

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA**



Efecto de la coinoculación *Pseudomonas putida* con *Glomus spp* y ácidos húmicos en el crecimiento de trigo (*Triticum aestivum* L.) variedad Pavón F - 76 bajo invernadero.

POR

SERGIO GÓMEZ VIVEROS.

TESIS

**Presentada como requisito parcial para obtener el título
de:**

INGENIERO AGRÓNOMO EN SUELOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Noviembre de 1999

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE SUELOS

Efecto de la coinoculación *Pseudomonas putida* con *Glomus spp* y ácidos húmicos en el crecimiento de trigo (*Triticum aestivum* L.) variedad Pavón F- 76 bajo invernadero.

Por:

SERGIO GÓMEZ VIVEROS.

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

INGENIERO AGRÓNOMO EN SUELOS

Aprobada
Presidente del jurado

MC. Blanca A. Valdivia Urdiales

Sinodal

Sinodal

Ing. Pedro Recio del Bosque

MC. Víctor Zamora Villa

MC. Jesús Valenzuela García
Coordinador de la División de la Ingeniería

Buenavista, Saltillo, Coahuila
Noviembre de 1999.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pag.
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
1. Trigo.....	5
1.1 Origen y distribución geográfica.....	5
1.2 Morfología.....	6
1.3 Clasificación taxonómica.....	7
1.4 Etapas de crecimiento del trigo (escala Feeke).....	8
2. Nutrición del trigo.....	8
3. Nitrógeno.....	11
3.1 Nitrógeno en el suelo.....	14
3.2 Nitrógeno en la planta.....	15
4. Fósforo.....	15
4.1 Importancia del fósforo en la agricultura.....	17
4.2 El fósforo en el suelo.....	18
4.3 El fósforo en la planta.....	20
5. Ácidos húmicos.....	21
6. Rizosfera.....	25
6.1 Rizodeposición.....	25
6.2 Microorganismos de la rizosfera.....	27
6.3 Microorganismos nocivos de la rizosfera.....	27
6.4 Microorganismos benéficos de la rizosfera.....	28
6.5 Factores que afectan a los microorganismos de la rizosfera.....	29
7. Rizobacterias.....	30
7.1 Inoculación de rizobacterias.....	30
7.1.1 Inoculación o bionoculación.....	30
7.2 Rizobacterias Promotoras del Crecimiento vegetal (RPCV).....	32

8. Micorrizas.....	33
8.1 Clasificación de micorrizas.....	34
8.1.1 La ectomicorriza.....	34
8.1.2 La endomicorriza.....	35
8.2 Importancia de las micorrizas.....	36
9. Suelos.....	40
10. Malezas.....	41
11. MATERIALES Y MÉTODOS.....	44
11.1 Área general.....	44
11.2 Características del suelo.....	44
11.3 Inóculo Micorrízico.....	44
11.3.1 Recolección de malezas.....	44
11.3.2 Detección de endomicorrizas VA.....	45
11.4 Inóculo bacteriano.....	46
11.4.1 Preparación de la turba.....	46
11.4.2 Propagación de la bacteria.....	48
11.4.3 Preparación del bionoculante.....	48
11.5 Inoculación de la semilla.....	48
11.6 Siembra y Riegos.....	49
11.7 Fertilización.....	49
11.8 Tratamientos.....	50
11.9 Unidades experimentales.....	50
11.10 Cosecha.....	50
11.12 Variables evaluadas.....	52
11.13 Análisis químico.....	52
11.14 Diseño experimental y análisis estadístico.....	53
12. Resultados y Discusión.....	55
12.1 Evaluación al inicio del espigamiento.....	56
12.1.1 Producción de biomasa (peso seco) de vástago.....	56
12.1.2 Nitrógeno total (%) en vástago.....	59
12.2 Evaluación a la madurez fisiológica.....	62

12.2.1	Producción de biomasa (peso seco) de vástago.....	62
12.2.2	Nitrógeno total (%) en vástago.....	64
12.2.3	Contenido de P (%) en vástago.....	67
12.2.4	Contenido de P (%) en grano.....	70
12.2.5	Rendimiento.....	72
CONCLUSIONES.....		75
RESUMEN.....		77
LITERATURA CITADA.....		80
APÉNDICE.....		90

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1. Efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> + <i>Glomus spp</i> en trigo var Pavón F-76 con y sin ácidos húmicos y tres niveles de fertilización fosforada so- bre el peso seco del vástago al inicio del espigamiento.....	57
Figura 2. Efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> + <i>Glomus spp</i> en trigo con y sin ácidos húmicos y tres Niveles de fertilización fosforada sobre el por-- ciento de nitrógeno en vástago al inicio del espigamiento.....	60
Figura 3. Efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> + <i>Glomus spp</i> en trigo con y sin ácidos húmicos y tres niveles de fertilización fosforada sobre el peso seco de vástago a la madurez fisiológica.....	63
Figura 4. Efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> + <i>Glomus spp</i> en trigo con y sin ácidos húmicos y tres niveles de fertilización fosforada sobre el por ciento de nitrógeno en vástago a la madurez fisiológi- ca.....	65
Figura 5. Efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> + <i>Glomus spp</i> en trigo con y sin ácidos húmicos y tres niveles de fertilización fosforada sobre el por ciento de fósforo en vástago a la madurez fisiológica.....	68
Figura 6. Efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> + <i>Glomus spp</i> en trigo con y sin ácidos húmicos y tres niveles de fertilización fosforada sobre el por ciento de fósforo en grano	71

**Figura 7. Efecto de la coinoculación *Pseudomonas putida*+
Glomus spp en trigo con y sin ácidos húmicos y tres
niveles de fertilización fosforada sobre el rendimien-
to.....73**

ÍNDICE DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 2.1 Características descriptivas de las etapas vegetativas del cultivo de trigo.....	9
Cuadro 3.1 Principales características físicas y químicas del suelo utilizado en la investigación.....	47
Cuadro 3.2 Descripción de Tratamientos.....	51
Cuadro A1. Análisis de varianza para la variable peso seco (t/ha) de vástago de trigo al inicio del espigamiento.....	90
Cuadro A2. Distribución de medias para la variable peso seco (t/ha) de vástago de trigo al inicio del espigamiento.....	91
Cuadro A3. Análisis de varianza para la variable peso seco de vástago de trigo (t/ha) a la madurez fisiológica.....	92
Cuadro A4. Distribución de medias para la variable peso seco de vástago (t/ha) de trigo a la madurez fisiológica.....	93
Cuadro A5. Análisis de varianza para la variable por ciento de nitrógeno en vástago de trigo al inicio del espigamiento.....	94
Cuadro A6. Distribución de medias para la variable por ciento de nitrógeno en vástago de trigo al inicio del espigamiento.....	95
Cuadro A7. Análisis de varianza para la variable por ciento de nitrógeno en vástago de trigo a la madurez fisiológica.....	96
Cuadro A8. Distribución de medias para la variable por ciento de	

nitrógeno en vástago de trigo a la madurez fisiológica.....	97
Cuadro A9. Análisis de varianza para la variable por ciento de fósforo en vástago de trigo a la madurez fisiológica.....	98
Cuadro A10. Distribución de medias para la variable por ciento de fósforo en vástago de trigo a la madurez fisiológica.....	99
Cuadro A11. Análisis de varianza para la variable por ciento de fósforo en grano a la madurez fisiológica.....	100
Cuadro A12. Distribución de medias para la variable por ciento de fósforo en grano de trigo a la madurez fisiológica.....	101
Cuadro A13. Análisis de varianza para la variable peso seco de grano (rendimiento) (t/ha).....	102
Cuadro A14. Distribución de medias para la variable peso seco de grano (rendimiento) (t/ha).....	103

AGRADECIMIENTOS

A Dios nuestro señor por hacer posible la vida y ser nuestro guía en el camino del amor, la verdad, la paz y la sabiduría.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por haberme abierto las puertas y darme los conocimientos adquiridos para formarme como profesionista y por su incansable labor en el desarrollo del Agro Mexicano.

A mis Asesores:

M C. Blanca Valdivia Urdiales por haberme dado la oportunidad de iniciarme en la tarea de la investigación Agrícola, por haberme transmitido sus conocimientos, por su comprensión, apoyo, consejos, orientaciones y sugerencias en los momentos más difíciles de convivencia, por todo ello y más.

Ing. Pedro Recio del Bosque por sus valiosas aportaciones y sugerencias en la conducción del experimento y realización de este manuscrito.

Ing. Víctor Zamora Villa por sus orientaciones, observaciones, aportaciones y sugerencias en el presente trabajo de investigación.

Al Ing. Genaro Rodríguez Tinoco por haberme motivado a seguir adelante durante la carrera y realización de esta investigación, por todos sus consejos, orientaciones y recomendaciones para lograr una meta más, por su apoyo computacional a quien es un ejemplo a seguir, muchísimas gracias.

A la Lic. Karina López Ríos por sus orientaciones, consejos y motivación en cada momento difícil y no difícil gracias por todo ese apoyo.

A mis compañeros de generación y no generación (Juan, Camilo, Javier, Luz María, Eric, Ruben, Yisa, Lupita, Carlos, Guillermo, Luciano, Pedro, Abel, Miguel, Omar , Genaro, y Rosalba,.....).

A mis compañeros con quienes compartí el internado: Santiago Aguilar Aguilar, Alberto Beltrán Sánchez, Ing. Jesús E. García Torres, Ing. Adán Rojas, José T. García Torres, Eliseo Martínez Cruz y Patricio Hernández Mota.

A la excelente laborista del Depto. de Ciencias Básicas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, María de Jesús Sánchez Velázquez (Chachita) por todo su apoyo y entusiasmo en los análisis químicos para esta y otras la investigación.

A mis compañeras: Mary, Almita, Lety y toda la familia que conforman, con quienes compartí y compartiré una bonita amistad, nunca las olvidaré.

En especial a todo el personal del Departamento de Suelos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

DEDICATORIAS

El presente trabajo representa una culminación muy valiosa de mi Carrera (mi (Titulo Profesional),por lo que deseo dedicarlo con toda admiración y cariño a quienes se esforzaron para ofrecerme todo el apoyo, cariño, amor y sacrificio económico.

A mis padres:

Sr. Héctor Gómez Jiménez.
Sra. Emilia Viveros Callejas.

Por haberme dado la vida y formar parte de la suya hasta el final, cuyos esfuerzos, paciencia y sacrificios supieron encaminarme hacia la realización de una meta más en mi vida.

A mis Hermanos(as):

Tomás A. Gómez Viveros, Carlos H. Gómez Viveros, Felipe Callejas Viveros, Ma. Antonia Callejas Viveros, Catalina Gómez Viveros, Israel Gómez Viveros y Blanca E. Gómez Viveros.

***Por su gran apoyo, por ser los mejores hermanos y amigos que he tenido.
Por darme esa motivación y ánimo para seguir adelante y terminar mi carrera. Un amigo más que un Hermano. Gracias por creer en mi...***

A una familia muy maravillosa: La familia Robles López (Sr. Rosalino Robles Luna, Sra. Aurora López y Juan G. Robles López) por haberme abierto las puertas de su hogar, y brindarme el apoyo, comprensión y paciencia, con mucho cariño a ellos se los dedico, muchas gracias....

A la Agronomía:

Pues de todas las ocupaciones de las que deriva beneficio alguno no hay ninguna tan amable, tan saludable y tan merecedora de la dignidad del hombre libre, como la agricultura (Ciceron) .

INTRODUCCIÓN.

Los cereales son cultivos de gran importancia puesto que son únicos por el hecho de que pueden suministrar, simultáneamente, una gran parte de las calorías y proteínas que la dieta humana necesita, tal es el caso del trigo.

El trigo representa el 18 por ciento de la superficie total mundial dedicada a la agricultura, razón por la cual, es el cultivo más extendido en el planeta. A nivel nacional, el trigo tiene un rendimiento de 4.5 a 5 t/ha en una superficie cerca de un millón de hectáreas y representa el cereal de mayor consumo después del maíz. No obstante, en el estado de Coahuila es muy limitada la producción de este cereal, con un rendimiento de 2.5 t/ha en promedio, en una superficie de 11,190 ha (INEGI,1995).

Una de las técnicas actuales para aumentar el rendimiento del trigo es la aplicación de fertilizantes nitrogenados y fosforados que, sin embargo, la planta no

absorbe en su totalidad. Parte de los fertilizantes nitrogenados se pierden por volatilización y/o desnitrificación en forma de óxido nitroso o nitratos (lixiviación). Además los suelos calcáreos, como los que caracterizan el estado de coahuila, limitan la disponibilidad de los fertilizantes fosforados ya que éstos se adsorben a las partículas del suelo. En ambos casos, los fertilizantes excedentes pueden causar alteraciones de las condiciones naturales del suelo, que repercuten en el sistema suelo-planta. La investigación agrícola, por lo tanto, está encaminada a plantear nuevas alternativas que mejoren la producción sin deteriorar el ambiente.

Entre las estrategias que pretenden mejorar la eficiencia de absorción radical de los nutrimentos, en especial del nitrógeno y del fósforo, se encuentra la bionoculación de plantas con microorganismos que incrementan el crecimiento vegetal. Con esta finalidad se han utilizado bacterias de la rizosfera (rizobacterias) y hongos endomicorrízicos. Así también, se han aplicado ácidos húmicos (AH) al suelo en áreas cuya materia orgánica ha disminuido por el uso excesivo de fertilizantes desempeñando un papel importante debido a que coadyuvan a solubilizar incrementando el rendimiento y calidad de los cultivos.

Con base a lo anterior y, dada la necesidad de contar con mayor información en la zona a la cual se refiere esta investigación, se planteó el presente trabajo experimental. El propósito del estudio fue evaluar, bajo condiciones controladas, el efecto de la coinoculación de rizobacterias (*Pseudomonas putida*) y endomicorrizas (*Glomus spp*) en trigo, adicionado con AH y tres niveles de fertilización fosforada, sobre su crecimiento y absorción de nitrógeno y fósforo.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Objetivos generales.

Evaluar el efecto de la coinoculación rizobacteria-endomicorrizas en el crecimiento de trigo adicionado con ácidos húmicos.

Determinar la absorción de N y P en vástago y grano de trigo.

Objetivo específico.

Determinar la combinación rizobacteria-endomicorriza adecuada que incremente el crecimiento y la absorción de N y P en trigo.

Hipótesis.

La coinoculación con rizobacteria-endomicorrizas en trigo incrementa el crecimiento del trigo.

REVISIÓN DE LITERATURA.

TRIGO

En la actualidad el trigo ocupa uno de los primeros lugares de importancia en la alimentación del pueblo mexicano y por lo mismo este cultivo exige un amplio estudio de todos aquellos factores que pueden incrementar su rendimiento sin necesitar mayor área para su explotación.

El trigo se produce en México en casi todos los estados y se adapta tanto a los suelos pobres como a los suelos ricos, zonas húmedas, subhúmedas y secas. Además, este cereal se cultiva desde el nivel del mar hasta altitudes de 2500 a 3000 msnm.

Origen y distribución geográfica.

De acuerdo con estudios realizados por Mangelsdorf, el trigo es originario de la región que comprende el Cáucaso,

Turquía e Irak. Muchas especies de trigo se pudieron encontrar silvestres en Sicilia, Grecia, Palestina, Egipto, Babilonia, Persia (Irán), India y China. Los españoles introdujeron a México el cultivo de trigo a principios de 1520, poco después de su llegada, encontrando que se adaptaba bien a las condiciones climáticas y edáficas de nuestro país (Robles, 1990; Terra Nova, 1995)

Morfología.

El trigo es una planta herbácea no mayor de 80 cm de altura en las variedades silvestres; su sistema radical es adventicio, ya que pierde sus raíces primarias cuando el tallo comienza a desarrollarse. El tallo o caña es verde, rígido, un tanto pubescente, formado por nudos y entre nudos. Las hojas nacen de los nudos, son acintadas y sin pecíolo. La vaina, parte que sobresale del tallo y el limbo, es una lámina verde angosta y con nervaduras longitudinales. La inflorescencia es la espiga conformada por el raquis; es un adelgazamiento del tallo constituido por nudos, entrenudos y la espiguilla, que se compone de un grupo de flores, no todas fértiles, que constan de glumas y glumelas.

El fruto del trigo es una cariósida más o menos larga con un solo grano, que es la semilla caracterizada por una hendidura longitudinal en la parte central, compuesta por el embrión y el endospermo. Su periodo vegetativo es de 150-180 días según las variedades (Terra Nova, 1995).

Clasificación taxonómica.

Según Robles (1990), la clasificación botánica del trigo es la siguiente.

Reyno.....Vegetal.
División.....Embriophyta siphonogama.
Subdivisión.....Angiospermae.
Clase.....Monocotiledoneae.
Orden.....Graminales.
Familia.....Gramineae.

Tribu.....Triticeae.
Subtribu.....Triticinae.
Género.....Triticum.
Especie.....Aestivum.

Etapas de crecimiento del trigo (escala de Feeke.)

Large (1954), describió las diferentes fases de crecimiento de los cereales de grano pequeño de acuerdo a lo establecido por Feeke. Estas fases o etapas fenológicas son: amacollamiento, elongación del vástago, espigamiento, floración y madurez; a su vez, cada fase fue dividida en estados que se describen en el Cuadro1.

Nutrición del trigo.

Tanto las plantas como los animales y seres humanos, requieren alimentos para su crecimiento y desarrollo. Este alimento está compuesto de ciertos elementos químicos a menudo referidos como elementos alimenticios de las plantas (Ortiz y Ortiz, 1984). Se ha encontrado que 16 elementos son esenciales para el crecimiento de las plantas. Los elementos son: C, O, N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, B, Cu, Zn, Mo, Cl. Existen algunos elementos no esenciales pero útiles para las plantas como el Co, V, Na y Ni. Los elementos N, P y K han sido clasificados como elementos mayores, el Ca, Mg y S, como secundarios y los nutrimentos minerales restantes como microelementos (Tisdale y Nelson, 1975).

Cuadro 2.1. Características descriptivas de las etapas vegetativas del cultivo de trigo.

Etapa.	Estado	Descripción.
Amacollamiento.	1	Primer tallo.
	2	Principio de amacollamiento.

	3	Amacollamiento formado por, hojas con frecuencia enrolladas.
	4	Principia erección del pseudotallo, la envoltura de la hoja comienza a crecer.
	5	Pseudotallo (formado por las envolturas de las hojas) fuertemente erectos.
Elongación del Vastago.	6	Primer nudo del tallo visible en la base.
	7	Segundo nudo del tallo formado, apenas visible.
	8	Última hoja visible, pero aún enrollada, principia el crecimiento de la espiga.
	9	Lígula de la última hoja apenas visible.
	10	Embuchamiento, envoltura de la última hoja formada completamente, engrasamiento de la espiga aún no visible.
Espigamiento.	10.1	Barbas apenas apareciendo.
	10.2	Floración: 25% de las espigas fuera de la hoja bandera.
	10.3	Floración: 50% de las espigas fuera de la hoja bandera.
	10.4	Floración: 75% de las espigas fuera de la hoja bandera.
	10.5	Floración: 95% de las espigas fuera de la hoja bandera.
Floración.	10.5.1	Principia polinización.
	10.5.2	Polinización en la parte superior de la espiga
	10.5.3	Polinización en la parte basal de la espiga.
Madurez.	11.1	Estado lechoso del grano.
	11.2	Contenido de germen suave pero seco.
	11.3	Germen duro

Tomado de Large (1954).

Los principales nutrimentos absorbidos por las plantas de trigo incluyen nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, azufre y pequeñas cantidades de otros elementos.

Muchos de los minerales, excepto el nitrógeno, son absorbidos antes o durante la floración, pero la transferencia a la espiga puede ocurrir hasta alrededor de una semana antes de la cosecha. Las plantas de trigo absorben mucho de su nitrógeno en forma de nitrato. La cantidad de nitrógeno en los tallos y hojas llega a su punto máximo al espigamiento, después comienza a incrementarse en las espigas y decrece en los tallos y hojas. La cantidad en el grano incrementa desde el comienzo de su formación hasta su madurez. En las variedades con alto o bajo contenido de proteína antes del espigamiento no hay diferencias en el contenido de

nitrógeno total de las partes vegetativas, pero después de esto el nitrógeno incrementa más rápidamente en las espigas de las variedades de alto contenido proteico (Leonard y Martín, 1967).

Entre los elementos nutritivos esenciales para las plantas y contenido en el suelo, el nitrógeno y el fósforo han sido los más estudiados. En la actualidad se continúa prestando atención a sus relaciones con las plantas superiores e inferiores (de interés) así como también de los microorganismos que intervienen en su absorción.

Lo anterior ha generado un mayor estudio del nitrógeno y del fósforo que de otros elementos. La importancia de cada uno de ellos es relevante, pero la acción conjunta de los procesos de la relación entre ellos y los microorganismos determinan la disponibilidad del nitrógeno y el fósforo para las plantas.

NITRÓGENO.

El nitrógeno se encuentra en la atmósfera con una cantidad aproximada del 80 por ciento en forma de gas; la molécula, está formada por dos átomos de nitrógeno.

El nitrógeno en su forma gaseosa sólo es aprovechado directamente por bacterias aeróbicas específicas asociadas a las plantas de la familia de las leguminosas. Estas bacterias aerobias pertenecen al género *Rhizobium* (*R. leguminosarum*, *R. phaseoli*, *R. trifolia*, *R. lupini*, etc.) y se encuentran en el suelo en su forma flagelada. Las bacterias reciben el N_2 transformándolo, por una reacción química de reducción (lo contrario a la oxidación) en amoníaco (NH_3), que pasa directamente a la circulación de la planta, pues las bacterias están en una relación simbiótica.

De este porcentaje la planta sólo aprovecha un 50 por ciento y el resto es excretado al suelo en forma de ácido glutámico, ácido aspártico, etc. siendo, luego de una transformación en el suelo, asimilado por las plantas.

El nitrógeno es fácilmente soluble al agua del suelo y es sólo parcialmente retenido por las partículas de éste ya que se pierde fácilmente por lixiviación. El nitrógeno alimenta a los microorganismos y favorece así la descomposición de la materia orgánica fresca.

Jacob (1973), determinó que todos los seres vivos están asociados al nitrógeno como elemento constituyente característico en todos los procesos vitales. Está presente en compuestos fisiológicos importantes dentro del metabolismo vegetal, como la clorofila, los nucleótidos, los fosfátidos, los alcaloides, así como las enzimas, hormonas y vitaminas, se considera como un elemento estructural y metabólico que incrementa el contenido de aminoácidos en cultivos alimenticios y forrajeros. Es esencial en la primer etapa del desarrollo y constituye un elemento básico de los seres vivos. Proporciona el color verde oscuro a las plantas y forma parte de la clorofila y de las proteínas (Ortíz y Ortíz, 1984). El NO_3^- y el NH_4^+ una vez en el interior de las células, pasan a constituir las bases nitrogenadas para las distintas funciones fisiológicas de las plantas, en la formación de los aminoácidos y en la síntesis de los prótidos y proteínas del vegetal.

En condiciones de campo, la principal fuente de nitrógeno disponible para las plantas es el nitrato (NO_3^-), que es producido por las bacterias nitrificantes del suelo al convertir el nitrógeno amoniacal o urea que entra al suelo por descomposición y excreción o que se añade como fertilizante. Las plantas pueden utilizar nitratos ya que poseen enzimas que reducen el nitrato (NO_3^-) a nitrito (NO_2^-) y lo transforman a amonio (NH_4^+) (Ray, 1985).

Guerrero (1981), indica que en el momento de encañado el trigo requiere elevadas concentraciones de nitrógeno ya que las concentraciones bajas provocan que las plantas tomen un color verde pálido, su crecimiento sea lento y la planta se endurezca. Por el contrario, un exceso de N prolonga el ciclo vegetativo de la planta y hace a las plantas más susceptibles a las enfermedades. El buen desarrollo de la planta, el rendimiento, el peso y la

calidad del grano de los cereales dependen de un adecuado suministro de nitrógeno (García, 1982).

El nitrógeno en el suelo.

El nitrógeno del suelo se encuentra en forma orgánica e inorgánica. El nitrógeno orgánico ingresa al suelo por los tejidos y órganos de los vegetales y animales. Éste constituye más del 85 por ciento del total existente en el suelo. Su totalidad está determinada por: (a) los residuos orgánicos (85 por ciento) y (b) el N_2 , aportes pequeños del agua de lluvia en forma de amoníaco (NH_3) y de fertilización (Rodríguez, 1992). De esta manera la materia orgánica es atacada por los microorganismos del suelo transformándola en sustancias asimilables por las plantas. Este proceso depende de distintos factores: temperatura del suelo, humedad, aireación y pH. Se puede considerar que la materia orgánica contiene un cinco por ciento de nitrógeno total en su constitución. Según las condiciones de clima y suelo, las plantas utilizan de este total del uno al cinco por ciento (suelos franco-limosos), 1.5 a 2.5 por ciento (suelos franco-arcillosos), uno a dos por ciento (suelos franco arenosos) y del dos al tres por ciento (suelos arenosos). Por el contrario, el nitrógeno inorgánico del suelo se encuentra sólo en una pequeña proporción, que normalmente representa entre el dos y el tres por ciento (Potash y Phosphate Institute, 1988).

El nitrógeno en la planta.

Los vegetales absorben el nitrógeno en sus formas solubles como nitratos y amonios principalmente. En su forma nítrica absorben el anión nitrato (NO_3^-), como constituyente de las distintas sales: nitrato de sodio ($NO_3 Na$), nitrato de calcio [$(NO_3)_2Ca$], nitrato de magnesio [$(NO_3)_2Mg$], nitrato de potasio ($NO_3 K$), etc. En la forma amoniaca, el anión amonio (NH_4^+) es otra forma importante de absorción. Cuando el amoníaco está disuelto en agua recibe un protón (H^+) cargándose positivamente. Además, el NH_4^+ forma parte de todas las sales amoniacaes como: nitrato de amonio

(NO_3NH_4), sulfato de amonio (SO_4NH_4), fosfato monoamónico ($\text{PO}_4\text{H}_2\text{NH}_4$) y fosfato biamónico [$\text{PO}_4\text{H}(\text{NH}_4)_2$] (Devlín, 1970).

FÓSFORO.

El fósforo no se encuentra en estado de pureza química (P) sino que se combina constituyendo los compuestos orgánicos e inorgánicos. Entre los orgánicos se encuentran los fosfolípidos, ácidos nucleicos, fitina e inositol, pertenecientes a la composición de la materia orgánica de los vegetales y animales. Los compuestos inorgánicos, además de proceder de la descomposición del material orgánico, también se originan de los minerales del suelo del grupo del apatito (fluor apatito, clorapatito, hidroxiapatito) y de fosfatos específicos como los de Ca, Fe y Al (Rodríguez, 1992).

La forma química más común del fósforo es la del ácido ortofosfórico (PO_4H_3), cuyo radical aniónico se combina con los cationes Ca^{++} , K^+ y Na^+ para formar sales poco solubles como el fosfato monobásico ($\text{PO}_4\text{H}_2^{-1}$), fosfato bibásico (PO_4^{-2}) y fosfato tribásico (PO_4^{-3}).

El fósforo, al igual que el nitrógeno, juega un papel importante en las funciones especiales en las plantas como:

- Estimula la formación y crecimiento temprano de las raíces, favoreciendo el crecimiento rápido y vigoroso en las primeras etapas de vida de la planta.
- Forma parte del ADN y fosfolípidos, da fuerza a los tallos y ayuda a evitar el acame.
- Aumenta la calidad de frutos, granos, hortalizas, forrajes e incrementa la resistencia a las enfermedades.
- Acelera la madurez temprana en cereales y aumenta la relación de grano a paja; estimula el desarrollo radicular inicial.
- Acelera la formación de semilla y se le encuentra en grandes cantidades en frutos y semillas, aumenta el número de renuevos en cereales

produciendo un número mayor de vástagos, generando espigas con más y mejor grano (Tisdale y Nelson, 1991).

Importancia del fósforo en la agricultura.

Las cenizas de grano de trigo contienen el 50 por ciento de fósforo expresado en anhídrido fosfórico, de ahí la importancia de este elemento en el grano. El fósforo en las primeras etapas vegetativas del trigo, favorece el desarrollo de sus hojas y del sistema radicular, proporciona más rigidez a la planta y la hace más tolerante a las heladas; su ausencia puede ocasionar el acame a las planta (Guerrero,1981).

La importancia del fósforo es proporcionar energía en numerosas reacciones efectuadas por la fosforilación y la desfosforilación. Los cereales son sensibles a la deficiencia de fósforo, especialmente en las primeras etapas del desarrollo aunque requieren menor cantidad de fósforo que de nitrógeno. El fósforo, al igual que el nitrógeno, se encuentra en el suelo en forma orgánica (humus) e inorgánica, combinado con hierro, aluminio, calcio, fluor y otros elementos. El contenido de fósforo en forma inorgánica se encuentra en mayor proporción que en forma orgánica en el suelo (Tisdale y Nelson, 1991).

El fósforo en el suelo.

Este elemento existe en el suelo en muchas formas, tanto orgánicas como inorgánicas, y también es añadido al suelo con abonos y fertilizantes en diferentes materiales como harinas de carne y hueso, escorias básicas, fosfato mineral y superfosfatos solubles con evidencias que indican que las formas solubles en agua son las que más fácilmente toman las plantas aún cuando se insolubilizan inmediatamente después de su aplicación al suelo.

Las formas orgánicas de fósforo son usualmente menos aprovechables que los compuestos inorgánicos. Los fosfatos experimentan cambios en el suelo tanto por efecto de la acción de los microorganismos

como por reacciones puramente químicas, y aún cuando se aplican cantidades muy fuertes a los cultivos, la cantidad de fosfato hidrosoluble en el suelo en cualquier tiempo es muy pequeña (Velasco, 1960).

El movimiento de los fosfatos en el suelo es muy limitada y se ha dicho que los suelos tienen fuertes “poderes fijadores” para los fosfatos. Los suelos pesados muestran el mayor poder fijador que los ligeros, y aún mayores los que tienen alto contenido de hierro. Los dos principales elementos responsables de la fijación de los fosfatos son el calcio en los suelos neutros y alcalinos y el hierro en los suelos ácidos (Rodríguez, 1992).

Debido a la poca movilidad de los fosfatos, éstos deben colocarse siempre lo más cerca posible de las raíces de la planta para que sea aprovechado por ellas. En el caso de cultivos de cereales, se ha superado la dificultad usando máquinas sembradoras y fertilizadoras a la vez que depositan simultáneamente la semilla y el fosfato en el suelo muy cerca uno de otro, y por medio de fertilizantes granulados, de los cuales sólo una pequeña parte queda en contacto con el suelo (Velasco, 1960).

El fósforo en la planta.

Las formas de asimilación por parte de la planta son el fosfato monobásico ($\text{PO}_4\text{H}_2^{-1}$) y el dibásico ($\text{PO}_4\text{H}_2^{-2}$) siendo el primero de mayor utilización que el segundo. Estas formas se encuentran en una baja proporción en el suelo, por lo general, menos de cuatro kg/ha del total existente que va de 800 a 1.600 kg/ha, combinado con otros elementos la mayoría en forma no disponible; pero la restitución es constante ya que en un ciclo normal de cultivo la reposición del fósforo en dicha solución alcanza un número de 250 veces durante la estación de crecimiento de cultivos como el maíz, trigo y soya (Potash y Phosphate Institute, 1988).

El fósforo es importante en la nutrición de la planta de trigo, aunque la cantidad total en la parte aérea nunca alcanza el uno por ciento en peso seco. La absorción de este nutrimento es muy rápida; la máxima cantidad de fósforo en la planta se alcanza dos semanas antes de la cosecha (Bidwell, 1990).

Existe un equilibrio entre el fósforo de la solución del suelo (que absorben las plantas) y el retenido en el complejo absorbente. A medida que se va extrayendo se va reponiendo; generalmente la velocidad de reposición supera a la de extracción en los suelos agrícolas normal (no sucede igual en los muy ácidos o alcalinos) (Rodríguez, 1992).

Las necesidades del fósforo en las plantas son de un quinto a un décimo de las de nitrógeno. En ausencia de dosis adecuadas de fósforo, las plantas tardan en crecer, su sistema de raíces no se desarrolla satisfactoriamente, las plantas se vuelven enanas y tienden a mostrar una coloración púrpura en los tallos (Bear, 1958).

ÁCIDOS HÚMICOS.

Los ácidos húmicos son compuestos orgánicos complejos, de color oscuro, pardo marrón o negro, con un diámetro de 80 a 100 micras. Tienen una importante función en la formación de los suelos (Kanova, 1991). Proviene de la descomposición de la materia orgánica, son una fuente de nutrimentos para las plantas y mejoran algunas propiedades físicas y químicas del suelo.

Los ácidos húmicos contienen oxígeno, hidrógeno y carbono (C,H,O), con una relación de 100:55:7 en peso. El ácido húmico contiene más carbono, más nitrógeno, aproximadamente el mismo hidrógeno y menos oxígeno que el ácido fúlvico (Russell, 1970).

Cuando el suelo es adecuadamente tratado con ácidos húmicos, éstos se absorben energicamente sobre los puntos iónicos con aluminio y

fierro activos, con lo que el poder de retención de fosfatos del suelo se reduce significativamente (Russell, 1970).

Las sustancias húmicas influyen directamente en el crecimiento de las plantas debido a los efectos fisiológicos positivos que provocan y por los efectos que causan sobre las propiedades físico-químicas y biológicas en el suelo (Stevenson, 1982). Igualmente, benefician a los cultivos por sus efectos nutrimentales al contener nitrógeno, fósforo y azufre. Además, influyen en las funciones biológicas de las plantas y microorganismos, la cual se manifiesta en un incremento significativo en la producción de los cultivos.

Kanova (1991), menciona que determinadas fracciones de ácidos húmicos tienen una sorprendente capacidad de estimular los procesos fisiológicos y bioquímicos de las plantas. El mecanismo de acción de determinadas sustancias húmicas se basa en la estimulación de los procesos energéticos relacionados con la respiración y la síntesis de ácidos nucleicos. Ello produce una elevación de la vitalidad del organismo vegetal bajo la acción de sustancias biológicamente activas, aumentando la asimilación de los elementos nutritivos del suelo.

Gaucher (1971), reporta que el humus tiene la propiedad de fijar los cationes indispensables para la nutrición vegetal (potasio, calcio, magnesio y amonio que proceden de su propia mineralización) y de soltarlos a medida de las necesidades de las plantas. Por otra parte, los microconstituyentes del humus actúan como factores de crecimiento o como sustancias rizógenas y ejercen una acción estimulante sobre las raicillas.

García y Aguilera (1980), sostienen que la adición de ácidos húmicos se evidencian en el aumento de tamaño y peso seco de la cosecha del maíz. El análisis de las plantas confirma estos efectos positivos al aumentar los porcentajes de nitrógeno, fósforo, potasio y magnesio.

El uso agrícola de los ácidos húmicos permite estimular las plantas, mejorar los suelos y potencializar al uso de fertilizantes aplicados al suelo

para que ésta los asimile, incrementando así el rendimiento de los cultivos y la calidad de las cosechas. Su aplicación al suelo favorece la formación de agregados y de la estructura, la densidad aparente disminuye, se incrementa la disponibilidad de agua y su conducción va en aumento, incrementa la Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC), disminuye el pH en suelos alcalinos, y se eleva la fertilidad natural al potencializar los nutrientes presentes y disminuir pérdidas por lixiviación (Narro, 1990).

Los ácidos húmicos favorecen la asimilación de nutrientes del suelo por las raíces de las plantas, ya que incrementan la penetrabilidad de las membranas vegetales y la penetración de nutrientes para las funciones requeridas por ellas. En condiciones de sequía, los ácidos húmicos actúan como un filtro y retienen gran parte de las sales disueltas en la solución del suelo para luego ser liberadas lentamente cuando hay agua en el medio. La característica coloidal de los ácidos húmicos mantiene unidas las partículas del suelo reteniendo mayor cantidad de agua y elementos nutritivos (Narro, 1993).

RIZOSFERA.

La rizosfera se considera como la interfase entre la raíz y el suelo. Está determinada por todas las regiones donde tienen lugar las interacciones entre los organismos del suelo (principalmente microorganismos), las raíces y los constituyentes del suelo (Berthelin *et al.*, 1994).

Los efectos estimulantes de las plantas sobre la abundancia y actividad de los microorganismos son más marcados en la rizosfera; en esta región del suelo adyacente a las raíces se genera un microhábitat enriquecido con nutrientes inorgánicos provenientes de exudados. Los exudados radicales juegan un papel clave en la determinación de las interacciones específicas del hospedero con la población rizobacteriana (Kieft, 1991). Por lo tanto, todas las especies vegetales interactúan con una

gran variedad de microorganismos, así la nutrición vegetal ocurre dentro de un sistema complejo de planta-sustrato y microorganismos (Tinker, 1984).

Rizodeposición.

La superficie de la raíz es un sitio crítico para que se dé una interacción entre los microorganismos y la planta (Paul y Clark, 1989). Lynch y Whipps (1990) estimaron que alrededor del 40 por ciento de la producción primaria de las plantas puede ser perdida por rizodeposición (pérdida de carbón a través de las raíces), dependiendo de la especie y edad de la planta y condiciones ambientales. Janzen y Bruinsma (1989), estimaron que para trigo, el 50 por ciento del nitrógeno asimilado estuvo presente bajo la superficie y aproximadamente la mitad de éste fue liberado por la raíz en la rizosfera. Debido a esta gran disponibilidad de sustrato en la rizosfera, la biomasa y actividad microbiana son generalmente mucho más altas que en el suelo no rizosférico.

La principal fuente de sustrato para la actividad microbiana en la rizósfera son los productos de rizodeposición y, según Lynch y Whipps (1990) consisten en:

- Exudados: azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, hormonas y vitaminas liberadas por la raíz sin involucrar energía metabólica.
- Lisatos: liberados cuando las células mueren, (incluyen paredes celulares y, con el tiempo, la raíz completa).
- Mucílagos: consisten en polisacáridos hidratados con residuos galactosa y ácido galacturónico.
- Secreciones: tales como carbohidratos poliméricos y enzimas que dependen de procesos metabólicos para su liberación.
- Gases: como etileno y CO₂.

Microorganismos de la rizosfera.

Dommergues, citado por Schippers, *et al.* (1987), clasificó a los microorganismos de la rizosfera como seres benéficos (simbióticos), dañinos (patogénicos) o sin efecto en la planta (neutrales).

Microorganismos nocivos de la rizosfera. Dentro de esta categoría están los patógenos menores que atacan a las plantas por sus metabolitos, encontrándose los saprofitos o parásitos que están confinados a tejidos juveniles, tales como los pelos radicales, punta de las raíces y células corticales. Los microorganismos nocivos incluyen parásitos facultativos y obligados como *Pilimixia* y *Olpidium* por lo que debe distinguirse de los patógenos mayores o verdaderos ya que éstos penetran a la médula y destruyen al floema, causando síntomas de enfermedad.

Microorganismos benéficos de la rizosfera. En el amplio sentido incluyen simbioses (*Rhizobium*, ciertos actinomicetos y hongos micorrízicos) y saprofitos de vida libre, que incrementan la disponibilidad de los nutrientes o sustancias del desarrollo de las plantas y/o suprimen patógenos parasíticos (Schippers *et al.*, 1987).

Dentro de los microorganismos benéficos de la rizosfera se encuentran aquéllos que además de tener un efecto antagónico contra fitopatógenos también promueven el desarrollo de las plantas (Weller, 1988).

Los tipos de organismos microscópicos son diferentes en la rizosfera que en el suelo circundante, ésta incluye bacterias, hongos y protozoarios. Las bacterias pueden cubrir del cinco al diez por ciento de la superficie radical y los hongos diferentes a las formas micorrízicas presentan una cobertura escasa (Paul y Clark, 1989). Los hongos del suelo generalmente forman la mayor parte de la biomasa microbiana y pueden exceder a las bacterias por factores de tres a diez, aunque en número pueden ser menores a éstas.

La rizosfera es conocida como hospedera de bacterias Gram-negativo en forma de bacilo y desnitrificantes y poco Gram-positivo y Gram.variables como *Bacillus* y *Azotobacter* (Hagedorn *et al.*, 1989).

La microflora rizosférica puede favorecer el desarrollo de la planta mediante diversos mecanismos, tales como (Kloepper *et al.*, 1980):

1. La formación de una estructura estable del suelo.
2. Liberando elementos presentes en forma orgánica por medio de la mineralización.
3. Supresión de patógenos causantes de enfermedades.
4. Incremento en la disponibilidad de nutrientes limitantes del crecimiento vegetal tales como N y P.
5. Supresión de microorganismos nativos perjudiciales de la rizosfera que reducen el crecimiento de la planta pero no causan síntomas de enfermedad.
6. Producción de sustancias de crecimiento.

Factores que afectan a los microorganismos de la rizosfera.

Los microorganismos de la rizosfera son afectados por:

- ◆ La proximidad y la profundidad de las raíces.
- ◆ La edad de la planta y su estado de madurez.
- ◆ Competencia entre ellas mismas (Alexander, 1980).
- ◆ La influencia de la planta sobre la colonización del rizopiano (Bashan *et al.*, 1995).
- ◆ El agua, como el más limitante a su actividad.
- ◆ El pH alcalino.

Bowen y Rovira (1976), afirman que los nutrientes son el factor limitante de la competencia entre bacterias durante la colonización de la rizosfera. Por otra parte, Loper *et al.*, (1985), mencionan que existe menos competencia entre las bacterias nativas de la rizosfera a pH ácido.

Rizobacterias.

Las rizobacterias representan a las bacterias de la rizosfera que tienen la capacidad de colonizar la raíz en respuesta a los exudados (Beauchamp *et al.*, 1991).

Inoculación de rizobacterias.

La inoculación o bionoculación es la introducción de un ente vivo como virus, bacterias, hongos, etc. en un medio propicio para su reproducción.

Los bionoculantes emplean microorganismos que colonizan al sistema radical de la planta e inician una interacción benéfica. Así se ha reportado una respuesta positiva de diferentes cereales a la inoculación con rizobacterias, en especial el trigo con *Azotobacter* (Schmidt *et al.*, 1993), *Azospirillum* (Baldini *et al.*, 1983), *Bacillus* (Chanway *et al.*, 1988) y otras bacterias.

La efectividad de los bioinoculantes está determinada por su cantidad, especialmente el número de organismos viables, y su capacidad para multiplicarse cuando se aplican a la semilla, raíz o suelo (Brown, 1994).

Se ha encontrado que el trigo de primavera incrementa su rendimiento un 32 por ciento cuando se inocula con rizobacterias (Rennie, 1994). Los estudios de bionoculación en trigo se han encaminado hacia las bacterias *diazotróficas* (fijadoras de nitrógeno), como los géneros *Azospirillum* y *Azotobacter*, principalmente. Sin embargo, ha habido evidencias de impacto positivo en rendimiento y peso seco del trigo con la interacción de bacterias pertenecientes al género *Bacillus* (Rennie y Larson, 1979).

Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal.

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) actúan directamente cuando sus metabolitos estimulan el crecimiento de la planta, o indirectamente si desplazan o son antagónicas a la microflora nociva (Beauchamp *et al.*, 1991).

En condiciones de campo se inocularon *Pseudomonas* que colonizaron las raíces de trigo y sobrevivieron en la rizósfera. Aunque la capacidad de las cepas estudiadas para promover el crecimiento del trigo demostró variación de sitio a sitio durante los dos años del estudio, la tendencia consistente de algunas cepas para incrementar los rendimientos de la planta demuestran el potencial de estas rizobacterias como inoculantes de campo (Freitas y Germida, 1992).

Existen evidencias que el amplio espectro de exudados radicales son señales químicas de intercambio planta-microorganismo (Millet y Fieldman, 1984; Sánchez-Yáñez 1996). Estos exudados pueden estimular selectivamente el tipo de colonización microbiana y a su vez las rizobacterias pueden convertir algunos de estos exudados en sustancias promotoras del crecimiento vegetal (SPCV) (Freitas, *et al.*, 1982; Chanway *et al.*, 1988), o bien producir antibioticos y/o sideróforos, solubilizar fósforo y competir o antagonizar con fitopatógenos (Schimit, *et al.*, 1993; Brito, 1995). A través de algunos de estos mecanismos las bacterias pueden estimular y favorecer la eficiencia de asimilación radical del fertilizante nitrogenado por la planta y con ello reducir la dosis de aplicación.

En general, el efecto de las rizobacterias sobre trigo se refleja en el incremento de su materia seca, rendimiento y contenido de nitrógeno en grano o partes vegetativas (Millet y Fieldman, 1984).

MICORRIZAS

La palabra micorriza proviene del griego *mykes* = hongos y *rhyza* = raíz, y se utiliza para designar la relación mutualista que se establece entre un hongo y los tejidos radicales de un gran número de plantas vasculares

(Ferrera-Cerrato, 1995). Esta simbiosis ocurre en aproximadamente el 97 por ciento de las plantas vasculares (por lo menos 300,000 especies), en tanto que se conocen alrededor de 140 especies de hongos (Mukerji, *et al.*, 1988).

De los microorganismos que colonizan la rizosfera, los hongos micorrízicos ocupan una posición ecológica única, ya que parcialmente están dentro de la planta y al mismo tiempo fuera de ella (Bagyarai, 1984).

Los hongos micorrízicos pertenecen a la familia de las *Endogonaceae*, aparentemente una gran variedad de especies y géneros de esta familia se encuentran distribuidos alrededor del mundo (Nicolson, 1975).

Clasificación de micorrizas.

De acuerdo con las relaciones entre los hongos y las células de la raíz (Janerette, 1991), los dos principales tipos de micorrizas son la ectomicorriza y la endomicorriza.

- La ectomicorriza, en la cual las hifas del hongo penetraron los espacios entre las células, son formadas en su mayoría por hongos superiores (Basidiomycetes y Ascomycetes) y muchas especies maderables. Las hifas no penetran en las células y están restringidas a los espacios entre ellas donde forman una red interconectada llamada red de Hartig, la cual juega un papel importante en el intercambio de materiales entre la planta y el hongo.
- La endomicorriza, la cual se caracteriza por la penetración inter e intracelular de la hifas en las raíces, ausencia del manto fúngico y la presencia de modificaciones morfológicas en la raíz, es de ocurrencia muy generalizada y se subdivide en tres grandes grupos: ericoides, orquidioides y vesículo-arbusculares (VAM), siendo estos últimos los de mayor interés.

Las endomicorrizas presentan una morfología típica, caracterizada por estructuras diferenciadas denominadas esporas, hifas, vesículas y arbusculos.

Las hifas son el producto de la germinación de las esporas, las cuales, según Villalobos (1993), son los propágulos más resistentes a condiciones adversas al estar activas; por ello, su función principal es la propagación y preservación del endófito. La hifa es el órgano que le confiere resistencia a la planta a condiciones adversas, producción de fitohormonas, mejoramiento de la estructura del suelo y protección contra enfermedades (Torres, 1993).

Las vesículas son estructuras terminales ovoides o esféricas que contienen abundantes gotas de aceite producidas por las hifas, tanto inter como intracelulares; se ha determinado que estas vesículas funcionan como sitios de reserva para el simbionte y normalmente se forma después de que lo han hecho los arbusculos y cuando la planta está madura o bien cuando es tratada con altos niveles de fertilización (Mosse, 1981). Las vesículas aparecen como el resultado del ensanchamiento terminal de las hifas (Torres, 1993), al establecerse el proceso de colonización, presentan formas ovaladas o esféricas siendo su función principal el almacenamiento de lípidos (García, 1995).

El arbusculo es una estructura haustorial producto de ramificaciones dicotómicas sucesivas que se forman a partir de un ensanchamiento de la misma hifa, denominado tronco arbuscular, cuando una rama de hifa intercelular penetra en la célula cortical (Hayman, 1983)

Importancia de las micorrizas

Las asociaciones micorriza vesículo arbuscular (VAM) y las ectomicorrizas, mejoran la nutrición y capacidad de sobrevivencia y crecimiento de las plantas, así como su tolerancia a condiciones de estrés y a los patógenos del suelo. Además, mejoran la absorción de los elementos

minerales inmóviles del suelo debido a la extensa ramificación de las hifas, proporcionan estabilidad a los ecosistemas e incrementan la productividad en suelos de baja fertilidad (Janos, 1983).

Recientemente, Bethelenfalvay y Linderman (1991), comprobaron la efectividad de las VAM en el intercambio de N con la interconexión de raíces de plantas de soya y maíz, a seis centímetros de separación e inoculadas con *Glomus mosseae*. La gran dispersión hifal, permite además, la formación de agregados del suelo (Francis *et al.*, 1986).

Las VAM, se encuentran asociadas con un gran número de plantas agrícolas, normalmente estas micorrizas se encuentran dispersas en el suelo, pero no llegan a ofertar un volumen suficiente para colonizar los cultivos intensivos y muchas veces son afectadas por el exceso de agroquímicos. La aplicación de formas amoniacales de nitrógeno puede reducir la colonización micorrízica (Chambers *et al.*, 1980). Según Azcon *et al.* (1982), la adición de nitratos ejerce mayor influencia sobre los propágulos del suelo que sobre la cantidad de raíz micorrizada de maíz. Estos investigadores reportaron que la adición de 40, 80 y 120 mg de nitratos/kg de suelo o de 35, 70 ó 140 mg/kg vía foliar, incrementaron el porcentaje de colonización de *Glomus mosseae* en maíz; niveles mayores lo redujeron. Hepper (1984), evaluó en plantas de lechuga, inoculadas con el mismo hongo, el efecto de cuatro concentraciones de nitratos, (21, 42, 84 y 126 mg N/l de solución) y diferentes niveles de fósforo (5.2, 10.3 y 20.7 mg P/l de solución) y observó que en general, la colonización micorrízica se incrementó en todos los niveles de nitrógeno, especialmente cuando usó la dosis más baja del otro elemento. Karow y Lindsey (1985) reportaron también que la inoculación de alfalfa con *Glomus mosseae* aumentó significativamente el porcentaje de micorrización cuando el contenido de nitrógeno en el suelo varió de 0.6 a 31 ppm.

Meyer y Linderman (1986), trabajaron con endomicorrizas arbusculares, demostraron que algunas razas rizosféricas de *Pseudomonas putida* mejoran la infección micorrízica y su crecimiento en plantas de trébol.

Con base en lo anterior, Garbaye (1994), sostiene que el establecimiento de la simbiosis micorrízica en las raíces de la plantas es afectada de múltiples formas por otros organismos de la rizosfera, principalmente por ciertas bacterias.

La mayor eficiencia y facilidad de absorción de nutrimentos por la planta, generadas al ser colonizadas por la endomicorriza arbuscular, se atribuye a la red de hifas externas que se desarrollan en la rizosfera las cuales proporcionan un considerable aumento de la superficie de contacto, ésto trae beneficios significativos solamente cuando el hospedante crece en suelos con baja disponibilidad de nutrimentos. Los hongos endomicorrízicos pueden transferir nutrimentos entre plantas a través de sus micelios interconectados con los sistemas radicales en un agrosistema (Guzmán-Plazola y Ferrera-Cerrato, 1990). Así mismo, mejora la absorción de los elementos minerales inmóviles del suelo debido a la extensa ramificación de las hifas.

Los efectos más estudiados de la simbiosis micorrízica se refieren a la disponibilidad y asimilación de nutrimentos para la planta, principalmente P (Sylvia, 1988; Gómez, 1995; Strullu, 1994; Valdés y Rosales, 1996), pero otros estudios apoyan la posibilidad de que se mejore la asimilación de otros elementos como N (Urquiaga, 1996). También se ha reportado el incremento de la actividad de una microflora asociada a la rizosfera (Coleman, 1985; Hunt, 1990) sobre la solubilización y disponibilidad de formas iónicas asimilables de P provenientes de fuentes orgánicas o inorgánicas fijadas al sistema del suelo, efecto que se ha demostrado estar en función del estrés nutricional y/o hídrico (Peña, 1988; Kothari, 1991; Pan, 1995).

SUELOS

Existen cuatro tipos distintos de suelos alcalinos, de acuerdo a lo mencionado por Cepeda (1983): calizos o calcáreos, salinos, sódicos y salino-sódico.

Los suelos que se originan a partir de la intemperización de materiales calizos se incluyen dentro de los calcimórficos, es decir, que poseen un horizonte cálcico (Balderas, 1990). El pH de los suelos calcáreos oscila entre 7.5 y 8.5 por lo general, debido a la acción tampón del carbonato de calcio. Su valor está controlado por el sistema $\text{CaCO}_3\text{-CO}_2\text{-H}_2\text{O}$. Debido a que la presión parcial del CO_2 es controlada por los factores que favorecen el intercambio gaseoso (aireación) del suelo, este gas disminuye en el suelo hasta que éste está bien aireado. De tal manera que para un mismo contenido de CaCO_3 en el suelo, el que tenga más arcilla y sea más pobre en estructura, será el de pH más bajo.

Los problemas creados por los suelos calcáreos derivan de su humedad excesiva, dificultades de aireación y nutritivas que se reflejan en las plantas cultivadas en este tipo de suelo. La presencia excesiva de calcio disminuye la disponibilidad de ciertos nutrimentos, tales como el P, Zn, Fe, Mn y Bo (Tísdale y Nelson, 1991).

Azcón y Barea (1992), estudiaron tres tipos de suelos calcáreos, utilizando como planta la alfalfa. A los suelos se les suministró cantidades crecientes de fosfato soluble e inóculo de micorriza (V-A). El inóculo fue tan efectivo como la fertilización en cuanto a la absorción de N, P y K ya que la inoculación disminuyó la cantidad de calcio en los suelos y la absorción de magnesio estuvo reducida.

MALEZAS

Las malezas son habitantes comunes de las áreas de cultivo y de terrenos abandonados. Las características que las hacen capaces de competir con las especies cultivadas son la alta germinación de semillas bajo condiciones adversas y el rápido desarrollo de un extenso sistema radical tanto de raíces superficiales como profundas (Crafts, 1975).

En la presente investigación se utilizaron dos malezas asociadas al cultivo de trigo como fuente de inóculo, por lo que se describen a continuación.

Gualda (*Reseda luteola* L.). La gualda es una planta con tallos erectos, glabros, poco ramificados y hasta de un metro de altura. Sus hojas son alternas, sésiles o corto pecioladas, dispuestas en una roseta basal y sobre el tallo, lanceoladas, de cuatro a 15 cm de largo y de uno a 1.5 cm de ancho, con el borde ondulado. Las flores están dispuestas en racimos densos, de 20 a 40 cm de largo en las ramas terminales, tienen cuatro sépalos y cuatro; pétalos cuatro, blanco-amarillentos, de dos a cinco mm de largo, muy desiguales en tamaño y con el borde laciniado. El fruto es una cápsula abierta, trilocular, de cuatro a seis mm de diámetro, con semillas globosas, oscuras de un mm de largo. La gualda es originaria de Europa, ha sido introducida en muchos lugares del mundo debido a que invade terrenos abandonados y en general cualquier área que presente disturbio; es muy presente a la orilla de caminos y carreteras, crece en forma vigorosa en lugares de abundante humedad. Se reproduce sólo por semilla (Villareal, 1983).

Nabo silvestre (*Eruca sativa* Mill). Es una hierba de tallos erectos, ramificados en la base y hasta de 50 cm de alto, glabros o con pubescencia áspera esparcida; hojas alternas, las inferiores oartidas o lobuladas, hasta de 20 cm de largo, las superiores, más pequeñas y menos partidas. Sus flores son vistosas y agrupadas en racimos terminales; presentan cuatro sépalos erectos y pétalos de más de un cm de largo, de color blancuzco con venación café o violeta. El fruto es una silícuca de 1.5 a 2.5 cm de largo, de posición ascendente y con un pico aplanado estéril, a veces tan largo como el resto del fruto. Las semillas son ovoides y de color café claro. El nabo silvestre es una planta nativa de Europa, e introducida en América, se comporta como mala hierba en campos de cultivo, donde puede llegar a ser dominante y dar la apariencia de ser la especie sembrada; es también muy frecuente en jardines y áreas de disturbio. Se reproduce sólo por semilla y su producción por planta es muy abundante (Villareal, 1983).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área general.

El trabajo de investigación se llevó a cabo en las instalaciones del invernadero de alta tecnología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). Geográficamente la institución está localizada a 25° 23' latitud Norte y 101° 00' longitud Oeste, a una altitud de 1743 msnm en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Características del suelo.

De acuerdo a los análisis del suelo utilizado en el experimento se encontraron las características físicas y químicas que se muestran en el Cuadro 3.1.

Inóculo micorrízico.

Recolección de malezas.

Las malezas utilizadas como fuente de inóculo de endomicorrizas VA fueron identificadas como gualda (*Reseda luteola*) y nabo silvestre (*Eruca sativa*) (Villareal, 1983). Ambas plantas están asociadas al cultivo de trigo en el área de influencia de la UAAAN. Las malezas se extrajeron del suelo

procurando no maltratar las raicillas, después se envolvieron en papel estrasa y se colocaron en bolsas de plástico para su traslado al laboratorio de Microbiología del Departamento de Suelos de la UAAAN, donde se lavaron con agua y se secaron a temperatura ambiente. Posteriormente, se maceraron por separado en mortero y se utilizó como inóculo micorrízico 0.01 g de raíz molida/semilla de trigo.

Detección de endomicorrizas VA

Para la detección de la endomicorriza vesículo arbuscular (VA) se efectuó una tinción de raíces de las malezas por el método de Phillips y Haymam (1970), considerando: a) clareo, b) blanqueo, c) acidificación, d) tinción y e) decoloración.

Clareo. Las raíces de las malezas se colocaron en cajas Petri esterilizables, donde se agregó KOH al 10 por ciento para cubrirlas. Se procedió a calentar por 10 minutos a 10 libras de presión.

Blanqueo. Se retiró el KOH y las raíces se enjuagaron con agua destilada. Se agregó H_2O_2 al 10 por ciento hasta cubrirlas, se dejó actuar durante tres minutos y se enjuagaron nuevamente con agua destilada.

Acidificación. Después de enjuagar las raíces, se cubrieron con HCl al 10 por ciento por tres minutos, se eliminó el ácido y, sin enjuagar, se procedió a la tinción.

Tinción. Las raíces se cubrieron con la solución colorante (azul tripano 0.05 por ciento en lactoglicerol), calentándose por 10 minutos a 10 libras de presión.

Decoloración. Se eliminó el colorante y se decoloraron las raíces con lactoglicerol limpio. Posteriormente se realizó un montaje de raíces teñidas en portaobjetos para evaluarlas al microscopio, encontrándose la endomicorriza.

La identificación del género *Glomus* se basó en la caracterización morfológica de las esporas, considerando tamaño, color y estructura superficial (Ferrera-Cerrato, *te al.*, 1993). Debido a que no se obtuvo la identificación del hongo endomicorrízico hasta especie, se designó con G1 a *Glomus* aislado de gualda, y como G2, a *Glomus* aislado de nabo silvestre.

Inóculo bacteriano.

Preparación de la turba.

La turba canadiense comercial (peat moss) utilizada como soporte del bionoculante para su reproducción, fue triturada con criba de 2 mm en un molino eléctrico (modelo Thomas Williams). Posteriormente, se pesaron dos gramos de turba y se colocaron en tubos de ensaye para su esterilización a 120 °C durante 2 horas y secada en estufa a 60 - 65 °C por 24 horas.

Cuadro 3.1. Principales características físicas y químicas del suelo utilizado en la presente investigación.

CARACTERÍSTICAS DEL SUELO	UNIDADES	MÉTODOS	CONTENIDO
Textura.	%	Hidrómetro de Bouyoucos	Migajón-arcilloso
pH	2:1	Potenciómetro	8.2
Materia orgánica	%	Walkley-Black	2.2
Nitrógeno total	%	Kjeldahl	0.11
Capacidad de intercambio catiónico (CIC)	Meq/100g	Acetato de amonio	30.60
Carbonatos totales.	%	Titulación ácida	31.30
Fósforo aprovechable	ppm	Olsen	75.00
Densidad aparente.	g/cm ³	Probeta	1.25

Fuente: Departamento de suelos de la UAAAN, 1998.

Propagación de la bacteria.

La bacteria *Pseudomonas putida* se cultivó en caldo nutritivo esterilizado a 120 °C y se incubó bajo agitación constante a 20 °C durante 48 horas. Esta bacteria, utilizada junto con *Glomus* para inocular el trigo, pertenece a la colección microbiana del Área de Microbiología del departamento de suelos de la UAAAN. Fue aislada de la rizosfera de la maleza *Aristida spp*, que se encuentra asociada al trigo y, en estudios anteriores, mostró capacidad para incrementar el crecimiento de trigo (Guzmán, 1997).

Preparación del bionoculante.

El bionoculante se preparó en bolsas de polietileno donde se colocó la turba (peat moss), previamente esterilizada, y 2.5 mL del medio de cultivo que contenía la bacteria *Pseudomonas putida*. La turba inoculada se incubó de 15 a 20 días a 30 – 35 °C, realizando periódicamente conteos bacteriológicos para seguir el desarrollo de la bacteria hasta lograr una población de 10^6 UFC/g turba, cuantificada por el método de dilución en placa.

Inoculación de la semilla.

Se utilizó semilla de trigo variedad Pavón F-76, del ciclo otoño-invierno 1996-1997, producida por la sección de Cereales del Departamento de Fitomejoramiento de la UAAAN. Es un trigo harinero de hábito de primavera, la

planta florea a los 88 días y alcanza su madurez a los 136 días bajo condiciones de campo (SARH,1980).

Con el fin de inocular las semillas con *P. putida* + G1 o con *P. putida* + G2 se cubrieron éstas con un adherente (sacarosa al 10 por ciento) y se eliminó el exceso para después agregar el bionoculante (Cuadro 3.2).

Siembra y Riegos

La semilla de trigo inoculada se sembró en macetas con 4.5 kg de suelo cuyas características se describen en el Cuadro 3.1. Se sembraron 10 semillas en cada maceta durante la primera semana de mayo de 1998 y se aclaró a una planta por unidad experimental. Se incluyeron tres repeticiones por tratamiento, preparando dos series, una para la primer cosecha y otra para la segunda. Se llevaron a cabo los riegos necesarios en cada unidad experimental según los requerimientos de la planta.

Fertilización.

Se probaron tres niveles de fertilización fosforada: 0, 50 y 100 por ciento de la dosis recomendada para la región (80 kg P_2O_5 /ha), aplicada como superfosfato triple (46% P_2O_5). La fertilización se fraccionó en dos partes iguales y se aplicó al inicio del amacollamiento y al espigamiento. Como fuente de nitrógeno se utilizó urea al (46% N) y se aplicó en todos los tratamientos al

50 por ciento de la dosis recomendada para la región (120 kgN/ha). Además, se aplicaron ácidos húmicos (Humiplex 50 G) al 100 por ciento de la dosis recomendada por el fabricante (20 kg/ha).

Tratamientos.

Los tratamientos consistieron en la inoculación individual o combinada de semillas de trigo con *Glomus* (1, aislado de gualda; 2, aislado de nabo silvestre) y *Pseudomonas putida*, según las combinaciones que se muestran en el Cuadro 3. 1.

Unidades experimentales.

La unidad experimental consistió en una planta de trigo desarrollada en una maceta, con 4.5 kg de suelo. Se establecieron tres repeticiones para cada una de las dos etapas de cosecha (inicio de espigamiento y madurez), resultando un total de 144 unidades experimentales.

Cosecha.

Se efectuaron dos cosechas de trigo, una al inicio del espigamiento, correspondiente al estadio 10.1 de la escala de Feeke (Large, 1954), y la segunda y última a la madurez fisiológica de la planta (estadio 11.2). Posteriormente, la planta se transportó a un solarío y se realizaron pesadas

periódicas, hasta observar peso constante. La separación de grano y vástago se realizó de manera manual. Ambas partes se molieron, por separado, en un molino eléctrico para su posterior análisis químico.

Cuadro 3.2. Descripción de tratamientos.

Tratamiento.	P ₂ O ₅ ^a (%)	Ácidos ^b húmicos	Inoculación ^c
1.(c.a)	00	-	0
2.	00	-	1
3.	00	-	2
4.	00	-	1+2
5.	00	+	0
6.	00	+	1
7.	00	+	2
8.	00	+	1+2
9	50	-	0
10.	50	-	1
11.	50	-	2
12.	50	-	1+2
13.	50	+	0
14.	50	+	1
15.	50	+	2
16.	50	+	1+2
17.(c.r.)	100	-	0
18.	100	-	1
19.	100	-	2
20.	100	-	1+2
21	100	+	0
22	100	+	1
23	100	+	2
24	100	+	1+2

^a 50% = 40 kg P₂O₅/ha; 100%= 80 kg P₂O₅/ha; ^b (-) sin ácidos húmicos y (+) con ácidos húmicos; ^c (0) Sin inocular, (1) *Glomus spp de Gualda (Reseda luteola) L. + Pseudomonas putida*; (2) *Glomus spp de Nabo silvestre (Eruca sativa Mill) + Pseudomonas putida*.

Variables evaluadas.

Se determinó peso seco y por ciento de nitrógeno en vástago de trigo al inicio del espigamiento, a la madurez, se evaluó el por ciento de fósforo en vástago y grano y el rendimiento.

Análisis químico.

La determinación de nitrógeno en vástago se llevó a cabo por el método Kjeldhal en el laboratorio de Ciencias Básicas de la UAAAN. Este método se basa en la conversión de nitrógeno orgánico a nitrógeno inorgánico o mineral (amonificación), aplicando calor de manera prolongada a la muestra de trigo con ácido sulfúrico (digestión). Posteriormente, el nitrógeno se destiló en forma de amonio mediante la acción de hidróxido de sodio para ser colectado en una solución de ácido bórico, la cual es valorada por medio de una titulación con ácido sulfúrico.

La determinación de fósforo se llevó a cabo en los laboratorios de Microbiología y Servicios Generales del Departamento de Suelos de la UAAAN. Para ello, se utilizó el método modificado de Olsen, que consistió en tomar una muestra de un gramo de vástago o grano y colocarlo a temperatura de 600 °C/hora. Después, se agregaron 2 ml de ácido clorhídrico, mezclándose muy bien para vaciarse a un matraz de aforación (100 ml), dejándolo reposar para que las cenizas se sedimentaran. Posteriormente se tomó una alicuota de cinco

ml y se le agregaron cuatro ml de la solución B, previamente preparada. Se aforó a 50 ml. De manera inmediata se tomaron las lecturas al fotospectrómetro a una longitud de onda de 660 nm para determinar la absorbancia. Posteriormente los datos se sometieron a un análisis de regresión lineal para calcular el por ciento de fósforo total.

Diseño experimental y análisis estadístico.

El estudio estadístico se realizó bajo un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de tres (niveles de fósforo) por dos (niveles de ácidos húmicos) por cuatro (inoculación), con tres repeticiones y dos etapas como se muestra en el Cuadro 3. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza y una distribución de medias según la prueba Tukey ($P < 0.01$), para lo cual se utilizó el paquete estadístico de la UANL.

El modelo estadístico utilizado para esta investigación se ajusta a la fórmula:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + \beta_j + C_k + (AB)_{ij} + (AC)_{ik} + (BC)_{jk} + (ABC)_{ijk} + \Sigma_{ijkl}.$$

Donde:

Y_{ij} = Valor observado.

μ = Efecto verdadero de la media general.

A_i = Efecto del i-ésimo nivel de fósforo.

β_j = Efecto del j-ésimo nivel de ácidos húmicos.

C_k = Efecto del k-ésimo nivel de inoculación.

$(AB)_{ij}$ = Interacción del i-ésimo nivel de fósforo por el j-ésimo nivel de ácidos húmicos.

$(AC)_{ik}$ = Interacción del i-ésimo nivel de fósforo por el k-ésimo nivel de inoculación.

$(BC)_{jk}$ = Interacción del j-ésimo nivel de ácidos húmicos por el k-ésimo nivel de inoculación.

$(ABC)_{ijk}$ = Interacción del i-ésimo nivel de fósforo por el j-ésimo nivel de ácidos húmicos y por el k-ésimo nivel de inoculación.

Σ_{ijkl} = Efecto verdadero del error experimental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el fin de evaluar el efecto de la coinoculación rizobacteria-endomicorriza sobre el crecimiento de trigo variedad Pavón F-76 bajo condiciones de invernadero, se consideraron las variables; producción de biomasa (peso seco), por ciento de nitrógeno y fósforo en vástago, por ciento de fósforo en grano y peso seco de grano (rendimiento). El trigo se coinoculó con *Pseudomonas putida* y *Glomus spp* y se cosechó en dos etapas vegetativas, al inicio del espigamiento (etapa 10.1 de la escala de Feeke) y a la madurez fisiológica. Además, se incluyeron dos tratamientos control, uno absoluto (sin inocular y sin fertilizar) y uno relativo, constituido por plantas sin inocular pero fertilizadas al 100 por ciento de P_2O_5 .

Las malezas utilizadas como fuente de inóculo pertenecen a los géneros *Reseda luteola* (gualda) para *Glomus* 1; *Eruca sativa* (nabo silvestre) para *Glomus* 2 y *Aristida sp* (tres barbas) para *Pseudomonas putida*.

Los resultados se sometieron a un análisis de varianza (**ANVA**), que es una metodología estadística que sirve para analizar y particionar la variación, de un experimento. El coeficiente de variación (**CV**) indica el grado de confiabilidad del experimento realizado y debe ser menor o igual a 20 por ciento. El valor de

la "F" calculada (**FC**) muestra cuántas veces es mayor la varianza de tratamientos con respecto a la del error y debe ser un valor alto. Además, los datos se sometieron a una comparación de medias por el método de Tukey ($P < 0.01$).

Al practicar el ANVA, se observó que el fósforo, la inoculación *P. putida*+*Glomus spp* y los ácidos húmicos se comportaron diferente y en forma independiente y manifestaron diferencia altamente significativa con la prueba de Tukey ($P < 0.01$). Lo anterior significa que el efecto de la coinoculación fue significativo sobre el peso seco de vástago y el por ciento de nitrógeno al inicio del espigamiento (Cuadros A1 y A3); igual resultó para el peso seco de vástago, pero a la madurez fisiológica (Cuadro, A5). No sucedió así para los factores de variación ácidos húmicos, por ciento de nitrógeno, por ciento de fósforo o rendimiento, en los cuales no se observó significancia (Cuadros A7, A9 y A13). Tampoco se manifestó diferencia altamente significativa en por ciento de fósforo en grano con las interacciones entre niveles de fertilización fosforada y niveles de inoculación y la interacción de ácidos húmicos con la inoculación, (Cuadro, A11).

EVALUACIÓN AL INICIO DEL ESPIGAMIENTO.

Producción de biomasa (peso seco) de vástago.

En la Figura 1 se muestra la respuesta de trigo a la coinoculación rizobacteriana y endomicorrízica, con y sin ácidos húmicos (AH) y tres niveles

de fertilización fosforada. El trigo con *P. putida* + G1+ G2, sin ácidos húmicos y sin P_2O_5 , alcanzó el mayor peso seco entre los demás tratamientos al mismo nivel de fertilización (Cuadro A2, tratamiento 4). Lo anterior indica el probable efecto de *P. putida* en la solubilización de nutrientes del suelo como el **P** que se encuentra retenido en el suelo, dejándolo disponible para la planta (Parke, 1991) y el de las endomicorrizas VA, que aumentan la zona de exploración y absorción de los nutrientes existentes en el suelo (Aziz y Silvia, 1991).

El trigo coinoculado y adicionado con AH y 50 por ciento de P_2O_5 , presentó un peso seco 43 por ciento superior al trigo control relativo (Cuadro A2, tratamientos 14,15 y 16). El efecto positivo de la inoculación se puede atribuir a que la bacteria reconoció los exudados radicales del trigo y los transformó en fitohormonas que la planta utiliza, incrementando su producción de biomasa (Brown, 1994; Baca *et al.*, 1994). Con respecto a las endomicorrizas, el resultado anterior también es congruente a lo mencionado por Siqueira (1988), que establece que las aplicaciones de cantidades intermedias de fertilizantes favorecen el desarrollo de las micorrizas y el incremento en la biomasa de las plantas. Además, los ácidos húmicos posiblemente estimularon el crecimiento de los microorganismos y favorecieron la asimilación de nutrientes del suelo por las raíces de la planta y su traslocación a diferentes partes de la misma (Narro, 1993). Cabe señalar que el trigo con *P. putida* + G1+G2, pero sin AH, presentó igual peso seco que el trigo inoculado y adicionado con AH. Esto se debe probablemente, a que el inoculante no se vio afectado por la ausencia de AH. Lo anterior es similar a lo

observado en maíz inoculado con *P. putida* y *Azospirillum brasilense*, sin AH, donde el inoculante mixto promovió el desarrollo del maíz en la etapa temprana de crecimiento, con incrementos en la parte aérea de un 23 por ciento (Muñoz-García y Váldez, 1995). Así mismo, Marschner y Dell (1994), encontraron que el cual el peso seco de vástago de sorgo se incrementó, cuando se inoculó con *Glomus fasciculatum* a un nivel intermedio de fertilización fosforada.

El trigo coinoculado y fertilizado con 100 % P_2O_5 presentó, en promedio, 20 por ciento menos peso seco que el trigo coinoculado y fertilizado al 50 por ciento, debido probablemente a que los altos niveles de fertilización reducen la germinación de esporas de *Glomus* (Hepper, 1984) y la colonización micorrízica (Abbott *et al.*, 1984).

Nitrógeno total (%) en vástago.

En la Figura 2 se aprecia el comportamiento del trigo coinoculado, con y sin AH y fertilizado a tres niveles de P_2O_5 sobre el por ciento de nitrógeno en vástago. Se observa que, sin fertilización fosforada, el contenido de nitrógeno del trigo inoculado superó al trigo utilizado como control absoluto (Cuadro A6). Esto se debe a que las bacterias, a bajo contenido de nutrientes, suelen ser más activas y favorecen la absorción de N de la planta. Lo anterior fue demostrado con *Pseudomonas fluorescens* inoculada en una variedad de trigo rojo de invierno, encontrando que produce efectos positivos en la cantidad de materia seca y contenido de N (Rennie, 1994). En la presente investigación, se

puede agregar al efecto benéfico de *P. putida*, la acción del hongo *Glomus*, que, a través de su micelio, transfiere nutrimentos como el P al trigo (Guzmán-Plazola y Ferrera-Cerrato, 1990).

El trigo inoculado con *P. putida* + G1+G2, sin AH, y *P. putida* + G1, con AH (ambos con 50 por ciento de P_2O_5), alcanzó mayor por ciento de nitrógeno en vástago que el trigo control relativo (Cuadro A6, tratamientos 12 y 14). Esta tendencia coincide con lo reportado por Collao (1972), quien observó que las rizobacterias y micorrizas optimizan la absorción de fertilizantes nitrogenado y fosforado, respectivamente. En forma general, se puede afirmar que el efecto de las rizobacterias sobre el trigo se refleja en el incremento de su materia seca y contenido de nitrógeno en grano y partes vegetativas debido a que las bacterias pueden aumentar el área de absorción radical y, por lo tanto, la absorción de N (Morgenstern y Okon 1987). Además, las endomicorrizas y ácidos húmicos benefician a la planta al proporcionarle mayor capacidad de absorción de nutrimentos.

Por otra parte, el incremento de P_2O_5 a 100 por ciento causó un efecto antagónico sobre los inoculantes en comparación al nivel 50 por ciento de P_2O_5 . Okon y Labandera-González (1994), reportan que las relaciones entre las plantas y los microorganismos del suelo pueden no ser evidentes si existe suficiente N y/o P. Este comportamiento se atribuye a la inhibición del efecto positivo de los inoculantes sobre la eficiencia en la absorción de nitrógeno de trigo, según menciona Hepper (1983), quien afirma que las altas dosis de

fertilizante reducen la colonización y desarrollo de los inoculantes y por consiguiente su efecto positivo.

EVALUACIÓN A LA MADUREZ FISIOLÓGICA.

Producción de biomasa (peso seco) de vástago.

En la Figura 3 se presenta el efecto de *P. putida* más *Glomus spp* sobre el peso seco de vástago de trigo, con y sin AH, a tres niveles de fertilización fosforada. Se muestra que el trigo con *P. putida* + G1, sin fertilización fosforada y con AH, alcanzó un peso seco significativamente superior al trigo control absoluto (Cuadro A4, tratamiento 6), probablemente debido a la reacción positiva de los microorganismos con los exudados radicales que juegan un papel clave en la determinación de las interacciones específicas del hospedero con la población rizobacteriana (Kieft, 1991). Los hongos endomicorrízicos promueven un mayor desarrollo de follaje, altura y biomasa, debido a que las plantas micorrizadas son más eficientes en la absorción de agua y nutrientes (Aziz y Silvia, 1991). Asimismo, los ácidos húmicos aplicados directamente al suelo o a la siembra mejoran la respuesta del trigo a la inoculación bacteriana (De Freitas *et al.*, 1982).

El trigo inoculado con *P. putida* + G1+G2 y el inoculado con *P. putida* + G1, ambos con AH y 50 por ciento de P₂O₅, alcanzó mayor peso seco de vástago que el trigo control relativo (Cuadro A4, tratamiento 14 y 16). Meyer y

Linderman (1986), quienes trabajaron con endomicorrizas arbusculares y *P. putida* en trébol, demostraron que *P. putida* mejora la infección endomicorrízica y a el peso seco y crecimiento de la planta. Así mismo, Kloepper *et al.* (1991), encontraron que el incremento en materia seca de la planta es uno de los efectos positivos de las sustancias promotoras del crecimiento vegetal producidas por las bacterias.

Por el contrario, al incrementar el nivel de fertilización fosforada al 100 por ciento, se observó en general, una disminución de peso de vástago aproximadamente de 29.5 por ciento, en relación al trigo fertilizado con el 50 por ciento. Lo anterior es congruente con lo reportado por Germida y Walley (1997), quienes encontraron que cepas de trigo inoculadas con *P. putida* y adicionadas con altas dosis de fertilización, redujeron significativamente el peso seco de vástago. Esto indica que los inoculantes pueden responder adversamente a niveles altos de fertilización, afectando la asociación mutualista entre plantas y microorganismos. Con relación a las micorrizas, lo anterior coincide con lo mencionado por Graham *et al.* (1981), en el sentido de que la inhibición de la simbiosis micorrízica por el aumento en la dosis de fertilización puede estar relacionada con la disminución en la exudación radical.

Nitrógeno total en vástago.

En la Figura 4, se observa el efecto de la coinoculación en trigo sobre el por ciento de nitrógeno en vástago a tres niveles de fertilización fosforada. El

trigo coinoculado con *P. putida* + G1 y sin P_2O_5 , alcanzó mayor por ciento de N que el trigo control absoluto y los demás tratamientos, resaltando el efecto positivo de la coinoculación (Cuadro A8, tratamiento 2). Okon (1985), encontró un efecto similar al inocular gramíneas con *Azospirillum*. Él observó que la bacteria aporta 75 por ciento del nitrógeno que requieren los cultivos de importancia alimenticia, como el maíz, trigo, arroz, sorgo, etc. Además, en la asociación simbiótica micorrízica, el hongo obtiene los nutrimentos orgánicos esenciales y otros beneficios que le permiten multiplicarse en conjunto con las raíces, mientras que la planta tiene un aumento en la tasa de asimilación de N y otros nutrimentos orgánicos (Alexander, 1980).

Por lo que respecta al trigo inoculado con *P. putida* + G2, sin AH y fertilizado al 50 por ciento de P_2O_5 , se observó que éste alcanzó el mayor por ciento de N, en relación a todos los tratamientos con esta fertilización (Cuadro A8, tratamiento 1 y 11). Esto indica que la combinación *P. putida* + G1 mostró un efecto positivo sobre la absorción de nitrógeno. Pacovsky (1985), encontró un efecto similar con la bacteria *Azospirillum* y endomicorrizas en sorgo que incrementaron hasta 20 por ciento la asimilación de N en comparación al sorgo inoculado con la bacteria y la endomicorriza por separado.

Lo anterior no sucedió al 100 por ciento de la fertilización fosforada, ya que el trigo inoculado mostró, en promedio, un decremento de contenido de N de 33 por ciento, en comparación al trigo inoculado y fertilizado al 50 por ciento. Esto se atribuye a que las dosis altas de fertilización pueden disminuir la

exudación radical y, consecuentemente, reducir la colonización micorrízica (Azcon *et al.*, 1982).

Contenido de P (%) en vástago.

En la Figura 5 se muestra el efecto de la coinoculación de trigo a tres niveles de fertilización fosforada sobre el por ciento de fósforo en vástago. El trigo con *P. putida* + G1+G2 y sin P_2O_5 , manifestó un efecto altamente significativo sobre el por ciento de fósforo en vástago, comparado con el trigo control absoluto (Cuadro A 10, tratamiento 8). Lo anterior es congruente con lo observado por Freitas y Germida (1992), quienes inocularon *Pseudomonas fluorescens* a cepas de trigo donde éstas mostraron un estímulo en la absorción de fósforo en vástago. Con relación a las micorrizas, estos resultados coinciden con lo observado por Baon *et al.* (1993), quienes encontraron que el contenido de fósforo en plantas micorrizadas con *Glomus etunicatum* en cuatro cultivares de cebada se incrementó significativamente.

Al incrementar la dosis de fertilización a 50 por ciento P_2O_5 , el trigo con *P. putida* + G1+G2, sin y con AH, logró un contenido de P superior al trigo sin inocular y con la misma dosis de fertilización. Estos resultados coinciden con lo reportado por Holguin *et al.* (1996), quienes mencionan que la asociación mutualista que se lleva a cabo entre las raíces de las plantas y los hongos endomicorrízicos, posibilita una mayor absorción de nutrientes, principalmente fósforo. También se ha reportado que los ácidos húmicos, aplicados directamente al suelo o a las semillas, junto con una inoculación, aumentan la

respuesta positiva del trigo en la absorción de nutrimentos (Freitas *et al.*, 1982). Por lo que respecta al trigo con la misma inoculación pero sin AH, éste no manifestó un efecto negativo, lo cual coincide con reportes donde se afirma que la aplicación o no de AH no aclara el efecto preciso sobre el comportamiento de bacterias en la colonización de la espermosfera (zona que rodea a la semilla), sobre todo cuando se aplican fertilizantes en exceso, lo que causa una disminución de la materia orgánica que influye en el equilibrio de su fertilidad (Sánchez-Yáñez, 1996).

El trigo inoculado y fertilizado al 100 por ciento de P_2O_5 , presentó una disminución de aproximadamente 23 por ciento de fósforo en vástago, en relación al trigo inoculado y fertilizado al 50 por ciento. Esto se debe a que la colonización bacteriana y endomicorrízica puede ser regulada por la dosis del fertilizante. Land *et al.* (1993), reportan que la aplicación de fertilizantes químicos en altos niveles retarda e inhibe la colonización y, por lo tanto, se disminuye la absorción. Ratnayake *et al.* (1978), observaron que el efecto del fósforo sobre la micorrización se debe principalmente, a las modificaciones en el metabolismo de carbohidratos que induce el aumento de concentración en el tejido vegetal. Estos autores estudiaron los posibles mecanismos de inhibición de la colonización micorrízica en *Sorghum vulgare* a diferentes niveles de P y detectaron una mayor exudación de aminoácidos y azúcares reductores cuando aplicaron las dosis más bajas, en relación a las elevadas.

Contenido de P (%) en grano.

En la Figura 6 se muestra el efecto de la coinoculación en trigo sobre el por ciento de fósforo en grano a tres niveles de fertilización fosforada con y sin AH. Se observa que todos los tratamientos coinoculados y sin P_2O_5 , incluso el control absoluto, mantuvieron una respuesta estadísticamente similar, indicando que, para esta variable, la ausencia del fertilizante fosforado no afectó en forma particular la acción de los inoculantes. Sin embargo, al incrementar el nivel de fertilización fosforada a 50 por ciento, el trigo coinoculado con *P. putida* + G1+G2 y adicionado con AH, logró un contenido de P significativamente superior a todos los tratamientos (Cuadro A12 tratamiento 16). Lo anterior se debe posiblemente a que las rizobacterias pueden convertir los exudados radicales de las plantas en sustancias promotoras del crecimiento vegetal o bien, solubilizar fósforo. (Chanway *et al.*, 1988). Además, los ácidos húmicos tienen efectos estimulantes en el crecimiento de microorganismos y favorecen la asimilación de nutrimentos del suelo, principalmente N y P. Por otra parte, las endomicorrizas vesículo-arbuscular benefician a la planta al incrementar su zona de exploración, absorción y traslocación de nutrimentos de baja solubilidad como el P del suelo.

Al incrementar la fertilización fosforada a 100 por ciento, el contenido de P en el grano de trigo inoculado disminuyó significativamente comparado con el nivel de 50 por ciento de P_2O_5 , probablemente debido a que las

concentraciones elevadas de P_2O_5 inhiben el efecto positivo de los inoculantes y con ello la eficiencia de su absorción. Ryan *et al.*, (1994), observaron que al aplicar niveles elevados de fertilizante en trigo se reducía la colonización microbiana. Graham *et al.* (1981), propusieron que la inhibición de la simbiosis micorrízica por el aumento en la concentración de fósforo en trigo puede estar relacionada con la disminución en la exudación radical, más que con la reducción en la concentración de azúcares reductores o aminoácidos de la raíz.

Rendimiento.

En la Figura 7 se aprecia el efecto de la coinoculación *P. putida* + *Glomus spp* sobre el rendimiento de trigo, con y sin AH, a tres niveles de fertilización fosforada. Se observa que sin P_2O_5 , el rendimiento de trigo inoculado fue estadísticamente similar para la mayoría de los tratamientos. No sucedió así al 50 por ciento de P_2O_5 , donde el trigo con *P. putida* + G1+G2+AH y el inoculado con *P. putida* + G1+AH alcanzó un rendimiento significativamente superior al control relativo (Cuadro A14, tratamientos 14 y 16) . Lo anterior indica que las rizobacterias y endomicorrizas, junto con los AH, mostraron efectos positivos a esos niveles de fertilización. Efectos similares fueron encontrados por Bashan (1986), con la inoculación de trigo con *Pseudomonas spp*, que incrementó significativo el rendimiento. Freitas y Germida (1992), quienes inocularon trigo con *Pseudomonas fluorescens*, encontraron que algunas cepas incrementaron los rendimientos de la planta, con ello se demuestra el potencial de estas rizobacterias como inoculantes. Los estudios

de la interacción micorriza-planta han sido de gran interés debido a que promueven el rendimiento de los cultivos, particularmente por su función de incrementar la absorción de nutrimentos relativamente inmóviles en el suelo, tales como el P, Cu y Zn (García, 1995).

Al 100 por ciento de P_2O_5 , el rendimiento del trigo control relativo junto con los inoculados fue significativamente menor que el trigo inoculado y fertilizado al 50 por ciento. Lo anterior es similar a lo encontrado por Lau-Wong (1987), quien afirma que se han obtenido los rendimientos más altos en plantas inoculadas con *Azospirillum spp* con niveles de fertilización más bajos de lo normal que a extremos elevados. Así mismo, Buwalda *et al.* (1990), al analizar el efecto de niveles crecientes de P (5, 14 y 30 mg/kg de suelo) en *Triticum aestivum* micorrizado, detectaron que el aumento en la dosis redujo el por ciento de longitud de la raíz micorrizada.

CONCLUSIONES

Posterior al análisis de resultados sobre el efecto de la inoculación *P. putida* + *Glomus spp* sobre el trigo variedad Pavón F-76, se pueden establecer las siguientes conclusiones.

1. Al inicio del espigamiento, el trigo coinoculado con *Pseudomonas putida* más *Glomus spp*, con y sin AH, y 50 por ciento de P_2O_5 logró un mayor peso seco de vástago, que el trigo control relativo. La dosis elevada de fertilizante disminuyó el efecto benéfico de los inoculantes.
2. El efecto de la inoculación *P. putida* más G1+G2 y *P. putida* + G1 con y sin AH produjo el mayor por ciento de N en vástago de trigo, a la fertilización del 50 por ciento de P_2O_5 , superando al resto de las inoculaciones y fertilizaciones de 0, 50 y 100 por ciento.

- 3 El trigo inoculado con *P. putida* + G1+G2 sin y con 50 por ciento de P₂O₅ manifestó el mayor por ciento de P en vástago y grano en comparación al trigo control relativo y absoluto.
- 4 El trigo inoculado con *Pseudomonas putida* + G1+G2 y adicionada con AH y el inoculado con *P. putida* + G1 + AH, ambos con 50 por ciento de fertilización fosforada, alcanzó un rendimiento significativamente superior al control relativo y absoluto.
- 5 La respuesta del trigo a la inoculación con respecto a las variables evaluadas dependió de la combinación microbiana utilizada y de la dosis de fertilización.
- 6 El mejor peso seco que se logró, para las dos etapas evaluadas a un 50 por ciento de P₂O₅, fue el trigo inoculado con *P. putida* +G1+G2 y adicionado de AH.
- 7 El trigo que alcanzó el mayor contenido de P en vástago fue el inoculado con *P. putida* + G1+G2, con AH y sin fertilizar.
- 8 El mayor rendimiento de trigo se logró con la inoculación combinada de *P. putida* + G1+G2, adicionado con AH y fertilizado al 50 por ciento de P₂O₅.

RESUMEN

El propósito de este trabajo fue analizar el efecto de la inoculación de *Pseudomonas putida* + *Glomus spp* en trigo (*Triticum aestivum* L.) adicionado con ácidos húmicos y tres niveles de P_2O_5 . El estudio se realizó en invernadero y se evaluó (1) la producción de biomasa (peso seco), (2) nitrógeno total (%) en vástago al inicio del espigamiento (3) producción de biomasa nitrógeno total (%) y contenido de P (%) en vástago y grano y rendimiento a la madurez fisiológica.

Los microorganismos utilizados como inoculantes para las semillas de trigo se aislaron de tres malezas asociadas al cultivo de trigo localizadas en los terrenos de la UAAAN; *Pseudomonas putida* fue aislada de tres barbas (*Aristida spp*), *Glomus* 1 de Gualda (*Reseda luteola* L.) y *Glomus* 2 de Nabo silvestre (*Eruca sativa* Mill). El trigo se fertilizó a tres niveles de P_2O_5 (0, 50 y 100 % de la dosis recomienda para la región) y uno de N (50%).

El trigo coinoculado con *P. putida* +G1+G2, adicionado con ácidos húmicos y 50 por ciento de P_2O_5 , incrementó significativamente la producción de biomasa (peso seco) en vástago al inicio del espigamiento, con relación al trigo control relativo, debido probablemente a una acción sinérgica entre *P. putida* y las especies de *Glomus*. Probablemente, la bacteria reconoció los exudados radicales del trigo y los transformó en fitohormonas que la planta utiliza incrementando así su producción de biomasa y el hongo, al aumentar la superficie del área de exploración, aumentó el peso seco de la planta. Al 50 por

ciento de P_2O_5 , el trigo con mayor por ciento de N fue el inoculado con *P. putida* + G1+G2, sin ácidos húmicos, también al inicio del espigamiento, debido a que la rizobacteria y la micorriza aumentaron la eficiencia de absorción del fertilizante.

A la madurez fisiológica, el trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* 1, con AH y sin fertilización fosforada, presentó un peso seco de vástago significativamente superior al control relativo. En relación a por ciento de N, al 50 por ciento de fertilización, se logró con la coinoculación *P. putida* + G2 el cual superó al resto de los tratamientos de la misma dosis de fertilizante así también al control relativo.

En cuanto al contenido de fósforo en vástago a la madurez fisiológica sin y con 50 por ciento de P_2O_5 , fue el coinoculado con *P. putida* + G1+G2, con y sin AH respectivamente, quien mejor contenido logró.

La inoculación de *P. putida* + G1 y *P. putida* + G2 con AH fue la que mejor rendimiento produjo en el trigo fertilizado con 50 por ciento de P_2O_5 , superando estadísticamente al control relativo. Lo anterior indica el probable efecto de *P. putida* y las endomicorrizas en la solubilización y absorción de nutrimentos, que se vio reflejado en un aumento de biomasa y rendimiento de la planta. Además, los AH posiblemente estimularon el crecimiento de los microorganismos y favorecieron la asimilación radical de los nutrimentos del suelo y los trasladaron a diferentes partes de la misma.

