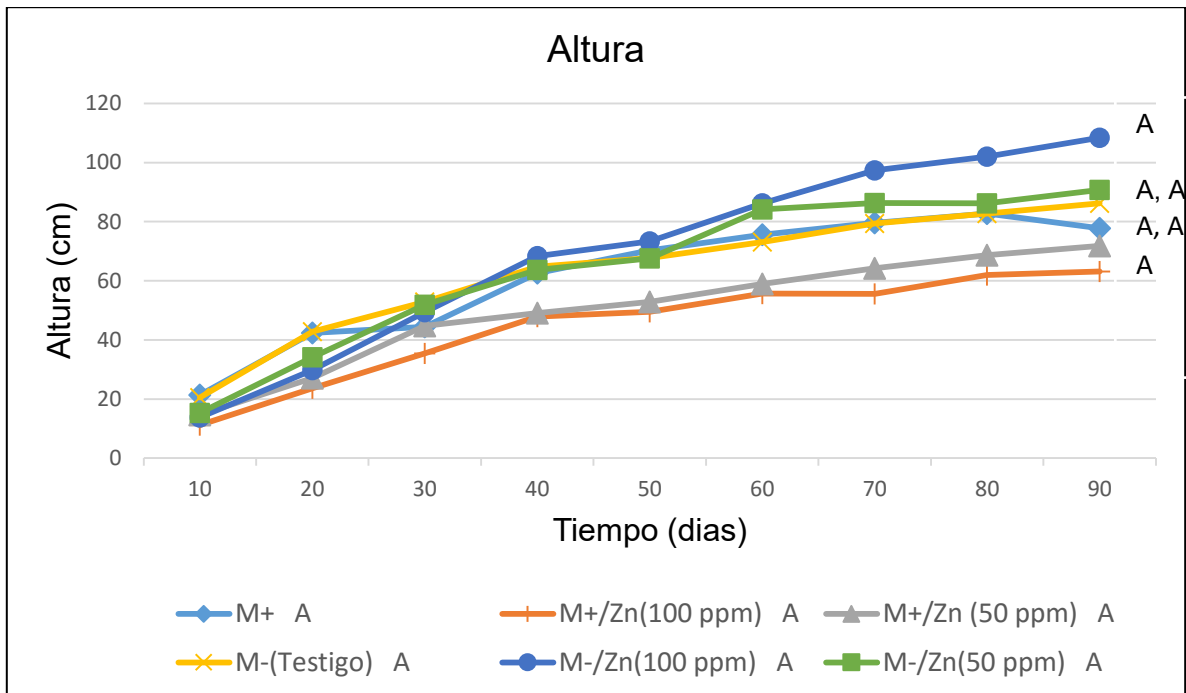


Figura 8. Altura de los seis tratamientos de *Phaseolus vulgaris* L. durante el experimento. M+ plantas micorrizadas. M- plantas no micorrizadas. No hubo diferencias significativas entre tratamientos.

7.7 Tasa de crecimiento relativo (TCR)

Los resultados de las pruebas estadísticas mostraron diferencias significativas para la tasa de crecimiento relativo entre los seis tratamientos de *Phaseolus vulgaris*. ($p < 0.0294$), aunque los tratamientos con mayor TCR fueron todos a los que se les agregó zinc en diferentes concentraciones (Figura 9).

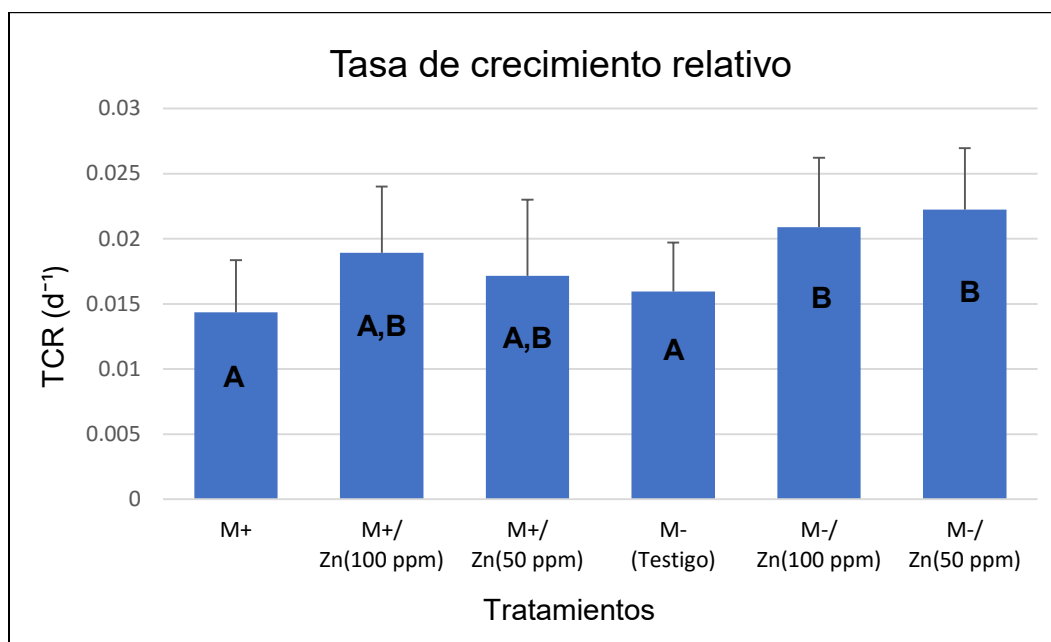


Figura 9. Tasa de crecimiento relativo de *Phaseolus vulgaris* L. M+ plantas micorrizadas. M- plantas no micorrizadas. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.0294$).

En los resultados de altura y tasa de crecimiento relativo se obtuvieron datos mayores en los tratamientos sin inóculo de HMA y con concentraciones de Zn 50 ppm y Zn 100 ppm esto puede deberse a que el zinc mantiene un sistema radical saludable, es esencial para la activación de enzimas, la desintoxicación de radicales libres y la tolerancia a factores de estrés de la planta (Cakmak, 2008; Peck y McDonald, 2010).

7.8 Concentración de clorofila

Los resultados estadísticos mostraron diferencias significativas ($p < 0.0154$) entre el tratamiento al que solo se le agregó inoculo al inicio (M+) y al que se le agregó inoculo y zinc con concentración de 100 ppm (Figura 10).

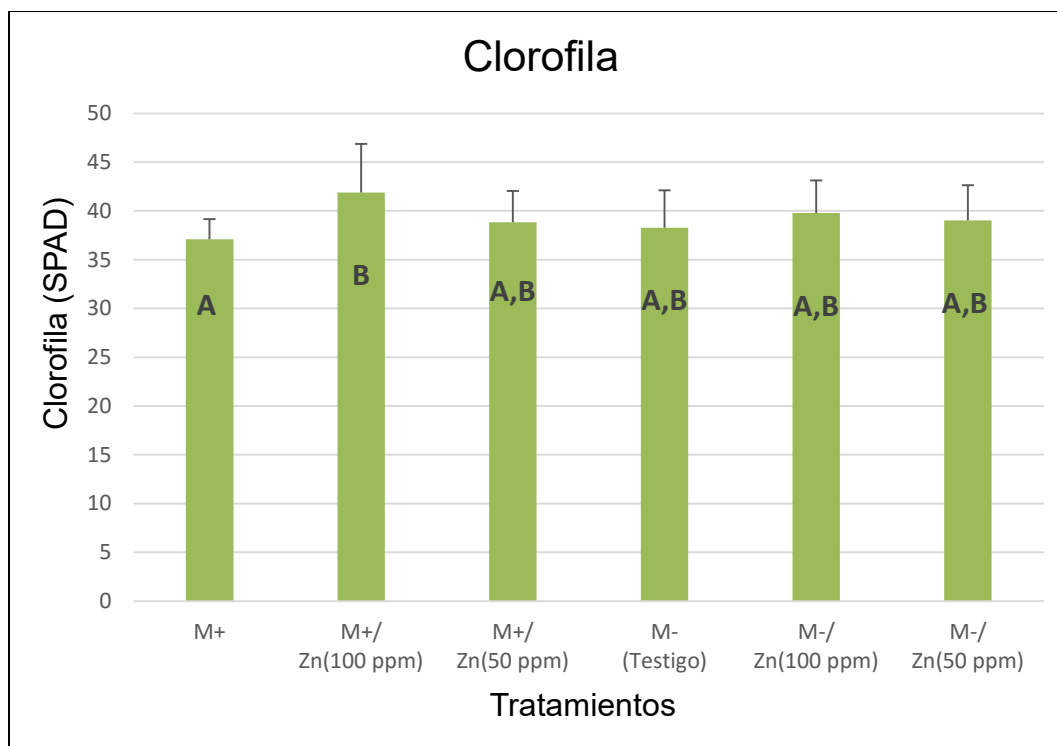


Figura 10. Concentración promedio de clorofila. M+ plantas micorrizadas. M- plantas no micorrizadas. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.0154$).

El contenido en clorofila está positivamente correlacionado con la fotosíntesis (Gummuluru *et al.*, 1989), Además se ha observado la existencia de una asociación genética entre el contenido en clorofila y el rendimiento (Reynolds *et al.*, 2000, Gutiérrez-Rodríguez *et al.*, 2000)

La reducción en el contenido en clorofilas puede ser considerada como una respuesta de las plantas al estrés (Tenga *et al.*, 1989) y puede perjudicar el proceso fotosintético conduciendo a una reducción en la fijación de carbono (González, 2009).

7.9 Evapotranspiración real acumulada (ETR), transpiración y potencial hídrico foliar.

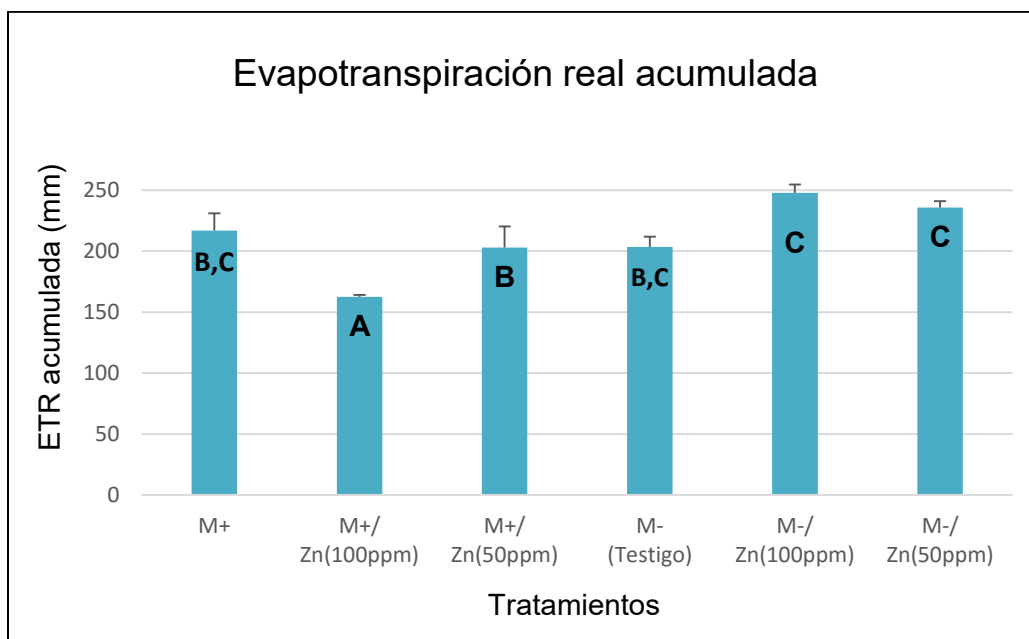


Figura 11. Evapotranspiración real acumulada de *Phaseolus vulgaris*. M+ plantas micorrizadas. M- plantas no micorrizadas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.0001$).

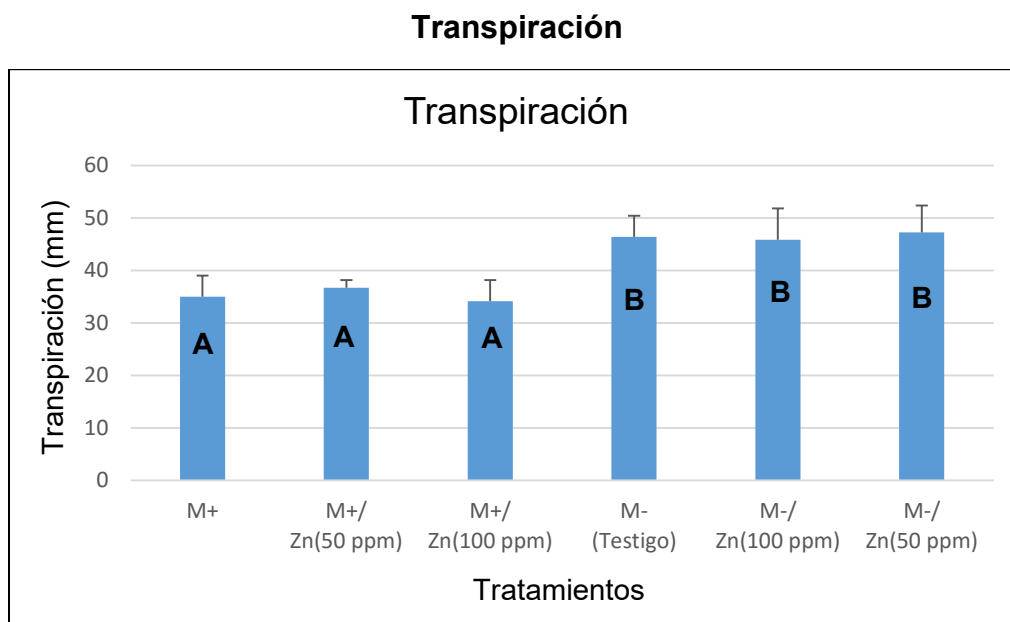


Figura 12. Transpiración de *Phaseolus vulgaris*. M+ plantas micorrizadas. M- plantas no micorrizadas. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.0001$).

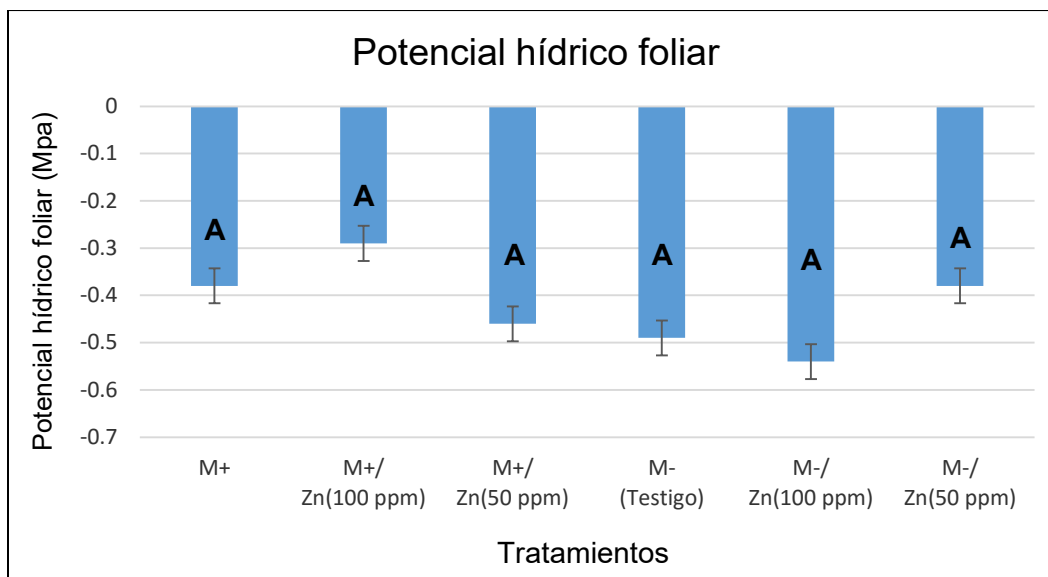


Figura 13. Potencial hídrico foliar de *Phaseolus vulgaris*. M+ plantas micorrizadas. M- plantas no micorrizadas. No hubo diferencias significativas entre tratamientos.

El análisis estadístico mostró diferencias estadísticamente significativas para la evapotranspiración real acumulada (ETR) ($p < 0.0002$); y la transpiración ($p < 0.0002$) entre tratamientos con y sin micorriza. Los resultados fueron mayores en los tratamientos sin micorriza para la ETR (Figura 12) y la transpiración (Figura 13) en comparación de los tratamientos con micorriza, lo que indica que el tratamiento con micorriza perdió menor cantidad de agua.

La transpiración consiste en la vaporización del agua líquida contenida en los tejidos de la planta y su posterior remoción hacia la atmósfera. El agua, junto con algunos nutrientes, es absorbida por las raíces y transportada a través de la planta, mientras que la evaporación es el proceso por el cual el agua líquida se convierte en vapor de agua y se retira de la superficie evaporante. En las primeras etapas del cultivo, el agua se pierde principalmente por evaporación directa del suelo, pero con el desarrollo del cultivo cuando éste cubre el suelo, la transpiración se convierte en el proceso principal (Allen *et al.*, 2006) en las plantas con micorriza los HMA proporcionan un aumento en la absorción de agua, debido a las características de los pelos radicales y a la red hifal del hongo (Guttenberger, 2000).

El potencial hídrico caulinar no presentó diferencias significativas ($p < 0.1214$), entre tratamientos aunque los resultados más altos fueron las plantas inoculadas con HMA lo que indica un mejor estado hídrico que sus testigos debido probablemente a que la simbiosis micorrízica mejora la conductividad hidráulica de la raíz, para la toma y flujo de agua (Monroy y García, 2009). En la figura 14 se presentan los potenciales hídricos foliares obtenidos al final del experimento.

7.10 Porcentaje de colonización micorrízica por tratamiento

Los porcentajes de colonización micorrízica fueron altos en los tratamientos a los que se les agregó inóculo al inicio del experimento; M+, M+/Zn (100 ppm) y M+/Zn 50 ppm se obtuvieron: 69%, 93% y 90% respectivamente (Figura 15) encontrándose micelio intra y extra radical, así como vesículas (Figura 17) y arbuscúlos, el grado de colonización está directamente relacionado con el porcentaje de longitud de raíz micorrizada de las plantas y depende de diferentes factores, entre ellos destacan la planta simbiote, los hongos, los exudados de la raíz, la humedad, la temperatura y el pH (Rodríguez, 2002).

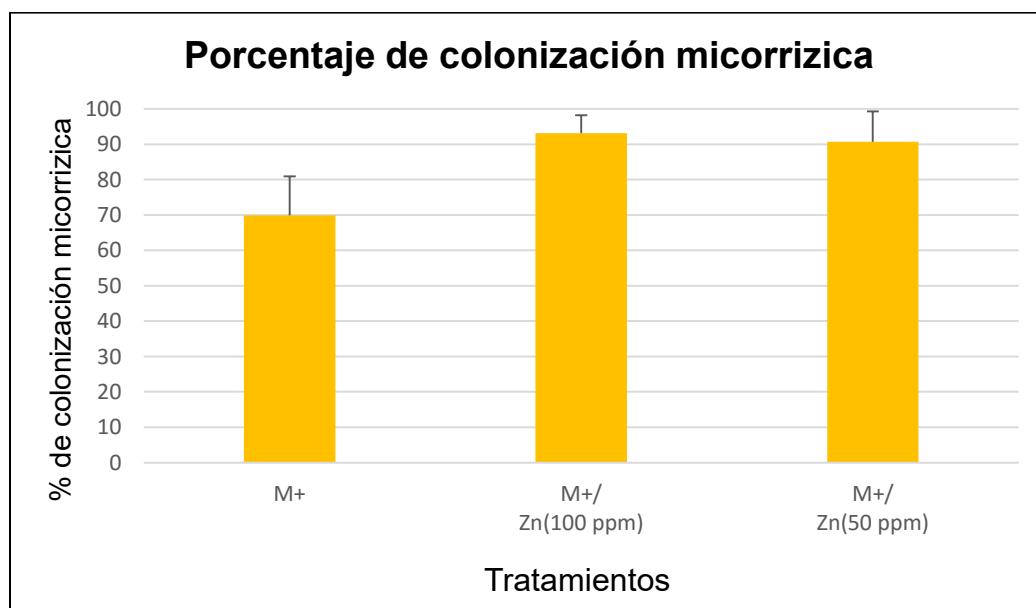


Figura 14. Porcentaje de colonización micorrízica de los tratamientos a los que se les agregó inóculo de HMA al inicio del experimento.

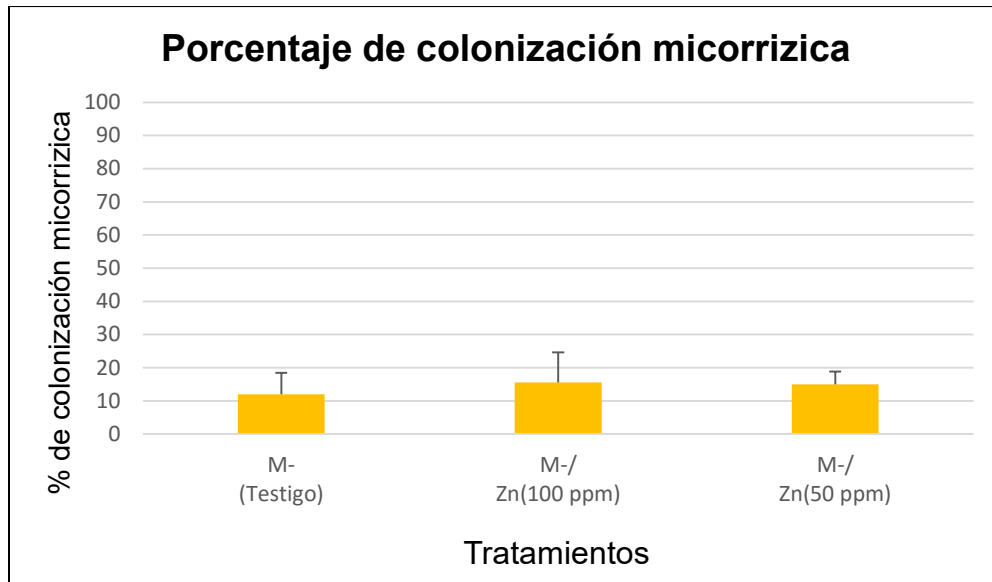


Figura 15. Porcentaje de colonización micorrizica de los tratamientos a los que no se le agregó inóculo de HMA al inicio del experimento.

En los tratamientos a los que inicialmente no se les agregó inóculo de HMA se registró también colonización micorrizica aunque en porcentajes menores; en el tratamiento con Zn (100ppm) 15%; Zn (50 ppm) 15 % y en el testigo 12% (Figura 16).

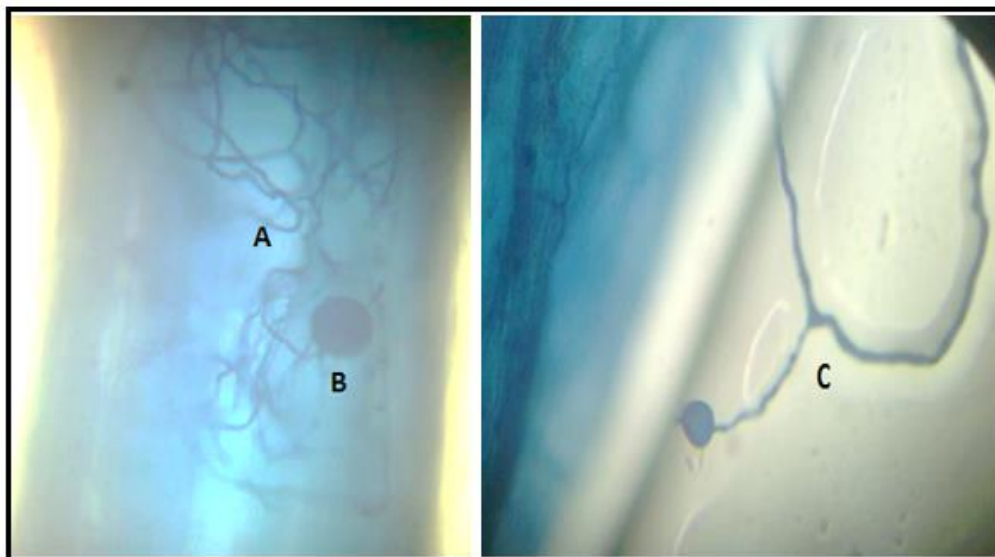


Figura 16. (A) Micelio intra radical, (B) Vesícula y (C) Micelio Extra radical. Estructuras observadas en la raíz de *Phaseolus vulgaris* L. a 40X.

7.11 Supervivencia

La supervivencia para los seis tratamientos de *Phaseolus vulgaris* L. fue del 100% (Figura 18). Para el caso de las plantas micorrizadas esto se atribuye a que los HMA incrementa en las plantas su adecuación (reproducción y supervivencia) y producción de biomasa (Fisher y Jayachandran, 2002). En el caso de las plantas a las que no se les agregó inóculo de HMA puede atribuirse a la resistencia natural y al bajo porcentaje de colonización micorrizica que presentaron.

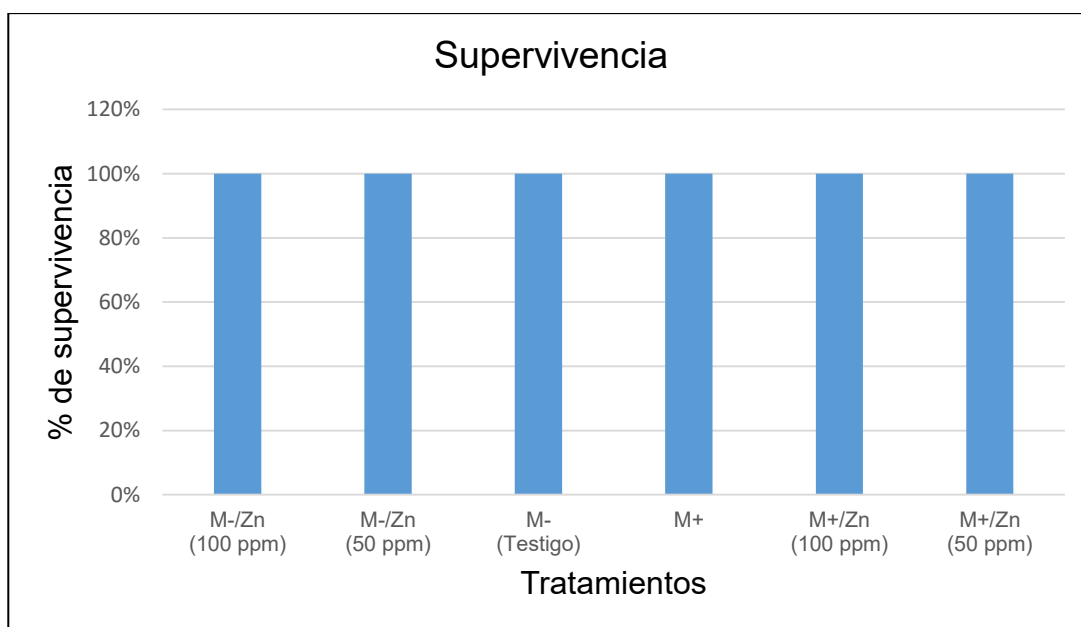


Figura 17. Porcentaje de supervivencia de los seis tratamientos en los que se cultivó *Phaseolus vulgaris* L.

7.12 Número de hojas por tratamiento

El número de hojas entre tratamientos no presentó diferencias significativas ($p < 0.2905$) los tratamientos que presentaron el mayor número de hojas fue el que tratamiento con micorriza sin zinc (M+) y el tratamiento con micorriza y Zn (50 ppm), el tratamiento con menor número de hojas fue el testigo (Figura 19). Esto puede estar relacionado al hecho de que la micorriza actúa como acelerador del crecimiento, por lo que se pueden obtener plantas con mayor vigor y sanidad (Alarcón y Ferrera, 1999).

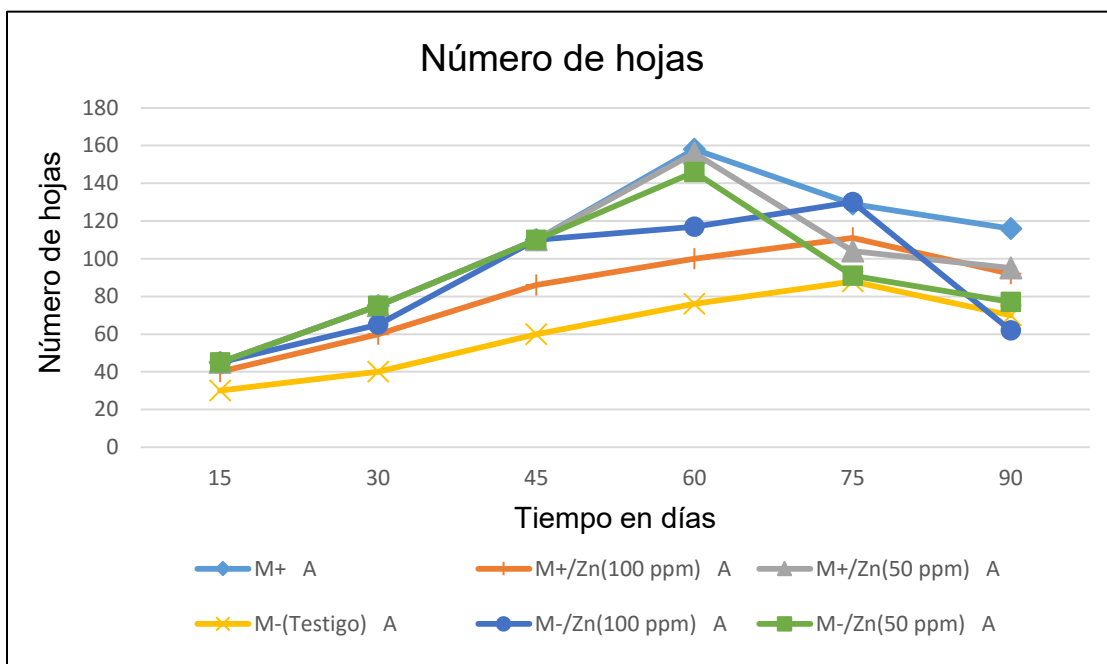


Figura 18. Número de hojas. M+ plantas micorrizadas. M- plantas no micorrizadas. No existen diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.2905$).

7.13 Fases fenológicas

Los tratamientos de *Phaseolus vulgaris* L. germinaron en la primera semana en la que se inició en experimento el crecimiento vegetal continuo hasta la octava semana en la que inicio la antesis en los tratamientos con micorriza seguido por los tratamientos a los que no se les agregó inóculo de HMA en un inicio. La floración inicio el día 74 y 78 y duró tres semanas para los tres tratamientos M- (sin inóculo de HMA) y para los tratamientos M+ (con inóculo de HMA) inicio en el día 71 y 74 y tuvo una duración de entre tres y cuatro semanas, resultados similares fueron reportados por Medina (2002) para tratamientos con micorriza. La cosecha inició en la semana once y terminó en la semana 16 para los tratamientos M+ (Figura 20).

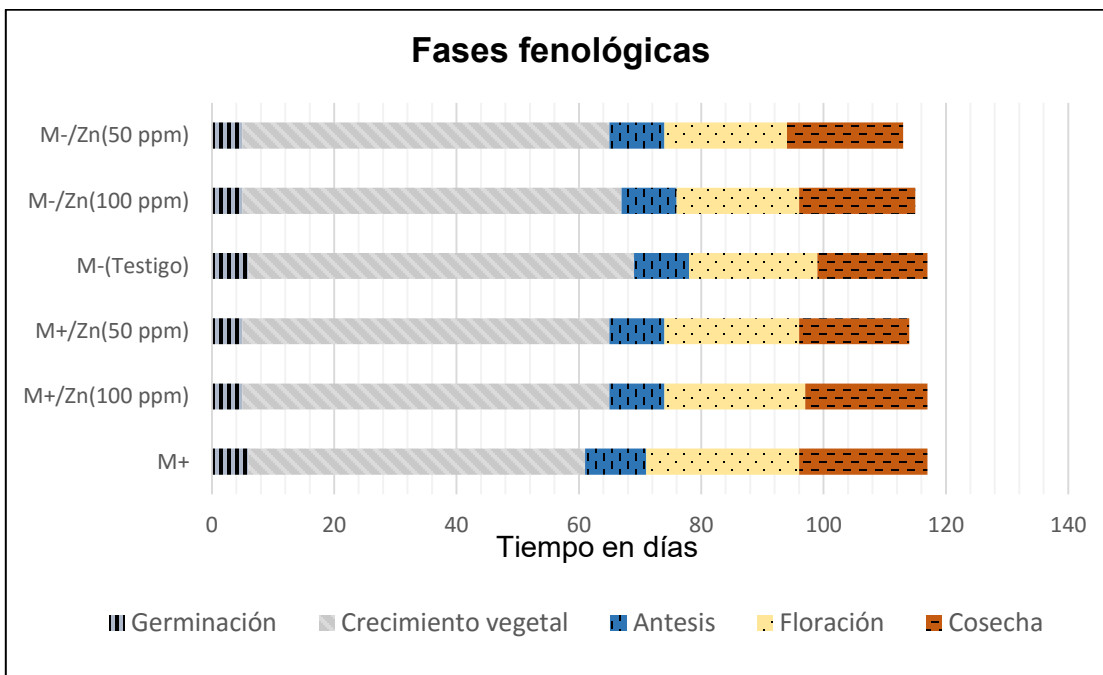


Figura 19. Fases fenológicas del cultivo de *Phaseolus vulgaris*. M+ plantas micorrizadas. M- plantas no micorrizadas.

8.14 Número de semillas por tratamiento

Los tratamientos con micorriza y zinc (50 ppm) y micorriza y zinc (100 ppm) fueron de los que se obtuvo mayor número de semillas con un total de 35 y 33 respectivamente, seguidos del tratamiento al que se le agregó únicamente micorriza, el análisis estadístico mostro diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos con micorriza y solo de los que no contenían micorriza y se les agregó diferentes concentraciones de zinc no se obtuvo diferencia significativa entre ellos. Los tratamientos sin micorriza obtuvieron un menor número de semillas en comparación con los demás, el tratamiento testigo fue el que produjo el menor número semillas (Figura 21).

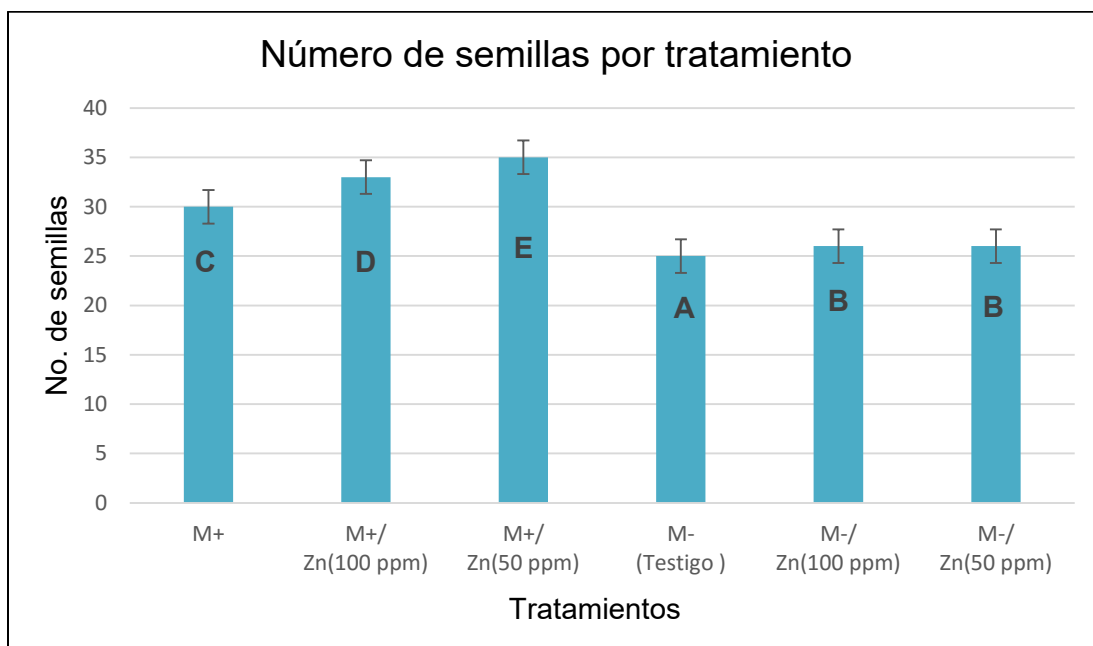


Figura 20. Número de semillas por tratamiento. M+ plantas micorrizadas. M- plantas no micorrizadas. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.0001$).

7.15 Longitud de las semillas

La longitud de las semillas fue significativamente diferente ($p < 0.0001$) entre los tratamientos M+/Zn (100ppm), M-(Testigo) y M-/Zn (100ppm) en comparación con M+, M+/Zn (50ppm) y M-/Zn (50ppm) de los cuales se obtuvieron las semillas de mayor tamaño (Figura 22).

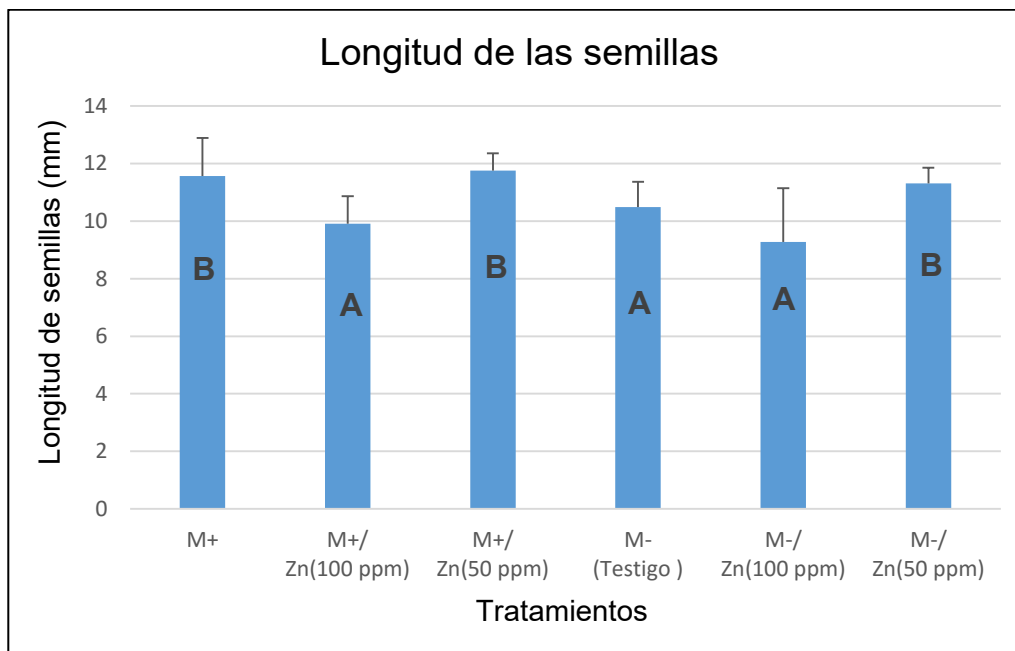


Figura 21. Longitud de las semillas. M+ plantas micorrizadas. M- plantas no micorrizadas. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.0001$).

7.16 Peso de las semillas

De los tratamientos M+ y M+/Zn (50 ppm) se obtuvieron las semillas más pesadas de 0.73 g y 0.72 g respectivamente (Figura 23), existen diferencias significativas ($p < 0.0001$) entre, estos y el resto de los tratamientos.

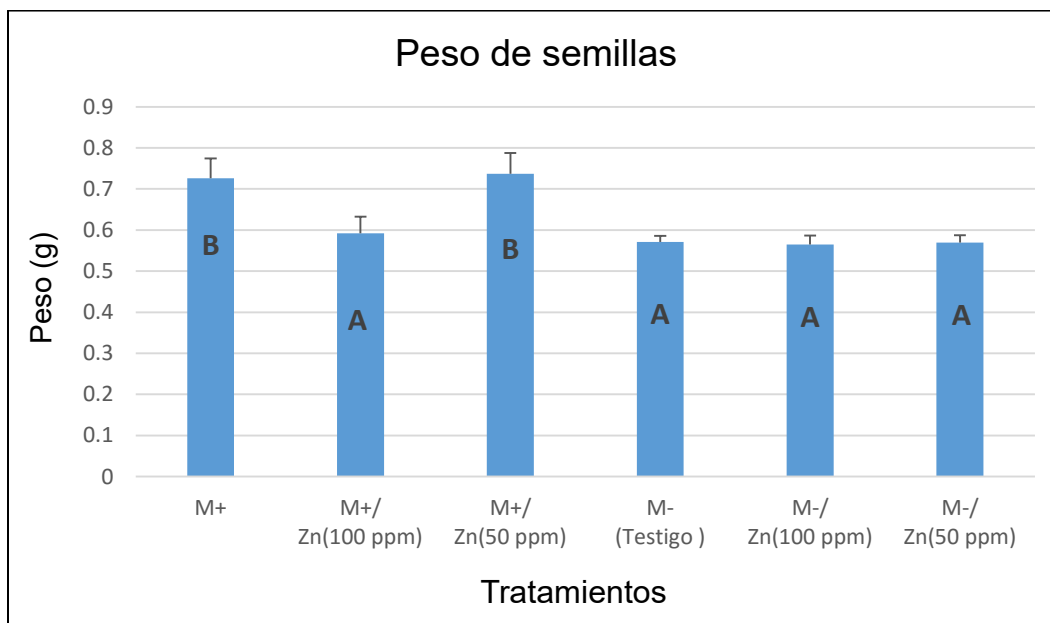


Figura 22. Peso de las semillas. M+ plantas micorrizadas. M- plantas no micorrizadas. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.0001$).

Los tratamientos con micorriza (M+) y zinc generaron un mayor número de semillas, el análisis mostro diferencias significativas ($p < 0.0001$), el resultado de esta interacción puede atribuirse a que la micorrización se comporta como un mecanismo que permite a las plantas obtener sus requerimientos nutricionales dependiendo de la disponibilidad de los mismos en el sistema, la magnitud de los efectos y los elementos favorecidos (Rivera y Fernández, 2003). Además de que uno de los beneficios de la simbiosis micorrízica es el incremento de la capacidad de absorción de los nutrientes por las raíces micorrizadas lo que favorece el establecimiento y productividad de las plantas y por ende un mejor rendimiento de los cultivos (George, 2000; Augé, 2001).

Asimismo varias formas de Zn se han utilizado en fertilizantes, incluyendo sulfato de zinc $ZnSO_4$ ampliamente utilizado para mejorar el rendimiento de los cultivos (Ahmad *et al.*, 2012). Cakmak (2004) también reportó aumentos en la producción de cultivos herbáceos debido a fertilizantes de Zinc, esto puede atribuirse a el hecho de que el Zn está relacionado con las funciones metabólicas de la planta, porque algunas enzimas que actúan en el metabolismo de los carbohidratos son dependientes del zinc estas enzimas se encuentran en el citoplasma de los cloroplastos y facilita la transferencia de CO_2/HCO_3 para la fijación fotosintética de CO_2 (Kirkby y Römheld, 2007).

En cuanto al tamaño de las semillas se obtuvieron semillas de mayor proporción en los tratamientos M+, M+/ Zn (50 ppm) y M-/ Zn (50 ppm), hubo diferencia significativa entre estos tratamientos y el resto ($p < 0.0001$). Las semillas con los mayores registros de peso fueron de los tratamientos: M+ y M+/Zn (100 ppm) también existió diferencia significativa en comparación con el resto ($p < 0.0001$) lo que concuerda con lo reportado por Medina *et al.* (2002), sobre un estímulo favorable en la formación y peso de semillas en tratamientos con micorriza, sin embargo existe una excepción en los resultados del tratamiento con concentración de Zn (50 ppm) sin micorriza.

7.17 Síntesis de resultados

En el cuadro 5 se presentan los resultados estadísticamente significativos de cada tratamiento obtenidos en el experimento.

Cuadro 5. Síntesis de resultados estadísticamente significativos.

Tratamiento Variable	M+	M+/ Zn(100 ppm)	M+/ Zn(50 ppm)	M- (Testigo)	M-/ Zn(100 ppm)	M-/ Zn(50 ppm)	Valor de p
Cobertura	242.76*	218.28	258.84*	168.79	124.21	183.26	<0.0001
TCR	0.014	0.018	0.017	0.015	0.020*	0.022*	<0.0294
Concentración de clorofila	37.09	41.9*	38.83	38.28	39.79	39.04	0.0154
ETR	244	245.71	243.14	255.4*	254.84*	256.26*	<0.0001
Transpiración	35	36.71	34.14	46.4*	45.84*	47.26*	<0.0001
Número de semillas	30	33*	35*	25	26	26	<0.0001
Peso de las semillas	0.72*	0.59	0.73*	0.57	0.56	0.56	<0.0001

* Valores significativos

8. Conclusiones

La inoculación de plantas de *Phaseolus vulgaris* con HMA y zinc favorece el crecimiento vegetal registrado como altura, TCR y cobertura.

Todos los tratamientos inoculados con HMA (independientemente de la concentración de zinc) presentaron el inicio de la antesis días antes que el resto.

Las plantas del tratamiento inoculado con HMA y con zinc con concentración de 100 ppm presentaron la mayor concentración de clorofila en sus hojas.

En el caso de las variables: supervivencia, potencial hídrico foliar y número de hojas los resultados no fueron estadísticamente significativos entre tratamientos.

El número de semillas obtenidas de los tratamientos a los que se les agregó inóculo de HMA y zinc fue mayor, en cuanto al tamaño y peso de las semillas los resultados de los tratamientos M+ y M+/Zn (50 ppm) fueron de los que se obtuvieron semillas más grandes y pesadas. Lo que sugiere que existió una influencia positiva entre los factores micorriza y zinc debido a la absorción de micronutrientes favorecida por las hifas extrarradicales de los HMA, lo que facilitó la absorción de zinc agregado inicialmente. Existe una excepción para el tratamiento M-/Zn (50 ppm) ya que también mostró semillas significativamente mayores.

9. Referencias

- Ahmad W., Watts M., Imtiaz M., Ahmed I. y Zia M. 2012. *Zinc deficiency in soils, crops and humans: a review*. *Agrochimica* 56: 65–97 pp.
- Alarcón A., y Ferrera C. 1999. *Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas*. *Terra*, 17(3), 179-191 pp.
- Alarcón A. 2008. *Los hongos micorrízicos como biotecnología en la propagación y manejo de plantas en viveros*. *Microbiología, Colegio de posgraduados*, No. 1, año 1, 19-23 pp.
- Allen M.F. 1991. *The Ecology of Mycorrhizae*. University Press. Cambridge.
- Allen G., Luis S., Dirk R., Martin S. 2006. *Evapotranspiración del cultivo: guías para la determinación de los requerimientos de agua de los cultivos*. Vol. 56. Food y Agriculture Org.
- Altieri M. y Toledo V. 2011. The agroecological revolution of LatinAmerica: rescuing nature, securing food sovereignty and empowering peasants. *The Journal of PeasantStudies* Vol. 38, No. 3, July 2011, 587–612 pp.
- Altieri, M., y Nicholls C. 2012. *Agroecología: única esperanza para la soberanía alimentaria y la resiliencia socioecológica*. *Agroecología*, 7(2), 65-83 pp.
- Álvarez-Sánchez J. y Monroy A. 2008. *Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus implicaciones en la restauración*. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 6-11 pp.
- Árciga F. 2008. *Selección de plantas hospederas adecuadas para producción de inoculo de hongos formadores de micorrizas Arbusculares por el método de cultivo en macetas* (tesis de pregrado). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacan.
- Arroyo-Kalin M. 2010. *The Amazonian Formative: Crop Domestication and Anthropogenic Soils, Diversity*. 2: 473-504 pp.
- Arroyo-Kalin M. 2012. Slash-burn-and-chum: Landscape history and crop cultivation in pre-Columbian Amazonia. *Quaternary international*, 249: 4-18 pp.
- Augé R. 2001. *Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis*. *Mycorrhiza* 11:3-42 pp.
- Azcón A y Barea J. 1980. *Micorrizas*. *Investigación y ciencia* 47: 8-16 pp.
- Azcón A y Barea J. 1997. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens—an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*. 6 (6): 457-464 pp.

- Barea M. 1998. *Biología de la rizosfera. Investigación y Ciencia*, (256), 74-81 pp.
- Beaver J. y Osorno J. 2009. *Achievements and limitations of contemporary common bean breeding using conventional and molecular approaches. Euphytica*, 168: 145-175 pp.
- Belmonte S. y Romero D. 1999. *Interceptación en algunas especies del matorral mediterráneo*. Cuadernos de Ecología y Medio Ambiente. Nº 7. Universidad de Murcia. 202 pp.
- Bethlenfalvay G., Liderman R. 1992. Preface. *In Mycorrhizae in sustainable agriculture*. Ed. By G.J. Bethlenfalvay and R. G. Linderman. Madison Wisconsin, USA. ASA Special Publication Number 54: 45-70 pp.
- Borie F., Rubio R y Rouane J. 2003. *Cero labranza y actividad de las micorrizas arbusculares*. En Heredia-Abarca G y Arias-Mota R. *Hongos saprobios y endomicorizógenos en suelos*. 14: 193.213.
- Broughton W. J., Hernandez, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P. y Vanderleyden, J. 2003. *Beans (Phaseolus spp.)—model food legumes. Plant and soil*, 252(1), 55-128 pp.
- Brundrett M, Bougher N., Dell B., Grove T. y Malajczuc N. 1996. Working with Micorrizas in Forestry and Agriculture. ACIAR Monograph. Camberra.
- Cakmak I. 2004. *Identification and correction of widespread zinc deficiency in Turkey a success story*. Proceedings of the International Fertiliser Society 552. International Fertiliser Society, York, UK.
- Cakmak I. 2005. *Zinc para la producción global sustentable de cultivos y mejores dietas nutricionales*. Conferencia del curso internacional de nutrición de cultivos. Intagri.
- Cakmak I. 2008. *Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification?* Plant Soil 302:1–17 pp.
- Camargo R. 2001. *Some Biological Aspects of the Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF)* Boletín de la Sociedad Botánica de México, núm. 68. pp. 15-32 pp.
- IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura). 2009. *Guía técnica para el cultivo de frijol, en los Municipio de Teustepe, Santa Lucía y San Lorenzo, del Departamento de Boaco, Nicaragua*. Santa Lucía. 23 pp.
- Debouck D. 1999. *Diversity in Phaseolus species in relation to the common bean, in: Common Bean Improvement in the Twenty-First Century*, S. P. Singh, ed., Kluwer Academic Publ., Dordrecht, the Netherlands. 25-52 pp.

- De La Fuente M., Borrajo A., Bermúdez J., Lores M., Alonso J., López M. y Alvarez G. 2011. *2-DE-based proteomic analysis of common bean (Phaseolus vulgaris L.) seeds*. *Journal of proteomics*, 74(2), 262-267 pp.
- Fernández G. 1995. *Manual de climatología Aplicada*. Editorial Síntesis. Madrid. 285 pp.
- Finlay R. 2008. *Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium*. *Journal of experimental Botany*, 59(5), 1115-1126 pp.
- Fisher J., Jayachandran K. 2002. *Arbuscular mycorrhizal fungi enhance seedling growth in two endangered plant species from south Florida*. *International Journal of Plant Science* 163:559–566 pp.
- George E. 2000 *Nutrient uptake*. En. *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Eds.: Kapulnik, Y. y D. D. Douds. Kluwer Academic Publishers, Netherlands,
- Gerdemann J. y Nicolson T. 1963. Spores of mycorrhizal Endogene species extracted from soil by wet sieving and *decanting*. *Transactions of the British Mycological Society* 46: 235-244 pp.
- Gepts P. 1998. *Origin and evolution of common bean: Past events and recent trends* *HortScience* 33:1124-1130 pp.
- Glasser B., Haumaier L., Guggenberger G. y Zech W. 2001. *The Terra Preta phenomenon: a model for sustainable agricultura in the humid tropics*. 88, 37-41 pp.
- Glasser B. 2007. *Prehistorically modified soils of central Amazonia: A model for sustainable agricultura in the twenty-firts century*. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 392(1748): 187-196 pp.
- Gliessman R. 2002. *Agroecología; procesos ecológicos en agricultura sostenible*. Turrialba, C.R.: CATIE. Costa Rica. 359 pp.
- González Á. 2009. *Aplicación del medidor portátil de clorofila en programas de mejora de trigo y cebada*. *Agroecología*, 4, 111-116 pp.
- González M., Monroy A., Garcia A. Orozco A. 2005. *Influencia de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) en el desarrollo de plántulas de Opuntia streptacantha Lem sometidas a sequía, en condiciones de invernadero*. *Revista especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 8: 5-10 pp.
- Gummuluru S., Hobbs S., Jana S. 1989. *Physiological responses of drought tolerant and drought susceptible durum wheat genotypes*. *PhotoSynthetica* 23: 479-485 pp.

- Gutiérrez-Rodríguez M., Reynolds M. y Larque-Saavedra A. 2000. *Photosynthesis of wheat in a warm, irrigated environment. II. Traits associated with genetic gains in yield*. Field Crops. 66: 51-62.
- Guttenberger M. 2000. *Arbuscules of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi inhabit an acidic compartment within plant roots*. Springer-Verlag 211(3):299-304 pp.
- Hoorn C., Wesselingh H., Steege M., Bermudez A., Mora J., Sevink I., Sanmartin A., Sanchez-Meseguer C., Anderson J., Figueiredo C., Jaramillo D., Riff F., Negri H., Hooghiemstra J., Lundberg T., Stadler T., Sarkinen y Antonelli A. 2010. *Amazonia through Time: Andean Uplift, Climate Change, Landscape Evolution, and Biodiversity*, Science, 300 (6006): 927-931 pp.
- Hunt R., Shirpley B. y Askew A. 2002. A modern tool for classical plant growth analysis. Annals of Botany 90:485-488 pp.
- Kern D. y Da Costa M. 1997. *Composição química de solos antropogênicos desenvolvidos em Latossolo Amarelo derivados de lateritos*. Geociências, 16(1): 157-175 pp.
- Kern D., y Kampf N. 1989. *Antigos assentamentos indígenas na formação de solos com terra preta arqueológica na região de Oriximiná, Pará*. Revista Brasileira de Ciência do Solo. 13: 219-225 pp.
- Kirkby E. y Römheld V. 2007. *Micronutrientes en la fisiología de las plantas: funciones, absorción y movilidad*. The International Fertilizer Society, New York, N.Y.
- Killmann W., Shaari W., Kikuchi S., Martin F., L Ruberté R. y Mora, R. 1991. *Aspectos técnicos sobre cuarenta y cinco cultivos agrícolas de Costa Rica* (No. 635.0202 K47 1991). Ministerio de Agricultura y Ganadería, San José (Costa Rica). Dirección General de Investigación y Extensión Agrícola. 560 pp.
- Lara F. 2015. *El cultivo del frijol en México*. Revista Digital Universitaria. UNAM. Vol.16, No. 2. Consultado el 23/05/2016 en: <http://www.revista.unam.mx/vol.16/num2/art09/>
- Lehmann J. 2009. *Terra Preta de Indio*. Enciclopedia of Soil Science (2ª ed.). 1-14 pp.
- Lim T. 2012. *Phaseolus vulgaris*. In Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants (815-848 pp). Springer Netherlands.
- Lima H., Schaefer C., Mello J., Gilkes R., y Ker J. 2002. *Pedogenesis and pre-Colombian land use of "Terra Preta Anthrosols" ("Indian black earth") of Western Amazonia*. Geoderma, 110(1), 1-17 pp.
- Lott, J. N. A., Ockenden, I., Raboy, V., and Batten, G. D. 2000. *Phytic acid and phosphorous in crop seeds and fruits: a global estimate*, Seed Sci. Res. 19:11-33 pp.

- Luna C. y Monroy A. 2009. *El efecto de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) sobre el desarrollo de Agave salmiana y Opuntia streptacantha en condiciones de invernadero*. Unidad de investigación en ecología vegetal. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM. México, D.F.
- Maderey R. 2005. *Principios de Hidrografía. Estudio del Ciclo Hidrológico. Serie de textos universitarios*. Instituto de Geografía. UNAM. 1:57-64 pp.
- Manahan S. 2007. *Introducción a la química ambiental*. Universidad Nacional Autónoma de México. Reverté ediciones. 760 pp.
- Mohammadi E., Reaze R., Prasad R. y Varma, A. 2008. *Mycorrhizal fungi: What we know and what should we know?*. En A. Varma. (Ed). Mycorrhiza. Springer, Berlin Heidelberg. 3: 3-27 pp.
- Monroy A. y García S. 2009. *Plantas y hongos micorrizas arbusculares: un mutualismo esencial en zonas semiáridas*, pp 24-35. Unidad de investigación en ecología vegetal. FES Zaragoza, UNAM. México, D.F.
- Montaño A. y Monroy A. 2000. *Conservación ecológica de suelos en zonas áridas y semiáridas en México*. Ciencia y Desarrollo N° 154 Vol. 8. 26-37 pp.
- Morales F. 2006. *Common beans*. In: Loebenstein G, Carr JP, editors. *Natural resistance mechanisms of plants to viruses*. Springer. 367–82 pp.
- Morton, J. 1988. *Taxonomy of VA mycorrhizal fungi: Classification, nomenclature, and identification*. Mycotaxon 32, 267-324 pp.
- Neves E., Petersen J., Bartone R., y Da Silva C. 2003. *Historical and socio-cultural origin of Amazonia Darks Earths. Amazonia Darks Earths: Origin*. The Netherlands, Kluwer Academic Publishers. 29-50 pp.
- Palmer R. y Troeh F. 1979. *Introducción a la ciencia del suelo y manual de laboratorio*. Editor S.A. México.
- Parniske M. 2008. *Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses*. Nature Reviews Microbiology. 6:763-775 pp.
- Peck A., McDonald G. 2010. *Adequate zinc nutrition alleviates the adverse effects of heat stress in bread wheat*. Plant. Soil 337:355–374 pp.
- Peña B. 2002. *Influencia de los Hongos Micorrizogenicos Arbusculares (HMA) en el establecimiento de Mimosa biuncifera Benth, Bajo condiciones de sequía en un invernadero*. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza UNAM, México, D.F. 50-55 pp
- Perfecto I, Vandermeer J. y Wright A. 2009. *Nature's matrix: linking agricultura, conservation and food sovereignty*. London: Earthscan. 357 pp.

- Philips J y Hayman D. 1970. *Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection*. Journal Transactions of the British Mycological Society 55 (1): 158-160 pp.
- Popelka J., Terryn N., y Higgins T. 2004. *Gene technology for grain legumes: can it contribute to the food challenge in developing countries?* Plant Science, 167(2): 195-206 pp.
- Programa de Investigación y Transferencia de Tecnología de Frijol (PITTA). 2001. *Guía de cultivo de frijol (Phaseolus vulgaris L. Leguminosae)*. Ministerio de Agricultura y Ganadería. 11 pp.
- Redecker, D. 2008. Glomeromycota. *Arbuscular mycorrhizal fungi and their relative*. Version 14 January 2008. Consultado el 6 de mayo de 2016 en: <http://tolweb.org/Glomeromycota/2008.01.14>
- Reynolds M., Delgado M., Gutiérrez-Rodríguez M. y Larque-Saavedra A. 2000. *Photosynthesis of wheat in a warm, irrigated environment*. I. Genetic diversity and crop productivity. Field Crops. 66: 37-50.
- Ríos G. 1985. *Laboratorio Integral de Biología IV. Prácticas del módulo de suelo*. Séptimo semestre. Universidad Nacional Autónoma de México. Escuela Nacional de Estudios Superiores Zaragoza.
- Rivera E. y Fernández S. 2003. *Bases científico-técnicas para el manejo de los sistemas agrícolas micorrizados eficientemente*. En "El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible: Estudio de caso El Caribe". Cuba. Ediciones INCA, (Ed) 166 pp.
- Rodríguez H. 2002. *Inducción del enraizamiento en Agave salmiana Otto con Agrobacterium rhizogenes y colonización de raíces transformadas por Glomus intraradicales*. Tesis de Doctorado. Facultad de ciencias biológicas y agropecuarias. Universidad de Colima.
- Rodríguez M., González L., Fernández M., y González G. 2005. *Efectividad de Trichoderma spp. para el control de hongos patógenos de la semilla y el suelo en el cultivo del frijol*. Fitosanidad, 9(1), 37-41 pp.
- Rzedowski J. 1994. *Vegetación de México*. 6ª reimpresión. Ed. Noriega Limusa. México D.F.
- Sanabria C., y Ricaurte J. 2013. *Uso de los suelos antropogénicos amazónicos: Comparación entre comunidades Caboclas e indígenas Tikunas*. Gestion y ambiente, 16(2), 5-18 pp.
- Sanchez O. 1980. *La flora del Valle de México*. Herrero. 6ta edición. México. 519 pp.

- Sieverding E., Friedrichsen J., y Suden W. 1991. *Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems*. Sonderpublikation der GTZ (Germany).
- Smith S. y Read D. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic press, Elsevier. 3d edition. 800 pp.
- Sombroek W., Kern D., Rodrigues T., Cravo M., Jarbas T., Woods W. y Glaser B. 2002. *Terra Preta and Terra Mulata: pre-Columbian Amazon kitchen middens and agricultural fields, their sustainability and their replication*. In 17th World Congress of Soil Science. Bangkok, Thailand.
- Sombroek W., Ruivo M., Fearnside, P., Glaser, B., y Lehmann, J. 2003. *Amazonian Dark Earths as carbon stores and sinks*. In Amazonian Dark Earths: origin, properties and management. Springer Netherlands. 125-139 pp.
- Taiz L. y Zeiger E. 2006. *Fisiología vegetal*. Universitat Jaume I. Publicacions. 3rd ed. 583 pp.
- Tenga A., Marie B., Ormrod P. 1989. *Leaf greenness meter to assess ozone injury to tomato leaves*. HortScience 24: 514 pp.
- Varma A. 1995. *Ecophysiology and application of arbuscular mycorrhizal fungi in arid soils*. En: Varma A, Hock B (eds) Mycorrhiza. Springer-Verlag. Berlin. 734 pp.
- Vibrans H. 2009. *Malezas de México*. Consultado el 12/06/2016 en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/fabacea/phaseolusvulgaris/fichas/ficha.htm#9>
- Woods W., y McCann J. 1999. *The anthropogenic origin and persistence of Amazonia dark earths*. *Yearbook of Latin-América Geographic*, 25: 7-14 pp.
- Woods W., Falcao N., y Teixeira W. 2006. Biochar trials aim to enrich soil for smallholders. *Nature*, 443(7108):144 pp.
- Zech W., Haumaier L. y Hempfling R. 1990. *Ecological aspects of soils organic matter in tropical land use*. In Humic substances in soil and crop sciences. Madison, WI: American Society of Agronomy and soil Science Society of America. 187-202 pp.

10.Anexos

Cobertura

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Tratamiento 1	15	323.24	84.78	0.89	0.1333
Tratamiento 2	14	170.63	68.50	0.84	0.0244
Tratamiento 3	14	234.47	82.34	0.95	0.7196
Tratamiento 4	15	343.99	106.19	0.93	0.5134
Tratamiento 5	13	344.73	95.52	0.92	0.3786
Tratamiento 6	15	373.84	75.98	0.91	0.2943

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Cobertura 1.00		15	323.24	84.78	298.65	37.30	<0.0001
Cobertura 2.00		14	170.63	68.50	176.91		
Cobertura 3.00		14	234.47	82.34	234.15		
Cobertura 4.00		15	343.99	106.19	330.06		
Cobertura 5.00		13	344.73	95.52	330.06		
Cobertura 6.00		15	373.84	75.98	397.61		

Trat.	Ranks	
2.00	14.04	A
3.00	28.57	A
1.00	48.63	B
4.00	52.93	B
5.00	53.58	B
6.00	61.63	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Altura

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Tratamiento 1	15	70.27	41.88	0.87	0.0747
Tratamiento 2	14	49.50	32.88	0.80	0.0049
Tratamiento 3	14	49.14	26.36	0.89	0.1393
Tratamiento 4	15	67.73	43.53	0.88	0.0955
Tratamiento 5	13	73.31	31.26	0.92	0.3960
Tratamiento 6	15	67.60	33.94	0.86	0.0478

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Altura	1.00	15	70.27	41.88	49.00	7.33	0.1971
Altura	2.00	14	49.50	32.88	32.00		
Altura	3.00	14	49.14	26.36	47.00		
Altura	4.00	15	67.73	43.53	58.00		
Altura	5.00	13	73.31	31.26	69.00		
Altura	6.00	15	67.60	33.94	58.00		

Tasa de crecimiento relativo (TCR)

Shapiro Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Tratamiento 1	15	0.01	0.01	0.92	0.3157
Tratamiento 2	14	0.02	0.01	0.00	0.1207
Tratamiento 3	14	0.01	0.01	0.06	0.0607
Tratamiento 4	15	0.01	0.01	0.93	0.5191
Tratamiento 5	15	0.02	0.01	0.96	0.0452
Tratamiento 6	13	0.02	0.01	0.89	0.1952

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
TCR	1.00	15	0.01	0.01	0.01	12.42	0.0294
TCR	2.00	14	0.02	0.01	0.02		
TCR	3.00	14	0.01	0.01	0.02		
TCR	4.00	15	0.01	0.01	0.01		
TCR	5.00	15	0.02	0.01	0.02		
TCR	6.00	13	0.02	0.01	0.02		

Trat. Ranks

1.00	31.87	A
4.00	35.60	A
3.00	40.07	A B
2.00	42.71	A B
5.00	53.70	B
6.00	58.81	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Concentración de clorofila

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Tratamiento 1	16	37.09	2.01	0.93	0.3892
Tratamiento 2	16	41.90	4.79	0.97	0.8778
Tratamiento 3	15	38.84	3.09	0.93	0.4391
Tratamiento 4	16	38.28	3.71	0.91	0.2491
Tratamiento 5	16	39.79	3.23	0.91	0.2562
Tratamiento 6	16	39.05	3.49	0.95	0.7514

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Clorofila	89	0.15	0.10	9.23

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	196.09	5	39.22	3.00	0.0154
Tratamiento	196.09	5	39.22	3.00	0.0154
Error	1084.98	83	13.07		
Total	1201.07	00			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=3.87437

Error: 13.0720 gl: 83

Tratamiento	Medias	n	E.E.
1.00	37.09	15	0.93 A
4.00	38.28	15	0.93 A B
3.00	38.04	14	0.97 A D
6.00	39.05	15	0.93 A B
5.00	39.79	15	0.93 A B
2.00	41.90	15	0.93 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Evapotranspiración real acumulada (ETR)

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Tratamiento 1	15	244.00	14.19	0.81	0.0048
Tratamiento 2	14	245.71	1.44	0.90	0.2050
Tratamiento 3	14	243.14	17.52	0.81	0.0050
Tratamiento 4	15	255.40	8.53	0.92	0.3447
Tratamiento 5	13	254.85	12.03	0.83	0.0222
Tratamiento 6	15	256.27	5.08	0.87	0.0658

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
ETR	1.00	15	244.00	14.19	237.00	23.98	0.0002
ETR	2.00	14	245.71	1.44	245.50		
ETR	3.00	14	243.14	17.52	235.50		
ETR	4.00	15	255.40	8.53	254.00		
ETR	5.00	13	254.85	12.03	258.00		
ETR	6.00	15	256.27	5.08	255.00		

Trat.	Ranks
3.00	28.43 A
2.00	31.25 A
1.00	31.40 A
4.00	55.53 B
5.00	55.81 B
6.00	58.40 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Transpiración

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Tratamiento 1	16	35.00	13.71	0.82	0.0063
Tratamiento 2	15	36.71	1.39	0.91	0.2361
Tratamiento 3	15	34.14	16.88	0.82	0.0079
Tratamiento 4	16	46.40	8.24	0.93	0.4335
Tratamiento 5	14	45.85	11.56	0.84	0.0257
Tratamiento 6	16	47.27	4.91	0.89	0.1200

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Transpiracion	1.00	15	35.00	14.19	28.00	23.98	0.0002
Transpiracion	2.00	14	36.71	1.44	36.50		
Transpiracion	3.00	14	34.14	17.52	26.50		
Transpiracion	4.00	15	46.40	8.53	45.00		
Transpiracion	5.00	13	45.85	12.03	49.00		
Transpiracion	6.00	15	47.27	5.08	46.00		

Trat.	Ranks
3.00	28.43 A
2.00	31.25 A
1.00	31.40 A
4.00	55.53 B
5.00	55.81 B
6.00	58.40 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Potencial Hídrico Foliar (PHF)

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Tratamiento 1	5	0.38	0.16	0.90	0.4805
Tratamiento 2	5	0.29	0.07	0.74	0.0208
Tratamiento 3	5	0.46	0.11	0.86	0.2448
Tratamiento 4	5	0.49	0.05	0.85	0.2275
Tratamiento 5	5	0.54	0.24	0.92	0.6001
Tratamiento 6	5	0.38	0.17	1.00	0.9933

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
PHF	1.00	5	0.38	0.16	0.30	8.55	0.1214
PHF	2.00	5	0.29	0.07	0.25		
PHF	3.00	5	0.46	0.11	0.50		
PHF	4.00	5	0.49	0.05	0.50		
PHF	5.00	5	0.54	0.24	0.55		
PHF	6.00	5	0.38	0.17	0.40		

Número de semillas por tratamiento

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Tratamiento 1	30	30.00	0.00	sd	>0.9999
Tratamiento 2	33	33.00	0.00	sd	>0.9999
Tratamiento 3	35	35.00	0.00	sd	>0.9999
Tratamiento 4	25	25.00	0.00	sd	>0.9999
Tratamiento 5	26	26.00	0.00	sd	>0.9999
Tratamiento 6	26	26.00	0.00	sd	>0.9999

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
No. de semillas	1.00	30	30.00	0.00	30.00	165.50	<0.0001
No. de semillas	2.00	33	33.00	0.00	33.00		
No. de semillas	3.00	35	35.00	0.00	35.00		
No. de semillas	4.00	25	25.00	0.00	25.00		
No. de semillas	5.00	26	26.00	0.00	26.00		
No. de semillas	6.00	26	26.00	0.00	26.00		

Trat. Ranks

4.00	13.00	A
5.00	51.50	B
6.00	51.50	B
1.00	92.50	C
2.00	124.00	D
3.00	158.00	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Longitud de las semillas

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Tratamiento 1	25	11.57	1.29	0.90	0.0671
Tratamiento 2	32	11.76	0.94	0.86	<0.0001
Tratamiento 3	36	9.91	0.58	0.62	<0.0001
Tratamiento 4	13	10.49	0.84	0.94	0.6529
Tratamiento 5	18	9.28	1.81	0.95	0.6322
Tratamiento 6	16	11.31	0.53	0.85	0.0240

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Longitud	1.00	24	11.57	1.32	11.34	66.94	<0.0001
Longitud	2.00	31	11.76	0.96	11.47		
Longitud	3.00	35	9.91	0.59	10.48		
Longitud	4.00	12	10.49	0.88	10.42		
Longitud	5.00	17	9.28	1.87	9.11		
Longitud	6.00	15	11.31	0.55	11.50		

Trat. Ranks

5.00	33.82	A
3.00	36.46	A
4.00	57.54	A
1.00	87.52	B
6.00	91.10	B
2.00	97.95	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Peso de las semillas

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Tratamiento 1	22	0.73	0.05	0.86	0.0080
Tratamiento 2	22	0.59	0.04	0.83	0.0008
Tratamiento 3	22	0.74	0.05	0.86	0.0084
Tratamiento 4	22	0.57	0.01	0.72	<0.0001
Tratamiento 5	22	0.56	0.02	0.75	<0.0001
Tratamiento 6	22	0.57	0.02	0.73	<0.0001

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Peso	1.00	21	0.73	0.05	0.70	85.71	<0.0001
Peso	2.00	21	0.59	0.04	0.60		
Peso	3.00	21	0.74	0.05	0.74		
Peso	4.00	21	0.57	0.01	0.58		
Peso	5.00	21	0.56	0.02	0.57		
Peso	6.00	21	0.57	0.02	0.58		

Trat. Ranks

5.00	35.36	A
6.00	39.67	A
4.00	39.98	A
2.00	55.76	A
1.00	103.52	R
3.00	106.71	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Número de hojas

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Tratamiento 1	6	105.50	40.07	0.97	0.9000
Tratamiento 2	6	81.50	26.56	0.92	0.6048
Tratamiento 3	6	97.50	37.12	0.98	0.9686
Tratamiento 4	6	60.67	22.08	0.94	0.7109
Tratamiento 5	6	88.17	35.05	0.87	0.2758
Tratamiento 6	6	90.67	34.51	0.97	0.9232

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	7142.00	5	1428.40	1.30	0.2905
Tratamiento	7142.00	5	1428.40	1.30	0.2905
Error	32980.00	30	1099.33		
Total	40122.00	35			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=58.22444

Error: 1099.3333 gl: 30

Tratamiento	Medias	n	E.E.
4.00	60.67	6	13.54 A
2.00	81.50	6	13.54 A
5.00	88.17	6	13.54 A
6.00	90.67	6	13.54 A
3.00	97.50	6	13.54 A
1.00	105.50	6	13.54 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)