

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA**



**Efecto del hongo Micorriza y de la bacteria *Rhizobium* en la fijación biológica/simbiótica de nitrógeno atmosférico sobre el potencial forrajero de haba (*Vicia faba* L.) ecotipo Terragona.**

Por:

**RICARDO VALENCIA GUTIÉRREZ**

TESIS

**Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**Torreón, Coahuila, México**

**Noviembre 2021**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

Efecto del hongo Micorriza y de la bacteria *Rhizobium* en la fijación biológica/simbiótica de nitrógeno atmosférico sobre el potencial forrajero de haba (*Vicia faba* L.) ecotipo Terragona

Por:

**RICARDO VALENCIA GUTIÉRREZ**

TESIS


Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:


INGENIERO AGRONOMO

Aprobada por:

  
Ph.D. HÉCTOR MARIO QUIROGA GARZA  
Presidente

  
Ph.D. PEDRO CANO RÍOS  
Vocal

  
ING. HERIBERTO QUIRARTE RAMÍREZ  
Vocal

  
DR. ALEJANDRO MORENO RESENDEZ  
Vocal Suplente

  
DR. ISAIAS DE LA CRUZ ÁLVAREZ  
Coordinador Interino de la División de Carreras Agronómicas

Universidad Autónoma Agraria  
ANTONIO NARRO



COORDINACIÓN DE LA DIVISIÓN  
DE CARRERAS AGRONÓMICAS

Torreón, Coahuila, México  
NOVIEMBRE 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

Efecto del hongo Micorriza y de la bacteria *Rhizobium* en la fijación biológica/simbiótica de nitrógeno atmosférico sobre el potencial forrajero de haba (*Vicia faba* L.) ecotipo Terragona

Por:

**RICARDO VALENCIA GUTIÉRREZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRONOMO**

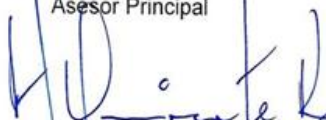
Aprobada por el Comité de Asesoría:



Ph.D. HÉCTOR MARIO QUIROGA GARZA  
Asesor Principal



Ph.D. PEDRO CANO RÍOS  
Coasesor



ING. HERIBERTO QUIRARTE RAMÍREZ  
Coasesor



DR. ALEJANDRO MORENO RESENDEZ  
Coasesor



DR. ISAÍAS DE LA CRUZ ÁLVAREZ  
Coordinador Interino de la División de Carreras Agronómicas

Torreón, Coahuila, México  
NOVIEMBRE 2021

Universidad Autónoma Agraria  
ANTONIO NARRO



COORDINACIÓN DE LA DIVISIÓN  
DE CARRERAS AGRONÓMICAS

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi Alma Terra Mater, la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y al departamento de Fitomejoramiento por brindarme la oportunidad de formar parte de ellos, profesores que son excepcionales que siempre me brindaron parte de su enseñanza.

A todos mis maestros por ser parte esencial en todo el transcurso de mi carrera, por su amistad y confianza que me brindaron.

A mis compañeros y amigos que formaron parte de mi generación de la carrera de Ingeniero Agrónomo por los buenos y difíciles momentos que pasamos durante todo el tiempo de esta carrera.

Me permito mi más grande agradecimiento a todas las personas que me aportaron todo su apoyo en mí para la realización del presente trabajo.

## DEDICATORIAS

**A mis padres,** Pedro Valencia Morfin, María del Socorro Gutiérrez González por brindarme su cariño y atención a si como todo su apoyo incondicional para obtener uno de mis más grandes logros como el poder ser un profesionista.

**A mis hermanos,** Pedro Valencia Gutiérrez, Adriana Valencia Gutiérrez y Jessica Valencia Gutiérrez por apoyarme en todo el transcurso de mi carrera profesional.

**A mi tío,** Eliseo Valencia Morfin por brindarme su apoyo en todo momento y motivarme para finalizar mi carrera.

**A mi asesor,** Dr. Héctor Mario Quiroga Garza por brindarme su apoyo como asesor en todo el transcurso del semestre y ayudarme en todo momento con los trabajos teóricos y prácticos.

**A mi comité de asesores,** Al Ing. Heriberto Quirarte Ramírez, al Dr. Alejandro Moreno Reséndez y al Dr. Pedro Cano Ríos, por la confianza que me tuvieron para realizar este trabajo de investigación y por su apoyo para el desarrollo del mismo.

## RESUMEN

El haba hoy en día es de importancia social y económica en el sur de México, pudiéndose consumir su grano en verde o bien en seco, o la planta completa como forraje, también verde o seca, para el consumo animal. Es una leguminosa que posee cualidades importantes como la fijación biológica y simbiótica de nitrógeno atmosférico, alto contenido proteico, lo que la convierte en una excelente opción para su explotación en los suelos marginales de los valles altos del Centro de México, dejando residuos e importantes cantidades de nitrógeno residual para el cultivo en rotación. El presente estudio se realizó con el propósito de determinar los efectos que presenta el hongo micorriza (*Glomus intrarradices*) y la bacteria del género *Rhizobium* en el comportamiento forrajero del haba. El estudio se estableció el 27 de octubre de 2019 en condiciones de invernadero en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, Torreón, Coahuila, México. Se utilizó semilla de haba del ecotipo "Terragona". Se estudiaron dos factores: con y sin micorriza, y siete niveles de *Rhizobium*, tres suelos que contienen cepas de *Rhizobium*, dos inoculantes comerciales que contienen *Rhizobium leguminosarum* fabricados en diferente año (2017 y 2019), una fuente de nitrógeno químico (sulfato de amonio) y una última donde se utilizó un testigo (0-0). El diseño experimental utilizado fue con una distribución de los tratamientos en bloques al azar con un arreglo bifactorial con cuatro repeticiones. Se realizaron análisis de dieciséis variables, de las cuales solo en proteína cruda en tallo ( $\text{g kg}^{-1}$ ) se encontró diferencia estadística ( $P \leq 0.01$ ), teniendo los mejores resultados sin el uso de micorriza con un valor de  $215.5 \text{ g kg}^{-1}$ ,  $186.9 \text{ g kg}^{-1}$  para la fuente del *Rhizobium* proveniente del suelo del predio "La Cuchilla" y  $171.7 \text{ g kg}^{-1}$  para la fuente del suelo del predio "La Parcela".

**PALABRAS CLAVE:** Proteína cruda, Biomasa, Producción, Materia seca, Leguminosa.

# ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIAS.....	ii
RESUMEN.....	iii
ÍNDICE DE CONTENIDO .....	iv
ÍNDICE DE CUADROS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	viii
I. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 OBJETIVO.....	3
1.2 HIPOTESIS .....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Importancia del haba ( <i>Vicia faba</i> L.) .....	4
2.1.1 Características taxonómicas del haba ( <i>Vicia faba</i> L.).....	5
2.1.2 Características del haba ( <i>Vicia faba</i> L.) .....	6
2.1.3 Morfología del haba ( <i>Vicia faba</i> L.) .....	7
2.1.4 <i>Vicia faba</i> L. como cultivo forrajero .....	7
2.1.5 Fijación biológica del nitrógeno atmosférico.....	8
2.1.6 Interacción del haba con microorganismos .....	9
2.2 Hongos Micorrícicos .....	9
2.3 Bacterias del género <i>Rizhobium</i> .....	11
2.4 Sulfato de amonio (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	12
3.1 Localización geográfica del área.....	12
3.2.1 Procedimiento.....	13
3.2.2 Semilla e inoculante de <i>Rhizobium</i> .....	13
3.3 Distribución de los tratamientos en la investigación .....	15
3.4 Inoculación de la semilla .....	16
3.5 Aplicación de ácido fosfórico en las macetas .....	16

3.6 Control de plagas.....	17
3.7 Tutorado de las plantas .....	17
3.7.1 Muestreo altura, peso seco y peso verde de las plantas.....	18
3.8 Cosecha de las plantas.....	18
3.8.1 Molida de las muestras .....	19
3.8.2 Análisis y medidas de las muestras .....	19
3.8.3 Pasos para el análisis de las muestras .....	19
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	21
4.1 Peso verde y seco en los diferentes órganos de la planta (tallo y hoja) .....	21
4.2 Altura de la Planta .....	21
4.3 Contenido de materia seca en tallo y hoja .....	22
4.4 Contenido de proteína cruda total de la planta e individual tallo y hoja .....	22
α altamente significativa ( $P \leq 0.01$ ) .....	23
♦ Medias con la misma literal son estadísticamente iguales .....	23
4.5 Producción de Proteína Cruda en tallo y en hoja ( $\text{g maceta}^{-1}$ ) .....	24
4.6 Peso verde, seco y materia seca total de la planta .....	24
4.7 Proteína cruda total ( $\text{g kg}^{-1}$ ) .....	25
V. CONCLUSIÓN.....	26
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	27
VII. ANEXOS .....	39



## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Características físico químicas del suelo utilizado para el llenado de las macetas. UAAAN-UL .....	13
<b>Cuadro 2.</b> Tratamientos y niveles aplicados .....	14
<b>Cuadro 3.</b> Distribución de los tratamientos .....	15
<b>Cuadro 4.</b> Valores promedios obtenidos en la proteína cruda total presente en la planta.....	22
<b>Cuadro 5.</b> Valores promedios obtenidos en la proteína cruda presente en tallo .....	24
<b>Cuadro 6.</b> Valores promedios obtenidos de la materia seca total de la planta.....	25

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Plagas más comunes que dañan al cultivo de haba ( <i>Vicia faba</i> L.) en algunas comunidades de Puebla y Tlaxcala, México..	4
<b>Figura 2.</b>	Enfermedades más comunes que dañan al cultivo de haba ( <i>Vicia faba</i> L.) en algunas comunidades de Puebla y Tlaxcala, México.....	5
<b>Figura 3.</b>	Ubicación geográfica de la universidad UAAAN-UL. Y de los invernaderos ubicados en la misma. ....	12
<b>Figura 4.</b>	Invernadero de la UAAAN-UL tipo túnel donde se desarrolló el estudio .	12
<b>Figura 5.</b>	Distribución de los tratamientos en invernadero antes de la emergencia y después de la emergencia. ....	16
<b>Figura 6.</b>	Insecticida orgánico DOUBLE KO y Pulgón negro ( <i>Aphis fabae</i> ) en haba. ....	17
<b>Figura 7.</b>	Sistema de tutoreo en las plantas de haba.....	17
<b>Figura 8.</b>	Presencia de nódulos en las raíces por bacterias de <i>Rhizobium</i> y raíces sin presencia de nódulos.....	18
<b>Figura 9.</b>	Molino y motors US <sup>®</sup> que se utilizó para la molienda de las muestras, junto con una criba del número 40. ....	19
<b>Figura 10.</b>	Micro kjeldahl Labconco <sup>®</sup> para la destilación de cada una de las muestras. ....	20
<b>Figura 11.</b>	Nódulo con presencia activa de bacteria <i>Rhizobium</i> y raíz con nódulos..	25

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Cuadro A-1:</b> Análisis de Varianza ANVA resultado en Peso Verde del Tallo (g) .....	39
<b>Cuadro A-2:</b> Análisis de Varianza ANVA resultados en Peso Seco del Tallo (g) .....	39
<b>Cuadro A-3:</b> Análisis de Varianza ANVA resultados en Peso Verde de la Hoja (g) ..	40
<b>Cuadro A-4:</b> Análisis de Varianza ANVA resultados en Peso Seco de la Hoja (g) ...	40
<b>Cuadro A-5:</b> Análisis de varianza ANVA resultados en la altura de las plantas (cm)	41
<b>Cuadro A-6:</b> Análisis de Varianza ANVA resultados en la Materia Seca del Tallo (g kg <sup>-1</sup> ) .....	41
<b>Cuadro A-7:</b> Análisis de Varianza ANVA resultados en la Materia Seca de la Hoja (g kg <sup>-1</sup> ) .....	42
<b>Cuadro A-8:</b> Análisis de Varianza ANVA resultados para la Proteína Cruda del Tallo (g kg <sup>-1</sup> ) .....	42
<b>Cuadro A-9:</b> Análisis de Varianza ANVA resultados para la Proteína Cruda de la Hoja (g kg <sup>-1</sup> ) .....	43
<b>Cuadro A-10:</b> Análisis de Varianza ANVA resultados para la Proteína Cruda del Tallo (g) .....	43
<b>Cuadro A-11:</b> Análisis de Varianza ANVA resultado para la Proteína Cruda de la Hoja (g) .....	44
<b>Cuadro A-12:</b> Análisis de Varianza ANVA resultados para la Proteína Cruda Total (g) .....	44
<b>Cuadro A-13:</b> Análisis de Varianza ANVA resultados para el Peso Verde Total (g) ..	45
<b>Cuadro A-14:</b> Análisis de Varianza ANVA resultados para el Peso Seco Total (g) ..	45
<b>Cuadro A-15:</b> Análisis de Varianza ANVA resultados para la Materia Seca Total ....	46
<b>Cuadro A-16:</b> Análisis de Varianza ANVA resultados para la proteína cruda total (g kg <sup>-1</sup> ) .....	46

## I. INTRODUCCIÓN

China es considerado como el origen geográfico del haba (*Vicia faba* L.), ya que las primeras descripciones de la planta fueron hechas en China (100 A.C.) y posteriormente en Japón (700 D.C.) (Horque, 2004). El haba (*Vicia faba* L.), es un cultivo que se explota con la utilización limitada de insumos. En México se han sembrado en los últimos cinco años (2013 a 2017) una superficie de entre 32,000 a 42,000 ha al año. Los estados con mayor superficie establecida son: Puebla con 20,285 ha; Veracruz con 6,127 ha; Edo. México con 5,797 ha y Tlaxcala con 3,930 ha. (SIAP, 2017).

Después del agua, el nitrógeno es uno de los factores más limitantes para promover el desarrollo de las plantas, lo anterior a pesar de ser el elemento más abundante en la atmósfera terrestre ( $N_2$ ). La fijación del nitrógeno atmosférico al año se estima en unos 275 millones de toneladas métricas así mismo por medio de fijación simbiótica se fijan 140 millones de toneladas y 105 millones de tonelada son fijadas por parte de diferentes organismos de importancia para la agricultura como bacterias y hongos (Mercedes, *et al.*, 2002). El nitrógeno es uno de los elementos más importantes para la vida de los seres vivos, la fijación biológica del nitrógeno (FBN) la realizan bacterias del género *Rhizobium*, siendo el grupo más importante en la fijación del nitrógeno (García, 2017).

Las bacterias del género *Rhizobium* en su relación con la planta, forman una estructura en la raíz en forma de abultamientos o nódulos, estructura donde se aloja la bacteria y la aísla del contacto directo con el  $O_2$ . La interacción entre la bacteria y la planta es simbiótica, beneficiándose mutuamente, por parte de la bacteria, fijando el nitrógeno atmosférico e integrándolo a la planta, mientras que la planta le proporciona un refugio y un ambiente adecuado para un correcto desarrollo del microorganismo (Hernández, *et al.*, 2015). Dentro de los microorganismos de mayor importancia y uso se tienen a los hongos micorrícicos. La planta le proporciona al hongo simbionte compuestos de carbono que vienen de la fotosíntesis de la planta. La función del hongo

depende del micelio; el cual es el encargado de infectar la raíz, colonizándola junto con las células corticales, donde el hongo formara ramificaciones intracelulares denominadas arbusculos; con el objetivo de llevar acabo el intercambio de metabolitos con la planta. Un porcentaje entre el 85-95% de las especies vegetales permanecen en función simbiótica con hongos del suelo (Molina, 2005).

Con base a lo anterior se planteó el siguiente trabajo sobre los efectos de los hongos micorrícicos y de las bacterias del género *Rhizobium* en la fijación simbiótica del nitrógeno atmosférico y sus efectos sobre la calidad y producción forrajera en haba utilizando el ecotipo "Terragona".

## **1.1 OBJETIVO**

Determinar los efectos de los hongos micorrícicos y de las bacterias del género *Rhizobium*, en la fijación del nitrógeno atmosférico y el comportamiento forrajero del haba, para mejorar su productividad.

## **1.2 HIPOTESIS**

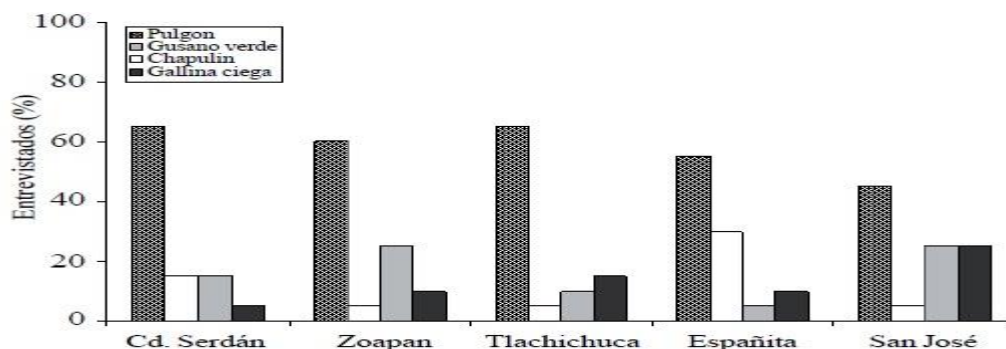
Con la utilización de inóculos de bacterias y hongos se logrará una mejor respuesta en la producción y calidad de forraje del cultivo de haba, aprovechando la interacción simbiótica entre los tres organismos.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

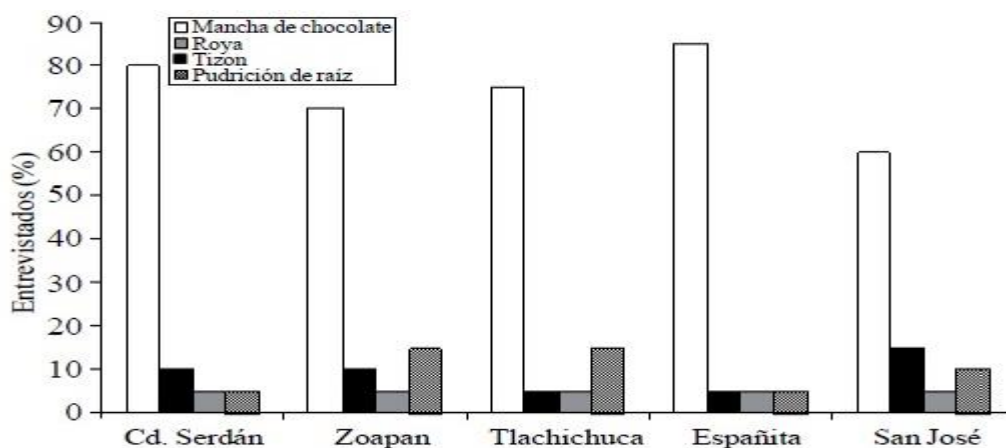
### 2.1 Importancia del haba (*Vicia faba L.*)

El cultivo del haba es de importancia en la alimentación humana y animal, dado que el contenido proteico del haba (23%) es superior al del maíz (8%), trigo (11%) y semejante al del frijol (20%) (Pérez, et al., 2015). El cultivo de haba es utilizado en México para consumo humano, utilizando la vaina verde como verdura, o el grano seco; y también se utiliza para el consumo animal. Es explotado principalmente por productores de bajos ingresos, en los valles altos del centro de México; ya que son pocos los insumos que se requieren. Los suelos de esos valles son de características variables en origen geológico y texturas, sin embargo, en general son de bajo potencial productivo y pobres en sus contenidos de nitrógeno y fósforo (Crispín, *et al.*, 1978).

El haba es reportada con un alto contenido de proteína, pero el cultivo no se ha desarrollado a gran escala dado que su consumo es mínimo (0.552 kg per cápita) puesto que su siembra se establece en pocas regiones. Ésta especie tiene gran importancia social y económica en los estados de Puebla, México, Tlaxcala, Veracruz y Michoacán, donde ocupa cerca de 90% de la superficie total, se siembra en condiciones de temporal y algunas de las plagas de mayor importancia que dañan al cultivo en estas regiones son: pulgón, gusano verde y enfermedades como mancha del chocolate y roya (Figura 1 y 2) (Orozco, 2013).



**Figura 1.** Plagas más comunes que dañan al cultivo de haba (*Vicia faba L.*) en algunas comunidades de Puebla y Tlaxcala, México. Rojas, T. J. et al., 2012.



**Figura 2.** Enfermedades más comunes que dañan al cultivo de haba (*Vicia faba* L.) en algunas comunidades de Puebla y Tlaxcala, México. Rojas, T. J. et al., 2012.

### 2.1.1 Características taxonómicas del haba (*Vicia faba* L.)

Rojas (2001), clasifica taxonómicamente al cultivo de haba como:

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Subfamilia: Papilionoideas

Tribu: Viceae

Género: *Vicia*

Especie: faba



La cosecha o recolección de vainas en verde es de manera manual; en cambio sí es en seco puede recolectarse de forma mecánica. Después de la cosecha la selección de la semilla es de forma manual siendo la sanidad de la misma el punto más importante debido a que se garantiza una mejor germinación y mayor confianza en el consumo, el tamaño de la semilla proporciona mejor homogeneidad de las poblaciones (Díaz, *et al.*, 2004).

### **2.1.2 Características del haba (*Vicia faba* L.)**

La familia de las leguminosas es uno de los grupos botánicos más amplios, formados por unos 678 géneros y aproximadamente 18,000 especies. Su importancia económica es muy alta en regiones templadas, tropicales y subtropicales ya que se incluye en la alimentación humana (Jordán, *et al.*, 2020).

El haba (*Vicia faba* L.) es una leguminosa utilizada como alimento humano y como forraje para animales en algunos países incluido México, siendo la semilla el órgano de mayor importancia por el consumo en seco o fresco, el resto de la planta siendo utilizada como forraje para el consumo animal (Guadarrama, *et al.*, 2007).

El haba puede establecerse casi en cualquier tipo de suelo, aunque se establece mejor en suelos arcillosos ricos en humus, profundos y suficiente materia orgánica con un pH entre 7.3 y 8.2, tolerante a la salinidad (2.0 dS m<sup>-1</sup> valor tolerado donde puede desarrollarse y 6.8 dS m<sup>-1</sup> valor crítico) (Leiva, 2017). Mejor adaptada a climas templados, para rendimiento en vaina o en grano seco (INIA, 2012). El desarrollo del haba en sus primeros estadios (preemergencia) es de manera pausada debido al poco contacto con la humedad (Aldana, 2010).

### **2.1.3 Morfología del haba (*Vicia faba* L.)**

La planta de haba perteneciente a la familia de las leguminosas, con un tallo recto, raíz principal pivotantes, inflorescencia agrupadas en cortos racimos axilares, frutos con características variables que puede alcanzar hasta aproximadamente 35 cm y el número de granos o habas varía entre 2 y 9 por vaina; la coloración de la semilla en estado tierno verde amarillento y en maduración (seca) varia de amarillo a café oscuro. Su ciclo fenológico desde la plantación hasta la maduración de la semilla es de entre 190 y 200 días (SIAP, 2019).

### **2.1.4 *Vicia faba* L. como cultivo forrajero**

La planta de haba dentro de las fabáceas de grano ocupa el tercer lugar a nivel nacional, por su rendimiento; importancia social, económica y medicinal, entre los productores de los Valles Altos como son Morelos, Hidalgo, Puebla y Tlaxcala (Pichardo, et al., 2013). Esta leguminosa es utilizada tanto para la alimentación humana como ganadera (Confalone, et al., 2011). En Zaragoza, Puebla, la producción de haba en vaina se estima en aproximadamente 0.44 t ha<sup>-1</sup> (Estrada, et al., 2017). Cumpliendo una demanda de abastecimiento de alimento en fresco o bien de manera seca, de modo que proporciona una sustentabilidad económica a los productores de esas zonas agrícolas (Díaz, 2008).

Las leguminosas han aumentado su uso en el sector ganadero gracias a su contenido proteico y a su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (Lok, et al., 2017), debido a esto, es una alternativa en la alimentación de rumiantes como ensilaje y como fuente de energía (Nieto, et al., 2020), siendo además de fácil manejo al momento del ensilaje (Benaouda, et al., 2013).

### 2.1.5 Fijación biológica del nitrógeno atmosférico

Las bacterias diazotrofas utilizan la enzima nitrogenasa para romper el triple enlace del N molecular, modificarlo a  $\text{NH}_4$  y así formar las moléculas orgánicas referidas con anterioridad (Troncoso, *et al.*, 2013). Algunos agentes bióticos y abióticos que provocan una disminución en la producción son: agentes patógenos, insectos dañinos, escases de agua y una mala nutrición (Vela, *et al.*, 2018). El nitrógeno atmosférico ( $\text{N}_2$ ) es el gas más abundante en la atmósfera terrestre, ya que representa el 79 % del total de gases en la atmosfera (Cuadrado, *et al.*, 2009). La fijación de  $\text{N}_2$  se entiende como la oxidación y/o reducción del  $\text{N}_2$ , para la formación de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) e incorporado a moléculas orgánicas para formar Ureidos, Amidas y Aminas. Esta fijación biológica y simbiótica del nitrógeno se realiza con ayuda de microorganismos como: hongos micorrícicos y bacterias del género *Rhizobium*, que aprovechan directamente del nitrógeno presente en el aire (Calvo, 2004).

El manejo de especies fijadoras de  $\text{N}_2$  en los sistemas agrícolas disminuye las necesidades costosas de fertilizantes químicos nitrogenados, mejorando ciertas condiciones del suelo, evitando también la contaminación de agua y suelos con nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ). Una manera de aportar nitrógeno a los sistemas agrícolas, es con el uso de cultivos que establezcan simbiosis con bacterias fijadoras de  $\text{N}_2$  presentes en el suelo (Martin, *et al.*, 2017).

La simbiosis leguminosa-*Rhizobium* es un proceso biológico con la capacidad de convertir el  $\text{N}_2$ , en amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) aprovechable para las plantas y animales. Las bacterias de los nódulos reducen entre un 50 y 70 % del nitrógeno fijado de manera biológica en el mundo y aporta aproximadamente un 65 % de nitrógeno para la agricultura (López, *et al.*, 2021).

### 2.1.6 Interacción del haba con microorganismos

El haba, al ser una leguminosa, establece una relación simbiótica con bacterias del género *Rhizobium*, por lo que, puede prescindir de la aplicación de fertilizantes químicos nitrogenados. El haba establece simbiosis con varios géneros de la bacteria *Rhizobium*; pero el género que mejor trabaja es *Rhizobium leguminosarum* bv *Viciae*. Algunas otras biovariedades con las que se establece la simbiosis son: *fabae*, *laguerrereae* y *etli*; pero con menor efectividad (Youseif, *et al.*, 2017).

Para que haya una relación simbiótica deben de ocurrir una serie de etapas: multiplicación de las bacterias en la rizosfera, colonización de la rizosfera, adsorción de las bacterias en la raíz, ensortijamiento de los pelos radiculares, formación de hifas en zonas intercelulares de infección, crecimiento de hifas de infección hacia las células corticales de la raíz, diferenciación tisular y desarrollo del nódulo (Mayz, 2004).

En haba, con la inoculación de bacterias fijadoras de nitrógeno (BFN) y hongos micorrizicos arbusculares (HMA) se aumenta el desarrollo de la planta aumentando el contenido y producción de materia seca; al igual que el contenido de nitrógeno (Harris, *et al.*, 2019).

## 2.2 Hongos Micorrícicos

La micorriza (*myces*, hongo y *rhyza*, raíz), son asociaciones entre hongos (micobiontes) y las raíces de las plantas. El termino micorriza fue utilizado por Frank, patólogo forestal alemán en 1877, al investigar las raíces de árboles forestales (Camargo, *et al.*, 2012). La unión de hongo y planta llamada simbiosis “micorrícica” es una de las relaciones más antiguas entre dos organismos vivos que se conoce (Seguel, 2014).

Los hongos del suelo que se asocian simbióticamente con las plantas (raíces), se conocen como micorriza, (Hidalgo, 2019). Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) son característicos por desarrollar crecimientos intra e intercelulares, en parte

de la corteza de la raíz; y por su formación de dos tipos de estructuras reproductivas: arbusculos y vesículas. El hongo crece en el suelo hasta que entra en contacto con la raíz de la planta, formando un apresorio de donde se desarrollan las hifas hacia las células corticales de la raíz, para la formación de los arbusculos e incrementar el área de contacto entre la raíz y el hongo (Barrer, 2009). Así la planta podrá obtener, vía las hifas del hongo: agua y nutrimentos del suelo (Garzón, 2016). Así mismo, los HMA facilitan la absorción y posterior asimilación del fósforo, acelerado el desarrollo del cultivo y protegen a la planta contra microorganismos infecciosos (Orozco, et al. 2016) y tolerancia al déficit de agua (Montaño, *et al.*, 2010).

Estos hongos menores formadores de endomicorrizas versículo arbusculares son del grupo de las glomales (Zyngomycetes) con seis géneros y varias especies distribuidas, siendo todos simbióticos. Los arbusculos de las endomicorrizas contienen estructuras ramificadas intracelulares, ubicadas en las células del cilindro vascular siendo su función la absorción de nutrientes que se encuentran presentes en el suelo (Noda, 2009).

Salamanca, (1998) menciona que la simbiosis de planta y HMA es mutua y necesaria, más que nada para el hongo por lo que toma los fotosintatos del huésped, así como algunos micronutrientes como el Zn, Cu, B y Mo son absorbidos por las hifas de los HMA y trasladados a la planta. Se prevé que el hongo necesita del 1 al 17% de los carbohidratos de la planta para el incremento de biomasa de las raíces, así como su desarrollo y funcionalidad.

### 2.3 Bacterias del género *Rhizobium*

Estas bacterias del género *Rhizobium* son promotoras del crecimiento de la raíz y del follaje de las plantas. También se le atribuyen propiedades fungicidas, y fijación del nitrógeno; además de la síntesis de hormonas, enzimas, sideroforos, y la solubilización de fosfatos (Santillana, 2005). La simbiosis entre la planta y el *Rhizobium* está sujeta a varios factores como la temperatura y la nutrición de la planta. (Ferrera, *et al.*, 2001).

Esta bacteria posee la capacidad de formar nódulos como otras leguminosas: lenteja, arveja (chícharo) y haba (Moreno, *et al.*, 2016). La bacteria interactúa en las raíces de la leguminosa formando estructuras especializadas llamadas nódulos, donde la bacteria transforma el nitrógeno atmosférico ( $N_2$ ) a formas disponibles para la planta, como aminoácidos que son fácilmente asimilables por las especies vegetales. A la interacción leguminosa- *Rhizobium* se le estima una capacidad de fijación del nitrógeno de 24 a 584 kg ha<sup>-1</sup>, teniendo una capacidad de abastecer hasta 90% de las necesidades de las plantas. La bacteria es un bacilo móvil gram negativo, flagelado (1 a 6 flagelos) de 0.5-0.9 x 1.2-3.0  $\mu\text{m}$ , pueden ser peritricas (bacterias con flagelos distribuidos en toda su superficie) o subpolares (flagelos en el margen de la bacteria) (López, *et al.*, 2017).

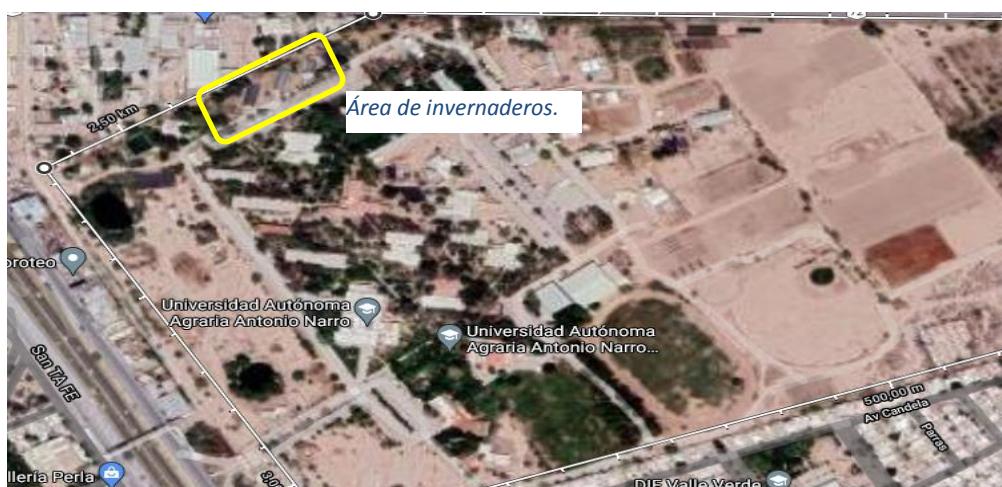
### 2.4 Sulfato de amonio $(NH_4)_2SO_4$

El  $(NH_4)_2SO_4$  es una fuente soluble del N de menor densidad, incluye primeramente amonio ( $NH_4^+$ ) y sulfato ( $SO_4^{2-}$ ), con un pH ácido. Se suministra al suelo de manera directa, en cultivos forrajeros (haba, maíz, pastos, trigo, cebada, etc.) es una fuente de fertilización ampliamente utilizada (Baffa, *et al.*, 2017; Cerdas, 2011). Otra fuente de N muy utilizada comercialmente, es el gas amonio o amoniaco anhidro (Miyares, *et al.*, 2015).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Localización geográfica del área

El presente estudio se llevó a cabo en terrenos e invernaderos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna (UAAAN-UL), ubicada en el predio San Antonio de los Bravos, del municipio de Torreón, en el suroeste del estado de Coahuila, México, ( $25^{\circ}33'09''\text{N}$   $103^{\circ}22'25''\text{W}$ , y una altura de 1,120 msnm).



**Figura 3.** Ubicación geográfica de la universidad UAAAN-UL. Y de los invernaderos ubicados en la misma.



**Figura 4.** Invernadero de la UAAAN-UL tipo túnel donde se desarrolló el estudio.

### 3.2.1 Procedimiento

#### 3.2.2 Semilla e inoculante de *Rhizobium*

De la localidad de Orilla del Monte, Jalacingo, Veracruz, se obtuvo semilla del ecotipo de haba "Terrgona" (19° 39' 47" N y -97° 17' 39" O, con altura sobre el nivel medio del mar de 2,472 a 2,485 msnmm), y tres suelos de predios cercanos, que se han destinado por varios años a la siembra y producción de haba de bajos insumos. Los suelos de los tres predios fueron utilizados como fuentes independientes del inoculo natural de la bacteria *Rhizobium*. El estudio se estableció en macetas, el 27 de octubre de 2019, aplicando un riego con agua corriente) y un volumen suficiente como para humedecer todo el perfil de las macetas. Las macetas consistieron en bolsas de plástico de 0.23 m de diámetro (0.0415 m<sup>2</sup>) y una altura de 0.30 m (0.01245 m<sup>3</sup>), las que fueron llenadas con suelo del área agrícola de la Universidad (3 kg aproximadamente maceta<sup>-1</sup>), cuyas propiedades físico químicas se detallan en el Cuadro 1. Las macetas para el estudio se colocaron en un invernadero; enfriado por medio de una pared húmeda equipado con abanicos extractores, ubicados al extremo contrario de la pared húmeda, y fueron controlados con sensores de temperatura.

**Cuadro 1.** Características físico químicas del suelo utilizado para el llenado de las macetas. UAAAN-UL

pH <sup>†</sup>	Salinidad CE mS/cm	N Total (%)	Arena (%)	Limo (%)	Arcilla (%)	TEXTURA
7.7	4.09	0.118	43.84	20.88	16.00	Franco

† pH = Potencial de Hidrógeno, CE = Conductividad eléctrica, N = Nitrógeno.



Se estudiaron la presencia y ausencia de micorrizas; así como diferentes fuentes o inoculantes de la bacteria *Rhizobium* y/o fuentes de N. Se utilizó: el ecotipo de haba “Terragona”, a la cual se la aplicaron los niveles de los factores: A) con y sin Micorriza, aplicando el equivalente de 0.5 kg del inóculo para 25 kg de semilla; y B) cinco fuentes de inoculantes de la bacteria, aplicando el equivalente de 170 g del inoculante de la bacteria para 25 kg de semilla, sulfato de amonio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $(60 \text{ kg ha}^{-1})$  o fuentes de N, y un tratamiento sin inoculante, sin hongo y sin fertilizante N. Todas las macetas fueron fertilizadas con el equivalente a  $60 \text{ kg N ha}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Los tratamientos fueron distribuidos en bloques al azar (la temperatura fue el gradiente de distribución), con cuatro repeticiones y con un arreglo bifactorial  $(2 \times 7)$  de los tratamientos (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Tratamientos y niveles aplicados

Factor	Niveles
Micorriza ( <i>Glomus intraradice</i> )	a1) Con a2) Sin
Fuente de N “inoculantes” para <i>Rhizobium</i>	b1) Suelo del predio “San Ángel” † b2) Suelo del predio “Cuchilla” b3) Suelo del predio “Parcela” b4) Inoculante comercial 1 ± b5) Inoculante comercial 2 b6) Sulfato de amonio § b7) Nada

† Suelo de los predios con cepas de *Rhizobium leguminosarum* 1) “San Ángel”, 2) “Cuchilla” y 3) “Parcela”.

± Inoculante 1, envasado en 2017 que contiene las bacterias *Rhizobium leguminosarum* biovar *viceae* y 2, envasado en 2019 que contiene las bacterias *Rhizobium leguminosarum* biovar *viceae* y *phaseoli* además de *Bradyrhizobium japonicum*.

§  $60 \text{ kg N ha}^{-1}$   $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

### 3.3 Distribución de los tratamientos en la investigación

**Cuadro 3.** Distribución de los tratamientos

	R1	R2	R3	R4	
	22 <sup>†</sup>	17	16	12	Extractor
	13	16	17	27	
	25	25	24	11	
	12	12	15	24	
Pared húmeda	11	15	27	22	Puerta de acceso
	14	26	25	21	
	23	27	23	25	
	27	11	11	15	
	16	13	14	14	
	26	21	12	17	
	15	22	21	13	
	21	24	13	16	Extractor
	17	23	26	23	
	24	14	22	26	

<sup>†</sup> Tratamiento primer dígito (1 con micorriza, 2 sin micorriza), segundo dígito (1 suelo A, 2 suelo B, 3 suelo C, 4 inoculante comercial 2017, 5 inoculante comercial 2019, 6 sulfato de amonio y 7 testigo sin inoculante, sin *Rhizobium*, sin micorriza, sin fertilizante ceroabsoluto)



**Figura 5.** Distribución de los tratamientos en invernadero antes de la emergencia y después de la emergencia.

### 3.4 Inoculación de la semilla

Se sembraron tres semillas por maceta. Para la inoculación de la semilla de haba, se utilizó un equivalente de 1 kg del inoculante  $\text{ha}^{-1}$  de micorriza. Se pusieron a remojar semillas de haba en una solución de agua azucarada, retirándose la solución de azúcar y espolvoreando el inoculante (suelos nativos o inoculantes comerciales) sobre las semillas “húmedas”. La semilla se dejó orear durante toda la noche, para el siguiente día realizar la siembra manual. La semilla y el inoculante se mantuvieron alejados del sol en todo momento.

### 3.5 Aplicación de ácido fosfórico en las macetas

Para la aplicación de ácido fosfórico (53%) se procedió a calcular el área de cada una de las macetas 0.23 m de diámetro ( $0.0415 \text{ m}^2$ ), mezclando 52 ml de ácido fosfórico en un volumen de 8.5 litros de agua y aplicando una cantidad de 50 ml de la mezcla en cada una de las macetas para una dosis equivalente a:  $60 \text{ kg P}_2\text{O}_5 \text{ ha}^{-1}$  (Quiroga, *et al.*, 1991).

### 3.6 Control de plagas

Para el control de plagas que se presentaron en el cultivo, como fue la presencia de pulgón negro (*Aphis fabae*) en el envés de la hoja y en las puntas de crecimiento, antes de la floración, con ayuda de un insecticida orgánico DOUBLE KO a base de canela (*Cinnamomun zeylanicum*) al 10 % y extracto de Neem (*Azadirachta indica*) al 10 %, con una dosis equivalente de 500 ml ha<sup>-1</sup>.



**Figura 6.** Insecticida orgánico DOUBLE KO y Pulgón negro (*Aphis fabae*) en haba.

### 3.7 Tutorado de las plantas

Debido a que las plantas crecieron en invernadero, estas crecieron más de lo normal, por lo que se tuvo que realizar un tutorado de las plantas; utilizando rafia (5 niveles con una separación de 25 cm, con doble hilo) y dos estacas de madera fijadas en botes con cemento en cada extremo de cada una de las repeticiones, esto para evitar que las plantas se cayeran.



**Figura 7.** Sistema de tutorado en las plantas de haba.

### 3.7.1 Muestreo altura, peso seco y peso verde de las plantas

La altura de las plantas se obtuvo con ayuda de una cinta métrica (5 m), tomando la medida de cada una de las tres plantas por maceta. La cosecha se realizó el 20 de enero de 2020, 85 dds. Se registró el peso verde de las tres plantas de la maceta, con una báscula digital Santul® (capacidad 1g a 5,000g /0.1 oz a 117oz), separando la planta en sus componentes (tallo y hojas), para obtener el peso seco de la planta (tallos y hojas), las muestras se pusieron en bolsas de papel, se introdujeron en un horno eléctrico (Talisa®) a una temperatura de 65°C por un tiempo de 72 horas de secado.

### 3.8 Cosecha de las plantas

La cosecha de las plantas se realizó con ayuda de unas tijeras, cortando y separando hojas y tallo (cortándolo en trozos pequeños), al igual colocándolas por separado en bolsas de papel previamente etiquetadas con la información correspondiente y perforadas para que hubiera flujo del aire. Siempre cuidando que no hubiera contaminación entre las muestras.



**Figura 8.** Presencia de nódulos en las raíces por bacterias de *Rhizobium* y raíces sin presencia de nódulos.

### 3.8.1 Molida de las muestras

Una vez secas las muestras, se comenzó con la molida de cada muestra (tallo y hojas), con ayuda de un molino con un motor US<sup>®</sup>, modelo: S55PZE-7831 y con ¼ caballos de fuerza (HP), utilizando una criba del número 40 con una apertura de 0.42 milímetros, colocándolas por separado en bolsas plásticas, siempre cuidando que no hubiera contaminación de las muestras.



**Figura 9.** Molino y motor US<sup>®</sup> que se utilizó para la molida de las muestras, junto con una criba del número 40.

### 3.8.2 Análisis y medidas de las muestras

Los análisis de planta se realizaron en el laboratorio de suelos de la UAAAN-UL, por medio del método Kjeldahl, esto para obtener el contenido del N total en porcentaje de muestra (tallo y hojas). Los datos obtenidos fueron analizados a través del programa estadístico SAS para Windows versión 9.0 para la realización de ANVA y la separación de medias por medio de la prueba de DMS (diferencia mínima significativa), utilizando el nivel mínimo de probabilidad de 0.05 para decretar diferencias entre las medias.

### 3.8.3 Pasos para el análisis de las muestras

Se inició pesando cada una de las muestras (tallos y hojas) en cantidades de 0.1 g con ayuda de una balanza analítica HR-200 (Max 210 g d= 0.1 mg), colocando la muestra en un matraz de vidrio cuidando siempre que caiga al fondo del mismo, siguiendo con la combinación (mezcla) de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) y ácido salicílico con 4 mL de la mezcla a cada muestra, dejándolas reposar por 24 horas en la campana extractora de gases tóxicos. Pasado el tiempo de reposo se pasaron a la parrilla de digestión, como primer paso pesando 1.1 g de mezcla digestora en una báscula EK-600 (Max 600 g d=0.1 g), añadiéndola al matraz y colocándola en la parrilla, esperando 5 minutos para después adicionarla 0.5 g tiosulfato de sodio colocándola nuevamente en la parrilla hasta que tome un color verde-azul (agitar el matraz en tiempos pausados), ya finalizada la digestión dejar en reposo hasta su enfriamiento. Para finalizar, con ayuda del micro Kjeldahl realizar la destilación, agregando al matraz de la muestra un poco de agua destilada y posicionarla en la copa del micro kjeldahl Labconco®, junto con hidróxido de sodio. En un vaso de precipitado previamente con 10 mL de ácido bórico capear la destilación en cantidades de 50 mL por muestra, después colocar la muestra en un matraz Erlenmeyer y pasarla a la titulación con  $H_2SO_4$  al 0.05 Normal hasta que tome una coloración rosada. Por medio de la fórmula para obtener el %N hacer los cálculos determinados.



**Figura 10.** Micro kjeldahl Labconco® para la destilación de cada una de las muestras.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Peso verde y seco en los diferentes órganos de la planta (tallo y hoja)

Para el peso verde del tallo y hoja ( $\text{g maceta}^{-1}$ ), en los análisis de varianza ANVA (Cuadro A-1, A-3); no se encontró diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) en el uso o no del hongo micorriza, así como tampoco por la aplicación del *Rhizobium* y/o fuentes de N. De igual manera cuando se analizó la interacción de los dos factores no fue posible observar ningún efecto significativo ( $P \geq 0.05$ ). El peso verde medio de los tallos fue de  $159 \text{ g maceta}^{-1}$ , con un Coeficiente de Variación (CV) de acuerdo con el ANVA de 24.3% y una desviación estándar ( $\delta$ ) de  $38.8 \text{ g maceta}^{-1}$ .

En la variable del peso seco del tallo y de la hoja en los resultados obtenidos en el análisis de varianza ANVA presente en el cuadro (Cuadro A-2, A-4); no se detectó diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) en ninguno de los niveles utilizados independientemente si se utilizó o no micorriza, así como tampoco en su interacción. El promedio general fue de  $30 \text{ g maceta}^{-1}$ , con un CV de 15.8% y una desviación estándar ( $\delta$ ) de  $4.8 \text{ g maceta}^{-1}$ .

### 4.2 Altura de la Planta

En resultados del ANVA para la variable la altura (cm) de planta (Cuadro A-5), no se observaron diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) para ninguna de las fuentes de variación, ni en su interacción. Con un promedio general de la altura de planta de 109 cm, un CV en su análisis de 12.0% y una  $\delta$  de 13.0 cm.



### 4.3 Contenido de materia seca en tallo y hoja

En el contenido de materia seca (MS) en tallo y hoja ( $\text{g kg}^{-1}$ ), en los ANVA (Cuadro A-6, A-7), no se detectaron diferencias estadísticas ( $P \geq 0.05$ ), en ninguna de las fuentes de variación: micorrizas y niveles de *Rhizobium* al igual que en su interacción. El contenido global de MS en tallo fue de 19.8% y en hoja de 14.5%; y unos CV de 17.3 y 16.7%, respectivamente.

### 4.4 Contenido de proteína cruda total de la planta e individual tallo y hoja

En los resultados de la proteína cruda (PC) total (g) en el análisis de varianza ANVA no se encontraron diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) en ninguna de las fuentes de variación estudiadas (Cuadro A-12). Con un CV de 23.1 % y una  $\delta$  2.1 g.

Para la variable PC en hoja ( $\text{g kg}^{-1}$ ) no se encontraron diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) en ninguna de fuentes utilizadas con y sin micorriza; y con inoculante *Rhizobium* (Cuadro A-9). Presentando un CV de acuerdo con el ANVA de 22.2% y una  $\delta$  de 65.5  $\text{g kg}^{-1}$ .

Los resultados en la variable concentración de PC en tallo ( $\text{g kg}^{-1}$ ), en el ANVA si se obtuvo una diferencia altamente significativa ( $P \leq 0.01$ ) en la fuente de *Rhizobium* (Cuadro A-8). En la comparación de medias, el mayor promedio correspondió al sulfato de amonio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  sin utilizar micorriza con un valor de 215.5  $\text{g kg}^{-1}$ , 186.9  $\text{g kg}^{-1}$  para la fuente del predio “La Cuchilla” y 171.7  $\text{g kg}^{-1}$  para la fuente del predio “La Parcela” (Cuadro 4).

Harris, (2019) menciona que con la inoculación de micorrizas aumenta la concentración de N en las plantas a diferencia de las que no se inocularon, los resultados encontrados en nuestro estudio, no coinciden con lo reportado por autor anterior.

Rodríguez, *et al.* (2010) menciona que los hongos micorrícicos pueden ser efectivos en la formación de hifas en la rizosfera e interactuar con la planta, tanto que puede ser

muy infecciosos, pero a la vez con poca efectividad. Hernández, *et al.* (2004) menciona que en ocasiones la interacción micorriza con la planta hospedera resulta en una disminución en la acumulación de materia seca de la planta hospedera aumentando la pérdida de carbono. Otro trabajo realizado por Riera, *et al.*, (2005) con trigo menciona que en el primer año se alcanzaron producciones superiores con presencia de HMA y en el segundo año se tuvieron diferencias, pero sin la aplicación de inoculante.

Según Ojeda, *et al.*, 2014 y Pérez *et al.* (2015), en las leguminosas la interacción hongo-planta y la presencia de nódulos puede tener respuestas en el contenido de PC, así como influir en la formación de estructuras (nódulos) de las bacterias noduladoras en las raíces.

La fertilización química al suelo puede afectar negativamente a la interacción hongo-planta, como en el caso de este estudio donde algunos tratamientos con micorriza (los dos comerciales) más el inóculo del predio “San Ángel” Con respecto al resultado menor en la PCT  $\text{g kg}^{-1}$  con presencia de micorriza. Salgado, *et al.*, (2012) indica que en resultados obtenidos en el cultivo de fresa utilizando *Glomus intrarradices* y una solución de  $\text{NH}_4^+$ , al aumentar la concentración disminuye la eficacia de *G. intrarradices*.

**Cuadro 4.** Concentración de PC en tallo ( $\text{g kg}^{-1}$ )

† <i>Rhizobium</i>	San La Cuchilla	La Parcela	Inoculante	Inoculante	( $\text{NH}_4$ ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	00	Promedio	
Ángel			(2017)	(2019)				
±Con/Mico	152.9	209.4	195.8	155.7	148.3	201.4	142.3	172.2
§Sin/Mico	129.2	164.5	146.4	133.8	127	229.6	146.8	153.9
Promedio	141	186.9	171.1	144.7	137.7	215.5 <sup>α</sup>	144.5	
	c ♦	b a	b c	b c	c	a	b c	

Diferencia Mínima Significativa: 43.149      Coeficiente de Variación: 26.15552

<sup>α</sup> altamente significativa ( $P \leq 0.01$ )

♦ Medias con la misma literal son estadísticamente iguales

#### 4.5 Producción de Proteína Cruda en tallo y en hoja (g maceta<sup>-1</sup>)

En los resultados obtenidos para el análisis de varianza (ANVA) no se encontró diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) en la variable producción de PC en tallo y en hoja (g); en ninguna de las fuentes utilizadas con *Rhizobium* y utilizando o no micorrizas (Cuadro A-10, A-11). Los análisis mostraron un CV de 32.3 % en PC en tallo y un 30 % en hoja, con unas  $\bar{d}$  de 1.5 y 1.2 g maceta<sup>-1</sup>, respectivamente (Cuadro 5).

**Cuadro 5.** Valores promedios obtenidos en la proteína cruda presente en tallo (g maceta<sup>-1</sup>)

† <i>Rhizobium</i>	San La Cuchilla Ángel	La Parcela	Inoculant (2017)	Inoculante (2019)	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 00	Promedio	
±Con/Mico	5.1	6.5	6.1	4.7	4.8	5.2	4.2 5.2
§Sin/Mico	3.8	5.2	4.8	3.8	3.5	6.4	4.5 4.5
Promedio	4.4 α	5.8	5.4	4.2	4.1	5.8	4.3

Diferencia Mínima Significativa: 1.6136    Coeficiente de Variación: 32.32155

#### 4.6 Peso verde, seco y materia seca total de la planta

En los resultados del peso verde y seco total de la planta (g maceta<sup>-1</sup>), en el análisis de varianza ANVA, no se encontraron diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) en ninguna de las fuentes utilizadas con micorriza, *Rhizobium* y la interacción (Cuadro A-13, A-14). Con un CV de 23.2 % en el peso verde (PV) total, 15.8 % en el peso seco (PS) total y una  $\bar{d}$  de 60.3 g maceta<sup>-1</sup> en PV y 7.0 g en PS.

El mismo caso, no se encontró diferencia estadística ( $P \geq 0.05$ ) en la variable de la materia seca total de la planta en ninguna de las fuentes y niveles utilizados (Cuadro A-15). Mostrando que los valores promedios de la MS total de la planta los presentan las fuentes utilizadas con el inoculantes (2017) y la fuente de sulfato de amonio (Cuadro 6). Con un coeficiente de variación de 15 % en MS total de la planta y una  $\bar{d}$  0.02 g.

**Cuadro 6.** Valores promedios obtenidos de la materia seca total de la planta ( $\text{g kg}^{-1}$ )

† <i>Rhizobium</i>	San Ángel	La Cuchilla	La Parcela	Inoculante (2017)	Inoculante (2019)	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	00	Promedio
±Con/Mico	0.17	0.18	0.18	0.18	0.17	0.20	0.16	0.17
§Sin/Mico	0.16	0.16	0.16	0.19	0.17	0.17	0.16	0.16
Promedio	0.16	0.17	0.17	0.18	0.17	0.18	0.16	
Diferencia Mínima Significativa: 0.0143			Coeficiente de Variación: 14.93290					

#### 4.7 Proteína cruda total ( $\text{g kg}^{-1}$ )

En los resultados de la proteína cruda total ( $\text{g kg}^{-1}$ ) en el ANVA no se encontró diferencia estadística ( $P \geq 0.05$ ) en la variable de la proteína cruda total ( $\text{g kg}^{-1}$ ) de la planta en ninguna de las fuentes y niveles utilizados, al igual que en la interacción (Cuadro A-16). Mostrando un coeficiente de variación de 26.15552 % y una  $\delta$  de 42.66503  $\text{g kg}^{-1}$ .

Al no mostrar resultados con diferencia significativa, los inoculantes utilizados con *Rhizobium* si funcionaron de manera correcta (Figura 11). Donde se puede observar el nódulo del *Rhizobium* partido a la mitad con una tonalidad rosada, una característica que muestra estuvo de forma activa y una raíz en donde estaba presente el nódulo.



**Figura 11.** Nódulo con presencia activa de bacteria *Rhizobium* y raíz con nódulos.

## V. CONCLUSIÓN

Debido a que se utilizó una variedad criolla (“Terragona”) y posiblemente al nivel medio alto de N inicial en el suelo, que se utilizó para rellenar las macetas, no permitieron que se pudieran mostrar diferencias estadísticas entre los diferentes tratamientos aplicados a la variedad criolla de haba.

Sería necesario continuar experimentando con diferentes niveles y dosis de fertilizantes, fosfatados por ejemplo, y medir sus efectos en la respuesta de haba.

Para las condiciones de explotación agrícola y pecuaria de la Región Lagunera, al haba no se le ve un futuro promisorio. Y más bien deberá de seguir siendo estudiada bajo las condiciones de los valles altos del centro de México, bajo las condiciones de limitado uso de recursos y suelos sobreexplotados.

## VI. BIBLIOGRAFÍA

Aldana, L. L. F. 2010. Producción Comercial y de Semilla de Haba (*Vicia faba* L.). Quetzaltenango, Guatemala. p. 41.

Baffa, F., Carreras, N., Martínez, J. F. y Massolo, M, E. 2017. Proyecto final: Sulfato de amonio. Ingeniería Química. FRD. 287 p.

Barrer, S. E. 2009. El uso de hongos micorrizicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. Facultad de ciencias agropecuarias. Vol. 7, núm. 1, pp. 123-132.

Benaouda, M., Martínez, F. A., Soldado, A. y Vicente, F. 2013. Efecto de la asociación forrajera haba-colza como alternativa al raigrás italiano en la alimentación de vacas frisonas durante el período de transición. AIDA. Vol. 15, núm. 1, pp. 291-293.

Calvo, G. S. 2004. Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno. Universidad de salamanca. Vol. 9, núm. 7, pp. 173-186.

- Camargo, R. S. L., Montaña, M. N., Mera, R, J, C. y Montaña, A. A. 2012. Micorrizas: una gran unión debajo el suelo. Revista digital universitaria. UNAM. Vol. 13, núm. 7, pp. 19.
- Cerdas, R. 2011. Programa de fertilización de forrajes. Desarrollo de un módulo práctico para técnicos y estudiantes de ganadería de Guanacaste, Costa Rica. Vol. 12, núm. 24, pp. 109-128.
- Confalone, A., Lizaso, J., Ruíz, B. y Sau, F. 2011. Modelización de la fenología del haba cv. Alameda. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Vol. 43, núm. 1, pp. 75-84.
- Cuadrado, B., Rubio, G. y Santos, W. 2009. Caracterización de cepas de *Rhizobium* y *Bradybizzobium* (con habilidad de modulación) seleccionados de los cultivos de frijol caupi (*Vigna unguiculata*) como potenciales bioinóculos. Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm. Vol. 38, núm. 1, pp. 78-104.
- Crispín, M. A., Pérez, G. P. y Sánchez, P. S. 1978. El cultivo del haba en los valles altos de México. CIAMEC N° 98. 8 p. INIA, SARH.

- Díaz, B. M., y Herrera, C. B. E. 2004. Caracteres morfológicos en la selección de semilla de haba en la sierra norte de Puebla. *Revista Fitotecnia Mexicana*. Vol. 27, núm.1, pp. 49-52.
- Díaz, B. M., Herrera, C. B. E., Ramírez, J. J., Aliphath, F. M. y Delgado, A. A. 2008. Conocimiento campesino en la selección de variedades de haba (*Vicia faba* L.) en la sierra norte de Puebla México. *INCI*. Vol. 33, núm. 8, pp. 610-615.
- Estrada, C. R., Jarrillo, J., Aragón, A., Juárez, D. y Cinco, P. J. 2017. Productividad forrajera de haba bajo diferentes condiciones de manejo. *Agronomía Costarricense*. Vol. 41, núm. 1, pp. 95-103.
- Ferrera, C. R. y Alarcón, A. 2001. La microbiología del suelo en la agricultura sostenible. *Ciencia Ergo Sum*. Vol. 8, núm. 2, pp. 175-183.
- García, C., & Blázquez, M. 2017. La fijación biológica de nitrógeno atmosférico (FBN) y su importancia en la agricultura. *Rev. Inv. UNSCH*. Vol. 25, núm. 1, pp. 179-186.



Garzón, L. P. 2016. Importancia de las micorrizas arbusculares (MA) para un uso sostenible del suelo en la Amazonia Colombiana. Revista Luna Azul. Vol., núm. 42, pp. 217-234.

Guadarrama, Q. A., Escalante, E. J., Rodríguez, G. M. T., Sánchez, G. P. y Sandoval, C. E. 2007. Biomasa, proteína, taninos y rendimiento en haba en función del nitrógeno. Terra latinoamericana. Vol. 25, núm. 2, pp. 169-175.

Harris, V. C., Mora, G. E., Palafox, R. M., Pérez, P. C. K., Mejía, F. V. y Vázquez, F. Y. 2019. Crecimiento de haba en simbiosis con microorganismos nativos de regiones productoras del norte de Puebla, México. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 42, núm. 3, pp. 243-250.

Hernández, F. I., Nápoles, G. M. C. y Morales, M. B. 2015. Caracterización de aislados de rizobios provenientes de nódulos de soya (*Glycine max* L.) Merrill con potencialidades en la promoción del crecimiento vegetal. Cultivos Tropicales. Vol. 36, núm. 1, pp. 65-72.

Hernández, M. I. y Chailloux, M. 2004. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como alternativa a la nutrición mineral del tomate cultivos tropicales. Vol. 25, núm. 2, pp. 5-12.

Hidalgo, R. J. E. M., Ramos, O. C. C., Lezama, A. P. B., Chuna, M. P. y Chaman, M. M. E. 2019. Coinoculación de *Rhizophagus irregularis* y *Rhizobium* sp. En *Phaseolus vulgaris* L. var. Canario (Fabaceae) "frijol canario". *Arnaldoa*. Vol. 26, núm. 3, pp. 991-1006.

Horque, F. R. 2004. Cultivo del haba. Instituto Nacional de Investigación Agraria. Lima, Perú. INIA. pp. 52.

Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA). 2012. Haba INIA 429 Fortaleza. EEA. Santa Ana, Huancayo. 2 p.

Jordán, A. B., Díaz, R. R., Ocampo, F. I., Jacinto, H. C., Escalante, E. S. A. J. y Pérez, R. E. 2020. Características relacionadas con el consumo de haba consideradas por las amas de casa de la región productora de Puebla y Tlaxcala, México. *Estudios sociales. Revista de alimentación contemporánea y desarrollo regional*. Vol. 29, núm. 54, pp.

Leiva, C. 2017. Haba. Información de avance proyecto. CIREN. 2 h.

- López, A. J. J., Lépiz, I. R., González, E. D. R., Rodríguez, M. R. y López, A. E. 2021. Eficiencia en fijación biológica de nitrógeno de cepas de *Rhizobium* ssp. Recolectadas en frijol cultivado y silvestre. Terra Latinoamericana. Vol. 38, núm. 4, pp. 841-852.
- López, A. J. J., Lépiz, I. R., González, E. D. R., Rodríguez, M. R., López, A. E. y Olalde, P, V. 2017. Caracterización morfológica y bioquímica de cepas de *Rhizobium* colectadas en frijol común silvestre y domesticado. Revista Fitotecnia Mexicana. Vol. 40, núm. 1, pp. 73-81.
- Lok, M. S., Crespo, G. y Torres, V. 2017. Influencia de las leguminosas forrajeras en el sistema suelo-pasto. Cuban Journal of Agricultural Science. Vol. 51, núm. 2, pp. 261-270.
- Martin, A., Tamayo, A. Y., Hernández, F. I., Varela, N. M. y Silva, A. E. 2017. Cuantificación de la fijación biológica de nitrógeno en *Canavalia ensiformis* crecida en un suelo pardo mullido carbonatado mediante los métodos de abundancia natural de  $^{15}\text{N}$  y diferencia de N total. Cultivos tropicales. Vol. 38, núm. 1, pp. 12-130.

- Mayz, F. J. 2004. Fijación biológica de nitrógeno. Revista UDO agrícola. 4(2), pp. 1-20.
- Mercedes, F. P., Nuria, M. y Rosario, F. M. 2002. Fijación biológica del nitrógeno: Factores limitantes. Ciencia y medio ambiente, pp. 195- 202.
- Miyares, E. M., Torres, I. D., Padron, M. S., Valdez, H. J., Diaz, M. M. y Bonilla, H. R. M. 2015. Aplicación del reactivo de Neesler en la cuantificación de amonio para las fermentaciones de productos biotecnológicos. Vacimonitor. Vol. 24, núm. 1, pp. 33-44.
- Moreno, C. Z. E., Valdez, N. R. A., Soriano, B. B. S. y Ruesta, C. N. A. 2016. Eficiencia de la modulación por rizobios nativos, procedentes de nódulos de *Pisum sativum* “arveja” colectados de diferentes departamentos de Perú. Scientia Agropecuaria. Vol. 7, núm. 3, pp.165-172.
- Montaño, A. N. M., Sandoval, P. A. L., Camargo, R. S. L. y Yáñez, J. M. 2010. Los microorganismos: pequeños gigantes. Elementos: Ciencia y Cultura. Vol. 17, núm. 77, pp. 15-23.

Molina, L. M., Mahecha, L. L. y Medina, S. M. 2005. Importancia del manejo de hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas silvopastoriles. Rev Col Cienc Pec. Vol. 18, núm. 2, pp. 162-175.

Nieto, S. D. F., Lagos, B. E., Avellaneda, A. Y. y Castro, R. E. 2020. Productividad de vacas lecheras suplementadas con ensilaje de haba alpargata o remolacha forrajera<sup>1</sup>. Agronomía Mesoamericana. Vol. 31, núm. 2, pp. 341-351.

Noda, Y. 2009. Las Micorrizas: Una alternativa de fertilización ecológica en los pastos. Pastos y forrajes. Vol. 32, núm. 2, pp. 1-10.

Orozco, H. L. A., Pérez, L.D. J., González, H. A., Franco, M. O., Arriaga, M. R. y Aguilera, G. L. I. 2016. Efecto de *Glumus fasciculatum* y su relación con tres abonos orgánicos en dos cultivares de haba. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. Vol. 7, núm. 6, pp. 1423-1437.

Ojeda, L., Furrázola, E., Hernández, C. 2014. Micorrizas arbusculares en leguminosas de la empresa pecuaria El Tablón, Cuba pastos y forrajes. Estación

Experimental de Pastos y Forrajes "indio Hatuey" matanzas, Cuba. Vol. 37, núm. 4, pp. 392-398.

Orozco, C. N., Perez, L. D. J., Gonzalez, H. A., Franco, M. O., Gutierrez, R. F., Arriaga, M. R., Castañeda, V. A. y Balbuena, M. A. 2013. Identificación de poblaciones sobresalientes de haba colectadas en el Estado de México. Revista mexicana de ciencias agrícolas. Vol. 4, núm. 6, pp. 921-932.

Pérez, L. D. J., González, H. A., Arriaga, M. R., Franco, M. O., Franco, M. J. R. P. y Padilla, L. A. 2015. Análisis de 35 cultivares de haba por su producción de vaina verde y otros componentes del rendimiento. Rev. Mex. Cienc. Agríc. Vol. 6, núm. 7, pp. 1601-1613.

Pérez, M. U. A., Ramirez, G. M. M., Zapata, N. Y. A. y Cordoba, S. J. M. 2015. Efecto de la inoculación simple y combinada con Hongos Formadores de Micorriza Arbuscular (HFMA) y Rizobacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (BPCV) en plántulas micropropagadas de mora (*Rubus glaucus* L.). Corpoica Cienc Technol Agropecu. Vol. 16, núm. 1, pp. 95-103.

- Pichardo, R. J. C., Díaz, R. R., Quevedo, N. A., Volke, H. V. y Morales, R. E. J. 2013. Rendimiento y eficiencia en el uso del agua de cultivares de haba (*Vicia faba* L.) para doble propósito. Rev. Chapingo Ser. Hortic. Vol. 19, núm. 9, pp. 71-84.
- Quiroga, G. H. M., Cueto, W. J. A. y Castro, M. E. 1991. Guía para cultivar Trébol Alejandrino en la Comarca Lagunera. Centro de investigación forestal y agropecuaria. Folleto para productores. Núm. 3.
- Riera, M. y Medina, N. 2005. Influencia de las micorrizas sobre las poblaciones bacterianas y su efecto sobre los rendimientos en secuencias de cultivos. Cultivos tropicales. Vol. 26, núm. 4, pp. 21-27.
- Rodríguez, A. E. A., Bolaños, B. M. M. y Menjivar, F. J. C. 2010. Efecto de la fertilización en la nutrición y rendimiento de ají (*Capsicum* spp.) en el Valle del Cauca, Colombia. Acta Agronómica. Vol. 59, núm. 1, pp. 55-64.
- Rojas, F. 2001. Botánica Sistemática. Familia Fabaceae. Universidad Mayor de San Andrés. La Paz – Bolivia. pp. 18.

- Rojas, T. J., Díaz, R. R., Álvarez, G. F., Ocampo, M. J. y Escalante, E. A. 2012. Tecnología de producción de haba y características socioeconómicas de productores en Puebla y Tlaxcala. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. Vol. 3, núm. 1, pp. 35-49.
- Salgado, B. C. S., Bravo, P. A., Wang, E. T. y Cárdenas, N. R. 2012. Efecto de la inoculación con *Glomus intraradices* y de la fertilización nitrogenada en el crecimiento de plantas de fresa. *Scientia Agropecuaria*. Vol. 3, núm. 2, pp. 171-179.
- Salamanca, S. C. R. y Silva, H. M. R. 1998. Las micorrizas como alternativa para el manejo sostenible de los agroecosistemas tropicales. Villavicencio, meta, Colombia. Boletín técnico No. 12, pp. 26.
- Santillana, N., Arellano, C. y Zúñiga, D. 2005. Capacidad del *Rhizobium* de promover el crecimiento en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller). *Ecología aplicada*. Vol. 4, núm. 1-2, pp. 47-51.
- Servicio de Información Agroalimentaria de consulta (SIAP). Haba verde. 2019. SADER. 1 p.



Seguel, F. A. 2014. El potencial de las micorrizas arbusculares en la agricultura desarrollada en zonas áridas y semiáridas. IDCIA. Vol. 32, núm. 1, pp. 3-8.

Sistema de Información Agroalimentaria y Pesca (SIAP). 2017. SAGARPA, Cd. México.

Troncoso, A. P., Pérez, A. C., Larraín, J. y Ardiles, V. 2013. Desarrollo de la fijación simbiótica de nitrógeno en una cronosecuencia primaria en la Isla Santa Inés, Región de Magallanes, Chile. Revista chilena de historia natural. Vol. 86, núm. 3, pp. 345-356.

Vela, C. M. A. de los., López, T. Z. G., Sandoval, C. E., Tornero, C. M. A. y Cobos, P. M. A. 2018. La fertilización órgano-mineral en el rendimiento de haba en suelo e hidroponía en agricultura protegida. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. Vol. 9, núm. 8, pp. 1603-1614.

Youseif, S. H., y El-Megeed F. H., & Saleh S. A. 2017. Improvement of faba bean yield using *Rhizobium/Agrobacterium* inoculant in d sandy soil. Agronomy. Vol. 7, num. 2, 12p.

## VII. ANEXOS

**Cuadro A-1:** Análisis de Varianza ANVA resultado en Peso Verde del Tallo (g)

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Repetición	3	8865.48214	2955.16071	1.96	0.1356
Micorriza	1	385.87500	385.87500	0.26	0.6156
<i>Rhizobium</i>	6	13823.67857	2303.94643	1.53	0.1941
Micorriza* <i>Rhizobium</i>	6	3672.75000	612.12500	0.41	0.8702
Error Exp	39	58726.76786	1505.81456		
Totales	55	85474.55357			

GL= Grados de Libertad, SC= Suma de Cuadrados, CM= Cuadrados Medios, Fc= F Calculada y Pr>F= F Tabulada  
 Coef Var 24.35358      Raiz MSE 38.80483      PVtallo Media 159.3393

**Cuadro A-2:** Análisis de Varianza ANVA resultados en Peso Seco del Tallo (g)

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Repetición	3	202.4285714	67.4761905	2.93	0.0456
Micorriza	1	12.0714286	12.0714286	0.52	0.4736
<i>Rhizobium</i>	6	192.7142857	32.1190476	1.39	0.2418
Micorriza* <i>Rhizobium</i>	6	75.4285714	12.5714286	0.55	0.7704
Error Exp	39	899.071429	23.053114		
Totales	55	1381.714286			

GL= Grados de Libertad, SC= Suma de Cuadrados, CM= Cuadrados Medios, Fc= F Calculada y Pr>F= F Tabulada  
 Coef Var 15.77914      Raiz MSE 4.801366      PseT Media 30.42857

**Cuadro A-3:** Análisis de Varianza ANVA resultados en Peso Verde de la Hoja (g)

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Repetición	3	3839.857143	1279.952381	2.02	0.1274
Micorriza	1	292.571429	292.571429	0.46	0.5011
<i>Rhizobium</i>	6	6092.357143	1015.392857	1.60	0.1731
Micorriza* <i>Rhizobium</i>	6	3239.928571	539.988095	0.85	0.5390
Error Exp	39	24748.14286	634.56777		
Totales	55	38212.85714			

GL= Grados de Libertad, SC= Suma de Cuadrados, CM= Cuadrados Medios, FC= F Calculada y Pr>F= F Tabulada  
 Coef Var 25.10098      Raiz MSE 25.19063      PVhoja Media 100.3571

**Cuadro A-4:** Análisis de Varianza ANVA resultados en Peso Seco de la Hoja (g)

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Repetición	3	36.78571429	12.26190476	1.49	0.2320
Micorriza	1	1.14285714	1.14285714	0.14	0.7113
<i>Rhizobium</i>	6	92.60714286	15.43452381	1.88	0.1095
Micorriza* <i>Rhizobium</i>	6	42.10714286	7.01785714	0.85	0.5373
Error Exp	39	320.7142857	8.2234432		
Totales	55	493.3571429			

GL= Grados de Libertad, SC= Suma de Cuadrados, CM= Cuadrados Medios, FC= F Calculada y Pr>F= F Tabulada  
 Coef Var 20.32768      Raiz MSE 2.867655      PseH Media 14.10714

**Cuadro A-5:** Análisis de varianza ANVA resultados en la altura de las plantas (cm)

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Repetición	3	0.10344821	0.03448274	1.99	0.1315
Micorriza	1	0.00130179	0.00130179	0.08	0.7855
<i>Rhizobium</i>	6	0.11496071	0.01916012	1.11	0.3769
Micorriza* <i>Rhizobium</i>	6	0.11751071	0.01958512	1.13	0.3634
Error Exp	39	0.67617679	0.01733787		
Totales	55	1.01339821			

GL= Grados de Libertad, SC= Suma de Cuadrados, CM= Cuadrados Medios, FC= F Calculada y Pr>F= F Tabulada  
 Coef Var 12.02300 Raiz MSE 0.131673 altura Media 1.095179

**Cuadro A-6:** Análisis de Varianza ANVA resultados en la Materia Seca del Tallo (g kg<sup>-1</sup>)

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Repetición	3	0.00297968	0.00099323	0.85	0.4744
Micorriza	1	0.00283718	0.00283718	2.43	0.1270
<i>Rhizobium</i>	6	0.00717380	0.00119563	1.02	0.4238
Micorriza* <i>Rhizobium</i>	6	0.00256185	0.00042697	0.37	0.8960
Error Exp	39	0.04549959	0.00116666		
Totales	55	0.06105209			

GL= Grados de Libertad, SC= Suma de Cuadrados, CM= Cuadrados Medios, FC= F Calculada y Pr>F= F Tabulada  
 Coef Var 17.27780 Raiz MSE 0.034156 MST Media 0.197689

**Cuadro A-7:** Análisis de Varianza ANVA resultados en la Materia Seca de la Hoja (g kg<sup>-1</sup>)

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Repetición	3	0.00393910	0.00131303	2.24	0.0990
Micorriza	1	0.00029762	0.00029762	0.51	0.4805
<i>Rhizobium</i>	6	0.00296378	0.00049396	0.84	0.5453
Micorriza* <i>Rhizobium</i>	6	0.00155556	0.00025926	0.44	0.8461
Error Exp	39	0.02287750	0.00058660		
Totales	55	0.03163355			

GL= Grados de Libertad, SC= Suma de Cuadrados, CM= Cuadrados Medios, Fc= F Calculada y Pr>F= F Tabulada  
 Coef Var 16.70398 Raiz MSE 0.024220 MSH Media 0.144995

**Cuadro A-8:** Análisis de Varianza ANVA resultados para la Proteína Cruda del Tallo (g kg<sup>-1</sup>)

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Repetición	3	10733.68522	3577.89507	1.97	0.1351
Micorriza	1	4718.70362	4718.70362	2.59	0.1155
<i>Rhizobium</i>	6	41566.70647	6927.78441	3.81	0.0044
Micorriza* <i>Rhizobium</i>	6	8821.69277	1470.28213	0.81	0.5702
Error Exp	39	70991.8796	1820.3046		
Totales	55	136832.6677			

GL= Grados de Libertad, SC= Suma de Cuadrados, CM= Cuadrados Medios, Fc= F Calculada y Pr>F= F Tabulada  
 Coef Var 26.15552 Raiz MSE 42.66503 PCTgkg Media 163.1205

**Cuadro A-9:** Análisis de Varianza ANVA resultados para la Proteína Cruda de la Hoja (g kg<sup>-1</sup>)

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Repetición	3	3767.70263	1255.90088	0.29	0.8302
Micorriza	1	3724.38850	3724.38850	0.87	0.3570
<i>Rhizobium</i>	6	17144.31402	2857.38567	0.67	0.6769
Micorriza* <i>Rhizobium</i>	6	54967.49239	9161.24873	2.14	0.0707
Error Exp	39	167159.6766	4286.1456		
Totales	55	246763.5742			

GL= Grados de Libertad, SC= Suma de Cuadrados, CM= Cuadrados Medios, FC= F Calculada y Pr>F= F Tabulada  
 Coef Var 22.17750 Raiz MSE 65.46866 PCHgkg Media 295.2030

**Cuadro A-10:** Análisis de Varianza ANVA resultados para la Proteína Cruda del Tallo (g)

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Repetición	3	6.17457431	2.05819144	0.81	0.4968
Micorriza	1	6.17472078	6.17472078	2.43	0.1274
<i>Rhizobium</i>	6	28.16137565	4.69356261	1.84	0.1157
Micorriza* <i>Rhizobium</i>	6	12.30712428	2.05118738	0.81	0.5716
Error Exp	39	99.2813367	2.5456753		
Totales	55	152.0991317			

GL= Grados de Libertad, SC= Suma de Cuadrados, CM= Cuadrados Medios, FC= F Calculada y Pr>F= F Tabulada  
 Coef Var 32.32155 Raiz MSE 1.595517 PCTg Media 4.936388

**Cuadro A-11:** Análisis de Varianza ANVA resultado para la Proteína Cruda de la Hoja (g)

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Repetición	3	1.28015357	0.42671786	0.28	0.8413
Micorriza	1	1.49238612	1.49238612	0.97	0.3306
<i>Rhizobium</i>	6	9.68590035	1.61431672	1.05	0.4087
Micorriza* <i>Rhizobium</i>	6	15.02906647	2.50484441	1.63	0.1651
Error Exp	39	59.96342999	1.53752385		
Totales	55	87.45093649			

GL= Grados de Libertad, SC= Suma de Cuadrados, CM= Cuadrados Medios, Fc= F Calculada y Pr>F= F Tabulada  
 Coef Var 29.95796 Raiz MSE 1.239969 PCHg Media 4.139031

**Cuadro A-12:** Análisis de Varianza ANVA resultados para la Proteína Cruda Total (g)

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Repetición	3	4.61324286	1.53774762	0.35	0.7909
Micorriza	1	1.59806429	1.59806429	0.36	0.5511
<i>Rhizobium</i>	6	41.10079643	6.85013274	1.55	0.1880
Micorriza* <i>Rhizobium</i>	6	30.70641071	5.11773512	1.16	0.3484
Error Exp	39	172.3990571	4.4204886		
Totales	55	250.4175714			

GL= Grados de Libertad, SC= Suma de Cuadrados, CM= Cuadrados Medios, Fc= F Calculada y Pr>F= F Tabulada  
 Coef Var 23.16617 Raiz MSE 2.102496 PCTotg Media 9.075714

**Cuadro A-13:** Análisis de Varianza ANVA resultados para el Peso Verde Total (g)

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Repetición	3	23844.62500	7948.20833	2.19	0.1051
Micorriza	1	1350.44643	1350.44643	0.37	0.5458
<i>Rhizobium</i>	6	36562.71429	6093.78571	1.68	0.1529
Micorriza* <i>Rhizobium</i>	6	12172.42857	2028.73810	0.56	0.7609
Error Exp	39	141817.6250	3636.3494		
Totales	55	215747.8393			

GL= Grados de Libertad, SC= Suma de Cuadrados, CM= Cuadrados Medios, FC= F Calculada y Pr>F= F Tabulada  
 Coef Var 23.22025      Raiz MSE 60.30215      PVtrt Media 259.6964

**Cuadro A-14:** Análisis de Varianza ANVA resultados para el Peso Seco Total (g)

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Repetición	3	373.500000	124.500000	2.50	0.0733
Micorriza	1	5.7857143	5.7857143	0.12	0.7348
<i>Rhizobium</i>	6	502.1785714	83.6964286	1.68	0.1509
Micorriza* <i>Rhizobium</i>	6	197.9642857	32.9940476	0.66	0.6791
Error Exp	39	1938.500000	49.705128		
Totales	55	3017.928571			

GL= Grados de Libertad, SC= Suma de Cuadrados, CM= Cuadrados Medios, FC= F Calculada y Pr>F= F Tabulada  
 Coef Var 15.83041      Raiz MSE 7.050186      PStrt Media 44.53571



**Cuadro A-15:** Análisis de Varianza ANVA resultados para la Materia Seca Total

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Repetición	3	0.00365334	0.00121778	1.75	0.1734
Micorriza	1	0.00135339	0.00135339	1.94	0.1714
<i>Rhizobium</i>	6	0.00458240	0.00076373	1.10	0.3824
Micorriza* <i>Rhizobium</i>	6	0.00192368	0.00032061	0.46	0.8335
Error Exp	39	0.02719031	0.00069719		
Totales	55	0.03870313			

GL= Grados de Libertad, SC= Suma de Cuadrados, CM= Cuadrados Medios, Fc= F Calculada y Pr>F= F Tabulada  
 Coef Var 14.93290 Raiz MSE 0.026404 MStrtgkg Media 0.176820

**Cuadro A-16:** Análisis de Varianza ANVA resultados para la proteína cruda total (g kg<sup>-1</sup>)

Fuentes de variación	GL	SC	CM	Fc	Pr > F
Repetición	3	10733.68522	3577.89507	1.97	0.1351
Micorriza	1	4718.70362	4718.70362	2.59	0.1155
<i>Rhizobium</i>	6	41566.70647	6927.78441	3.81	0.0044
Micorriza* <i>Rhizobium</i>	6	8821.69277	1470.28213	0.81	0.5702
Error Exp	39	70991.8796	1820.3046		
Totales	55	136832.6677			

GL= Grados de Libertad, SC= Suma de Cuadrados, CM= Cuadrados Medios, Fc= F Calculada y Pr>F= F Tabulada  
 Coef Var 26.15552 Raiz MSE 42.66503 PCTgkg Media 163.1205