

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

□



Efecto de la inoculación *Pseudomonas putida* y *Glomus spp* sobre la absorción de fósforo en trigo (*Triticum aestivum* L.) cultivado en un suelo calcáreo.

por:

JAVIER PÉREZ CANCINO

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 inoculación *Pseudomonas putida* y *Glomus spp* sobre la absorción de fósforo en trigo (*Triticum aestivum* L.) cultivado en un suelo calcáreo.

Por:

JAVIER PÉREZ CANCINO

Que somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito

parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN SUELOS

Aprobada

Presidente del jurado

~~M.C. Blanca A. Valdivia Urdiales~~

Sinodal

Sinodal

M.C. Felipe Abencerraje R.

M.C. J. de Jesus Rodríguez S.

M.C. Jesús Valenzuela García

Coordinador de la División de Ingeniería

AGRADECIMIENTOS

A Dios, nuestro señor, por darme la oportunidad de vivir, y hacer realidad estos momentos tan especiales. Por guiarme siempre por buen camino.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por la invaluable formación recibida, que me permite cumplir con esta meta, comienzo de una vida profesional dedicada al progreso del campo y al respeto de la naturaleza.

Deseo expresar mi agradecimiento al Comité de Asesoría el cual me guió y apoyó en cada momento para la realización y culminación de este trabajo, y además me brindaron su amistad desinteresada.

M.C. Blanca Valdivia Urdiales base fundamental de dicho proyecto, por haberme dado la oportunidad de iniciar una investigación agrícola, por haberme transmitido sus conocimientos, por su comprensión, apoyo, consejos, orientaciones y sugerencias.

M.C. Felipe Abencerraje Rodríguez por sus valiosas aportaciones y sugerencias en la conducción del experimento y realización de este manuscrito.

M.C. José de Jesús Rodríguez Sahagún por sus orientaciones, observaciones, aportaciones y sugerencias en el presente trabajo de investigación.

A todo el personal que labora en el Departamento de Suelos de la Universidad, que de una u otra manera me han otorgado su apoyo y su amistad.

T.L.Q. María de Jesús Sánchez Velázquez (Chachita) por su valiosa amistad, atención y apoyo en el trabajo de laboratorio.

A la Agronomía; pues de todas las ocupaciones del hombre que derivan beneficio alguno, no hay ninguna tan amable, tan saludable y tan merecedora de la dignidad del hombre libre, como la Agricultura (Cicerón). Y porque hoy en día el reto de todo Ingeniero Agrónomo es cada vez mayor.

DEDICATORIA

A mis padres

Sr. Jesús Pérez Ruiz

Sra. Tere Cancino de Pérez

Con todo mi amor, admiración y respeto a ustedes que me dieron la vida. Mi admiración por ser personas incansables, que con la fuerza de su amor, destreza y nobles consejos, han luchado toda una vida para ver en sus hijos la superación y el éxito. Por haber depositado en mí su cariño, dedicación y confianza para ver realizada una meta más en mi vida, la cual les dedico como un atributo a lo que me han brindado.

A ustedes que me demostraron que para lograr el éxito nunca se debe olvidar nuestros ideales, objetivos y principios.

A mi hermano:

Ignacio de Jesús Pérez Cancino

Mi querido e inolvidable hermano, que gracias a nuestros padres nos enseñaron a ser una familia unida y de prosperidad, por esos lazos de cariño y amor que nos unen aún en los peores momentos, por creer en mí y porque lo quiero mucho.

A mis amigos:

Sergio Gómez, Juan Robles, Luz María López, Camilo Callejas, Eric Sanromán, Hugo Rosas, Salvador López, Miguel Martínez, Jacobo Carranza, Paco Laguna, Ruben Vite, Genaro, Abel Méndez, Yisa Ochoa, Lupita Amezcua, Ana Quiroz, Rita García, por mencionar sólo algunos.

Quienes me brindaron su apoyo y amistad incondicional, de quienes llevo muy buenos recuerdos, por todos los momentos que compartimos.

A mis compañeros de la especialidad de suelos y generación LXXXVI.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE CUADROS.....	IX
ÍNDICE DE FIGURAS.....	X
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
1. Generalidades del trigo.....	5
1.1. Origen y distribución geográfica.....	5
1.2. Morfología.....	6
1.3. Clasificación taxonómica.....	6
1.4. Requerimientos agronómicos del cultivo.....	7
1.4.1. Condiciones ecológicas y edáficas.....	7
1.4.2. Riego.....	8
1.4.3. Fertilización.....	8
1.4.4. Cosecha.....	9
2. Rizósfera.....	9
2.1. Exudados.....	10
2.2. Microorganismos de la rizósfera.....	11
2.3. Factores que afectan a la población rizósferica.....	12
3. Descripción de <i>Pseudomonas</i>	14
4. Micorrizas (<i>Glomus</i> spp).....	16
4.1. Clasificación de las micorrizas.....	16
4.1.1. Endomicorrizas.....	17
4.1.1.1. Taxonomía de VAM.....	19
4.2. Factores que afectan la micorrización.....	19
4.3. Importancia de las micorrizas.....	21
5. Inoculación <i>Pseudomonas</i> - <i>Glomus</i>	22
6. Importancia del fósforo en la agricultura.....	24
6.1. Fertilización fosforada.....	25
6.2. Efecto del fósforo sobre las micorrizas.....	26
7. Suelos calcáreos.....	29
MATERIALES Y MÉTODOS.....	31

1. Localización.....	31
1.1. Área general.....	31
1.2. Área de estudio.....	31
2. Materiales.....	32
2.1. Material vegetativo.....	32
2.2. Suelo.....	32
2.3. Fuentes nutrimentales.....	34
2.4. Preparación del inóculo micorrízico.....	34
2.5. Material microbiano.....	35
2.5.1. Endomicorriza vesículo-arbusculares.....	35
2.5.2. Rhizobacteria (<i>Pseudomonas putida</i>).....	36
2.6. Turba.....	36
3. Preparación del bioinoculante.....	37
4. Preparación del terreno.....	37
5. Inoculación del trigo.....	37
6. Siembra.....	38
7. Fertilización.....	38
8. Riegos.....	40
9. Cosecha.....	40
10. Variables.....	40
11. Análisis químico.....	41
12. Diseño y análisis estadístico.....	41
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
1. Peso seco de vástago.....	43
2. Fósforo total de vástago.....	48
3. Rendimiento de trigo.....	52
4. Fósforo total de grano.....	57
CONCLUSIONES.....	63

RESUMEN.....	65
LITERATURA CITADA.....	67
APÉNDICE.....	74

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Principales características físicas y químicas del suelo de la UAAAN.....	33
Cuadro 2. Distribución de los tratamientos.....	39
Cuadro 3. Valores de medias correspondientes a peso seco de vástago (t/ha) de trigo variedad Pavón F-76.....	47
Cuadro 4. Valores de medias correspondientes a fósforo total (%) de vástago de trigo variedad Pavón F-76.....	51
Cuadro 5. Valores de medias correspondientes a rendimiento de grano (t/ha) de trigo variedad Pavón F-76.....	56
Cuadro 6. Valores de medias correspondientes a fósforo total (%) de grano de trigo variedad Pavón F-76.....	62

APÉNDICE

Cuadro 1A. Análisis de varianza de rendimiento de grano (t/ha).....	74
Cuadro 2A. Análisis de varianza de fósforo total (%) de grano de trigo variedad Pavón F-76.....	74
Cuadro 3A. Análisis de varianza de peso seco de vástago (t/ha) de trigo variedad Pavón F-76.....	75
Cuadro 4A. Análisis de varianza de fósforo total (%) de vástago de trigo variedad Pavón F-76.....	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

- Figura 1. Efecto de *Pseudomonas putida* + *Glomus spp* sobre el peso seco de vástago (t/ha) de trigo variedad Pavón F-76 con dos niveles de nitrógeno y tres de fósforo.....46
- Figura 2. Efecto de *Pseudomonas putida* + *Glomus spp* sobre fósforo total (%) de vástago de trigo variedad Pavón F-76 con dos niveles de nitrógeno y tres de fósforo.....50
- Figura 3. Efecto de *Pseudomonas putida* + *Glomus spp* sobre el rendimiento (t/ha) de trigo variedad Pavón F-76 con dos niveles de nitrógeno y tres de fósforo.....55
- Figura 4. Efecto de *Pseudomonas putida* + *Glomus spp* sobre el fósforo total (%) de grano de trigo variedad Pavón F-76 con dos niveles de nitrógeno y tres de fósforo.....61

INTRODUCCIÓN

El trigo es el cereal de mayor importancia mundial por su demanda como fuente calórica y protéica en la alimentación humana y por la superficie agrícola destinada a su cultivo. En México, el trigo representa el cereal de mayor consumo después del maíz.

La producción actual de trigo, de alrededor de cinco millones de toneladas anuales que ocupa una superficie agrícola nacional de cerca de un millón de hectáreas, es casi suficiente para satisfacer la demanda del consumo del pueblo mexicano. Sin embargo, el acelerado crecimiento de la población y el aumento del consumo “per cápita” de trigo en nuestro país, hace predecir que para el año 2,000, México deberá producir ocho millones de toneladas de trigo para cubrir las demandas alimenticias de más de 100 millones de habitantes (Rodríguez, 1992).

Una de las limitantes en el cultivo de trigo es la disponibilidad de nutrimentos minerales, situación que es particularmente notable en suelos calcáreos que no permiten un desarrollo óptimo de los cultivos, ya que los pocos minerales que se encuentran presentes no están disponibles para la planta.

Como solución alternativa a este problema, se han planteado estrategias que reduzcan el nivel de fertilización, disminuyan la contaminación ambiental y el costo de producción y mantengan el rendimiento de trigo. Una de las estrategias es la inoculación de cultivos de importancia agronómica, como el trigo. A la fecha, ha habido un impacto positivo de programas integrales, que incluyen la inoculación, sobre el rendimiento de grano en esta gramínea y otras como maíz y sorgo.

En la actualidad, se han utilizado como inoculantes algunas bacterias de la rizosfera (rizobacterias) y endomicorrizas vesículo-arbusculares (VAM). Entre las primeras, se encuentra el género *Pseudomonas*, que beneficia a las plantas mediante mecanismos como la solubilización de nutrientes minerales, en especial del fósforo, producción de hormonas reguladoras del crecimiento, interacción sinérgica con otros microorganismos benéficos de la rizosfera e inhibición de fitopatógenos; todas estas actividades incrementan la productividad agrícola. Estas rizobacterias son capaces de trasladarse de las semillas a las raíces e incrementar la biomasa vegetal, por lo que se les considera colonizadores competitivos de raíces.

Las VAM son una forma de simbiosis, que se establece entre hongos de la familia Endogonaceae y una alta diversidad de especies vegetales. Entre las VAM más comunes se encuentra el género *Glomus* que permite a las plantas crecer en suelos infértiles y absorber fósforo y otros nutrientes poco móviles en forma más eficiente que en la condición no micorrizada.

La inoculación con microorganismos como *Pseudomonas* y *Glomus* aumenta la eficiencia de absorción de fósforo, ya que del total de fósforo aplicado a un cultivo en un ciclo, sólo es asimilada una cantidad menor al 50 por ciento. La inoculación puede incrementar la eficiencia de absorción de ese elemento, lo cual permite ahorrar fertilizantes fosfatados.

En virtud de lo anterior, se realizó el presente trabajo con el objetivo de evaluar el efecto de la inoculación *Pseudomonas putida* y *Glomus spp* en semillas de trigo, fertilizado con diferentes dosis de fósforo. El estudio se realizó en el campo experimental de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y se evaluó el efecto de los inoculantes sobre el peso seco y por ciento de fósforo total en vástago así como el rendimiento y fósforo total en grano.

OBJETIVO GENERAL

- Incrementar el rendimiento del trigo con la inoculación *Pseudomonas putida* y *Glomus spp* .

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto de la inoculación *Pseudomonas putida* y *Glomus spp*, aislados de malezas de la región, sobre el rendimiento de trigo.
- Mejorar la eficiencia de absorción de fósforo de trigo inoculado con *Pseudomonas putida* y *Glomus spp* (VAM).

HIPÓTESIS

- La inoculación *Pseudomonas putida* y *Glomus spp* (VAM) incrementa la absorción de fósforo en trigo.

REVISIÓN DE LITERATURA

GENERALIDADES DEL TRIGO.

1.1. Origen y distribución geográfica.

El trigo es originario de la región que comprende el Cáucaso, Turquía e Irak. Muchas especies de trigo se pudieron hallar silvestres en Sicilia, Grecia, Palestina, Egipto, Babilonia, Persia (Irán), India y China.

Las primeras semillas fueron introducidas al continente americano por Hernán Cortés e inicialmente se sembró en las áreas de climas cálidos, pero debido a bajos rendimientos y enfermedades, se empezó a cultivar en las zonas altas. 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).

1.2. 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, formando nudos y entrenudos. Las hojas nacen de los nudos, son acintadas, sin pecíolo, y poseen vaina o parte que sobresale del tallo. Las lígulas y aurículas del trigo se encuentran en la parte que empieza a sobresalir del tallo y el limbo, lámina verde que es 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 cariósipide 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 período vegetativo es de 150-180 días según las variedades (Terra Nova, 1995).

1.3. Clasificación taxonómica.

Robles (1990), indica que el trigo presenta la clasificación botánica que se muestra a continuación:

Clase.....Monocotiledoneae
Orden.....Graminales
Familia.....Poaceae o Gramineae
Tribu.....Triticeae
Subtribu.....Triticinae
Género.....Triticum
Especie.....aestivum

1.4. Requerimientos agronómicos del cultivo.

1.4.1. Condiciones ecológicas y edáficas.

El trigo se produce en regiones templadas y frías situadas desde 15 a 60° de latitud norte y de 27 a 40 ° de latitud sur, prospera en altitudes que van de 0 a 3000 msnm, con una precipitación anual de 800 a 1250 mm/año. Los suelos pueden variar de francolimosos a arenoarcillosos con buen contenido de materia orgánica y fértiles. Tolera suelo con pH de 6.5 a 8.5, las condiciones de temperatura son muy variables dependiendo del cultivar y la región, sin embargo, las que se consideran óptimas fluctúan entre 10 y 25 °C (Robles, 1990; Terra Nova, 1995).

1.4.2. Riego.

Diversos estudios reportan que la eficiencia de los fertilizantes aumenta cuando los riegos se aplican en forma adecuada. Para rendimientos elevados de trigo, las necesidades de agua son de 450 a 650 mm, dependiendo del clima y de la duración del período vegetativo (Doorembos y Kassam, 1979). Las etapas en que requiere más agua el cultivo de trigo son:

- Establecimiento del cultivo.
- Etapa inicial.
- Etapa de floración.
- Etapa de formación de grano.

1.4.3. Fertilización.

Los nutrimentos son uno de los factores que pueden limitar la calidad y rendimiento de las cosechas, por lo que toda persona involucrada en la producción de cultivos debe tener presente que cualquier descuido en el suministro de éstos, resultará en una seria reducción en el rendimiento y calidad del cultivo (Pratley, 1988).

Para conservar y aumentar la fertilidad del suelo, resulta necesario añadir cantidades de nitrógeno, fósforo y potasio. Por lo general, un contenido elevado de materia orgánica significa un adecuado contenido de estos

elementos, pero cuando los análisis indican la carencia de alguno de ellos es necesario recurrir a los abonos minerales (Alexander, 1980).

1.4.4. Cosecha.

La cosecha de trigo se realiza cuando la espiga ha cambiado el color, de verde a blanco cremoso u ocre en variedades café, y el grano tiene una consistencia algo dura, no pastosa ni lechosa. Si se recogen con cosechadora, ésta entrega el trigo limpio y si se recolecta manualmente deben trillarse las espigas y luego limpiar los granos (Robles, 1990).

RIZÓSFERA.

La rizósfera es considerada 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 rizósfera; en esta región del suelo adyacente a las raíces se genera un microhábitat enriquecido con nutrimentos inorgánicos provenientes de exudados. Los exudados radicales juegan un papel clave en la determinación de las interacciones específicas del hospedero con, la descomposición de la población rizobacteriana (Kieft, 1991;

Nehl *et al.*, 1997). 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).

2.1. Exudados.

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 (pérdidas de carbón a través de las raíces), dependiendo de la especie y edad de la planta y condiciones ambientales.

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

- Exudados: azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, hormonas y vitaminas liberados 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, y
- Gases: como etileno y bióxido de carbono.

Los cambios en la cantidad y calidad de los exudados radiculares, por su contenido de carbohidratos y su facilidad para ser absorbidos por los microorganismos del suelo, permiten la proliferación de una gran diversidad de flora microbiana alrededor de la rizósfera destacando particularmente las bacterias (Garbaye, 1994).

2.2. Microorganismos de la rizósfera.

Los tipos de organismos microscópicos son diferentes en la rizósfera que en el suelo circundante, ésta incluye bacterias, hongos y protozoarios. Las bacterias pueden cubrir del cinco al 10 por ciento de la superficie radical, distribuidas en micrositios particulares de la raíz. 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 10, aunque en número pueden ser menores a éstas.

Las bacterias tienen un mayor efecto de rizósfera que otros habitantes microbianos. La rizósfera es conocida como hospedera proporcionalmente de más bacterias Gram-negativas en forma de bacilo (*Pseudomonas*,

Achromobacter) y desnitrificantes y pocos Gram-positivos y Gram-variables como *Bacillus* y *Arthrobacter* (Hagedorn *et al.* , 1989).

La microflora rizosférica puede favorecer el desarrollo de la planta mediante diversos mecanismos tales como (Alexander, 1980; Kloepper *et al.*, 1989):

- 1.- Contribuyendo a 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 nutrimentos limitantes del crecimiento vegetal tales como nitrógeno y fósforo.
- 5.- Supresión de microorganismos nativos perjudiciales de la rizósfera que reducen el crecimiento de la planta pero no causan síntomas de enfermedad.
- 6.- Producción de sustancias de crecimiento.

2.3. Factores que afectan a la población rizosférica.

Los microorganismos de la rizósfera son afectadas por la proximidad y la profundidad de las raíces, la edad de la planta y el estado de madurez de la misma, todo lo cual controla la magnitud del efecto rizósfera y el grado de respuesta por microorganismos específicos.

Debido a que la masa rizobacteriana es muy grande, existe una intensa competencia. En las condiciones de tensión que prevalecen en una gran comunidad, los organismos que crecen con rapidez y los más activos bioquímicamente resultan ser los más favorecidos (Alexander, 1980). La respuesta de los microorganismos a la presencia de raíces vivas ocurre en una gran variedad de ambientes, pero la planta es el factor principal que tiene influencia sobre la colonización de la rizósfera por las bacterias (Piert y Stankiewicz, 1990; Bashan *et al.*, 1995).

El agua es generalmente considerada como el factor más limitante para la actividad biológica en las regiones áridas; en estas condiciones, las bacterias formadoras de esporas y células vegetativas prevalecen por su alta resistencia a la desecación. La producción de mucigel en la rizósfera de las plantas del desierto, actúa como una barrera retentiva de humedad y también incrementa la cantidad de bacterias fijadoras de nitrógeno no simbióticas.

Se han hecho generalizaciones acerca de los efectos de pH en la distribución y actividad de los microorganismos del suelo: las bacterias tienen un rango más estrecho de tolerancia de pH que los hongos; los hongos son favorecidos sobre las bacterias en ambientes ácidos y los actinomicetos se desarrollan mejor que los hongos y otras bacterias en condiciones alcalinas (Kieft, 1991).

DESCRIPCIÓN DE *Pseudomonas*.

La biotecnología ha abierto nuevas posibilidades para la introducción de microorganismos benéficos en suelos con el fin de promover el crecimiento de plantas y llevar a cabo un control biológico de patógenos presentes en suelos (Kloepper *et al.*, 1989). Por lo tanto, el aislamiento y selección de microorganismos (con actividad promotora de crecimiento en plantas, con alta capacidad de sobrevivencia en suelo y de colonización radical, versatilidad metabólica, etc.) presentes de manera natural, continúa interesando a institutos biotecnológicos.

Además de simbioses del grupo de los rizobios, se han encontrado algunos grupos de bacterias asociadas a raíces. Estos grupos denominados genéricamente como PGPR, cuyas siglas en inglés significan Rhizobacterias Promotoras de Crecimiento en Plantas, comprenden principalmente a los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* los cuales inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos y promueven directamente el crecimiento de plantas (Kloepper *et al.*, 1989).

Los primeros estudios efectuados sobre bacterias influyendo evidentemente sobre la rizósfera de plantas, se remontan a varias décadas atrás y en estas relaciones simbióticas se observó la modificación que los tejidos radiculares sufrían. Pero las relaciones no simbióticas entre bacterias y raíces de plantas aunque reconocidas, no fueron tan extensamente estudiadas

sino hasta hace poco tiempo, y comienzan más formalmente con estudios efectuados en Rusia con la descripción de microorganismos capaces de disolver P y fijadores libres de N (Cooper, 1959). A partir de esa fecha, las investigaciones se han desarrollado enormemente con diversos géneros de bacterias PGPR eficientes en la inducción de respuestas en contenido de N en planta y rendimiento de diversos cultivos, entre ellos el trigo.

El género *Pseudomonas* constituye uno de los mayores grupos de bacterias aeróbicas estrictas, quimioherótrofas, gram-negativas. Sus células son bastones rectos o curvos que no sobrepasan 0.8 μm de ancho y que se mueven mediante uno o varios flagelos polares. Los pseudomónidos aeróbicos incluyen bacterias con la mayor versatilidad metabólica entre los organismos conocidos, capaces de utilizar hasta 100 compuestos orgánicos diferentes como única fuente de carbono y energía (Stanier *et al.*, 1981).

La familia Pseudomonadaceae, comprende el género *Pseudomonas*, algunas de cuyas especies son importantes en las alteraciones alimenticias de brócoli y la coliflor (Frazier, 1962). La mayoría de las *Pseudomonas* oxida la glucosa, a menudo con formación de gas. Frecuentemente producen en el medio de cultivo pigmentos fluorescentes solubles en agua (González, 1977).

MICORRIZAS (*Glomus spp.*).

La micorriza es una forma de simbiosis que ocurre entre las raíces de las plantas y cierto tipo de hongos del suelo. En 1885, el botánico alemán Albert Bernad Frank propuso por primera vez el término micorriza, el cual se compone de los vocablos griegos “mikos” que significa hongo y “rhizo” que significa raíz (Siqueira, 1988).

Para Frank (1885) las micorrizas representaban un fenómeno de naturaleza generalizada que resulta de la unión orgánica entre las raíces de la planta y el micelio del hongo en un órgano morfológicamente independiente, con dependencia fisiológica íntima y recíproca, seguida por el crecimiento de ambas partes y con funciones fisiológicas muy estrechas (Ferrera-Cerrato, 1983).

4.1. Clasificación de las micorrizas.

Todos los órganos micorrízicos pertenecientes a un tipo particular son muy similares en su estructura, desarrollo y características fisiológicas, no obstante que la simbiosis puede estar formada por varias especies de hongos. Tradicionalmente las micorrizas han sido clasificadas en base a las características de las alteraciones anatómicas que los hongos ocasionan sobre la morfología de las raíces colonizadas; lo anterior fue establecido por Peyronel

et al., (1996) y comprende principalmente dos grandes grupos: ectomicorrizas y endomicorrizas.

4.1.1. Endomicorrizas.

Este tipo de asociación micorrízica se caracteriza por la penetración inter e intracelular de las hifas en las raíces, ausencia del manto fúngico y la presencia de modificaciones morfológicas en la raíz. Las endomicorrizas son de ocurrencia muy generalizada y se subdividen en tres grandes grupos: ericoides, orquidioides y vesículo-arbusculares (VAM), siendo estos últimos los de principal interés en los trabajos de investigación agrícola.

Los hongos VAM, pertenecen al orden Glomales e incluyen un número limitado de géneros (*Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora* y *Scutellospora*). En la actualidad se conoce muy poco acerca de su taxonomía, debido principalmente a que no ha sido posible mantenerlos en cultivos puros aislados lo que permitiría conocer sus estructuras de reproducción sexual, por lo que se han clasificado principalmente en base a las características morfológicas de sus esporas (Bonfante-Fasolo y Perotto, 1994).

Las observaciones microscópicas muestran que los hongos endomicorrízicos penetran las células corticales del hospedero sin causarle daño; este tipo de micorriza forma tres estructuras principales denominadas hifas, arbusculos y vesículas (Siqueira, 1988).

Las hifas tienen una distribución inter e intracelular en el parénquima de la corteza. Las hifas pueden enrollarse dentro de la célula vegetal y diferenciarse en ramificaciones denominadas arbusculos, a los cuales se les atribuye la capacidad de intercambio nutricional hongo-planta. Como resultado de la interacción fisiológica entre el hongo y la raíz, fuera de ella se desarrolla un micelio capaz de explorar hasta ocho cm más que la raíz no infectada, llegando a sitios donde la planta no puede llegar por sí misma favoreciendo así la absorción de elementos tales como P, N, Ca, K, Mg y microelementos tales como Zn, Cu, Mn y Fe, así como de otros elementos como el Br, I, Cl, Na, Al, Si y metales pesados (Rhodes y Gerdemann, 1975; Taiz y Zeiger, 1991).

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 las vesículas funcionan como sitios de reserva para el simbionte y normalmente se forman 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).

El arbusculo es una estructura haustorial producto de ramificaciones 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 (Mosse, 1963; Hayman, 1983).

4.1.1.1. Taxonomía de VAM.

Las endomicorrizas vesículo-arbusculares se clasifican de acuerdo a sus características morfológicas y a la germinación de sus esporas, como se muestra a continuación (Morton y Benny, 1990).

Reino.....	Mycetae
Subreino.....	Thallophyta
División.....	Eumycota
Subdivisión.....	Zigomicotina
Clase.....	Zigomicetos
Orden.....	Glomales
Familia.....	Endogonaceae
Géneros.....	<i>Glomus</i> , <i>Acaulospora</i> , <i>Gigaspora</i> y <i>Scutellospora</i> .

4.2. Factores que afectan la micorrización.

Las asociaciones VAM son las de ocurrencia más generalizada, ya que se han detectado en aproximadamente el 97 por ciento de las plantas

vasculares (por lo menos 300,000 especies), conociéndose alrededor de 140 especies de hongos (Siqueira, 1988).

La formación de las micorrizas es afectada por factores inherentes a las plantas, al hongo y al medio ambiente (suelo y clima), los cuales actúan sobre los propágulos y sobre las diferentes fases de la simbiosis, ejerciendo gran influencia sobre la formación y funcionamiento de las asociaciones con su entorno ecológico (Siqueira,1988). Los factores propios de la planta, como especie, variedad o cultivar, estadio nutricional, edad, síntesis de compuestos fungistáticos o alelopáticos, follaje, etc., ejercen una gran influencia sobre la micorrización.

La micorrización generalmente se ve influenciada por las propiedades físicas del suelo (textura y estructura), lo que a su vez afecta el contenido de humedad y la aereación del mismo, dado que los suelos con alta humedad o sujetos a inundaciones son suelos con una aereación deficiente y generalmente en ellos no existen micorrizas debido a que los hongos micorrízicos son organismos aerobios obligatorios.

Las variables climáticas, tales como la intensidad de la luz, temperatura y la cantidad y distribución de las lluvias, representan otro grupo de factores que actúan sobre la micorrización; estas variables controlan principalmente la distribución espacial y temporal de las poblaciones de los vegetales superiores, ejercen influencias sobre las características físicas y químicas de los suelos y controlan de manera directa o indirecta la distribución geográfica de los

diferentes tipos de micorrizas, sus variaciones estacionales así como su composición cualitativa y cuantitativa (Siqueira, 1988).

4.3. Importancia de las micorrizas.

Las micorrizas vesículo-arbusculares, mejoran la nutrición de las plantas, proporcionan estabilidad a los ecosistemas, mejoran la capacidad de sobrevivencia y crecimiento de las plantas, así como la productividad en suelos de baja fertilidad, y proporcionan una mayor tolerancia a condiciones de estrés y a los patógenos del suelo. Así mismo, mejoran la absorción de los elementos minerales inmóviles del suelo debido a la extensa ramificación de las hifas (Janos, 1983).

El efecto de las VAM no se restringe solamente al campo, ya que también se ha reportado el mejoramiento de la calidad, sobrevivencia y crecimiento de las plántulas en vivero después de la formación de la micorriza (Perry *et al.*, 1988).

No es muy difícil demostrar el impacto que las micorrizas pueden tener sobre la producción de las cosechas, especialmente en los suelos con bajo nivel de nutrientes; la importancia principal de las asociaciones micorrízicas es que permiten a las plantas aumentar la absorción mineral tanto en los suelos fértiles como en los infértiles; así mismo, a través del micelio de los diversos sistemas radiculares de las plantas hospedadas, es posible que éstas se

interconecten originando canales para la transferencia directa de nutrimentos tales como C, N y P (Francis y Read, 1984; Ritz y Newman, 1984).

La respuesta del crecimiento micorrízico es mayor en los suelos deficientes en fósforo y en aquellos con una elevada capacidad para fijar fosfatos (por ejemplo oxisoles, andisoles, etc.). Este efecto es explicado principalmente por el hecho de que las raíces con VAM tienen un mayor poder de absorción que las raíces no micorrizadas ya que pueden absorber varias veces más fósforo y tienen tasas de flujo considerablemente mayores (Smith, 1982).

Las hifas absorben el fósforo de la solución del suelo por un proceso activo; después de que el fósforo es absorbido es convertido a polifosfato en las vacuolas del hongo y es transportado por la corriente citoplasmática hasta las vesículas, en donde es almacenado temporalmente, o bien puede ir directamente a los arbusculos, donde es hidrolizado por las fosfatasas en fosfato inorgánico (Pi) que es transferido a la célula vegetal, pasando por la interfase hongo-planta denominada matriz (Siqueira, 1988).

INOCULACIÓN *Pseudomonas-Glomus*.

La inoculación de cultivos de importancia agronómica como el trigo, ha sido materia de estudio desde finales del siglo pasado. Al presente, ha habido un impacto positivo sobre el rendimiento de grano en esta gramínea y otras

como maíz y sorgo (Okon, 1985), como resultado de programas integrales que incluyen la inoculación. Esta práctica además, se ha planteado como una herramienta importante en el esfuerzo integral de recuperación de la fertilidad de los suelos sobreexplotados en proyectos a largo plazo para una agricultura sustentable, pero también demuestran una enorme utilidad impactando de forma significativa las estrategias a corto plazo frenando en principio la fertilización creciente de fosfatos mediante la utilización de micorrizas, aunque estudios con inoculaciones bacterianas han sugerido importantes mejoras en la asimilación de P.

Las investigaciones que han procurado mejorar la eficiencia de asimilación de nitrógeno y fósforo por parte de la planta, se han dirigido al uso de diferentes microorganismos, aunque normalmente de forma independiente, es decir, se busca mejorar la eficiencia de asimilación de N por medio de la inoculación de bacterias y se hace lo propio con el P mediante la infección con micorrizas (Okon, 1985). Sin embargo, se ha reportado que el establecimiento de la simbiosis micorrízica en las raíces de las plantas es afectada de múltiples formas por otros microorganismos de la rizósfera, principalmente por ciertas bacterias (Garbaye, 1994). Meyer y Linderman (1986), trabajando con endomicorrizas arbusculares, demostraron que algunas razas rizosféricas de *Pseudomonas putida* mejoran la infección micorrízica y su crecimiento en plantas de trébol.

Debido a la naturaleza biotrófica obligada de los hongos micorrízicos V-A, el método para su propagación es la inoculación de hospedantes cultivados en el suelo fumigado o esterilizado; para ello se utilizan segmentos de raíz previamente infectados, esporas solas o suelo con esporas y otros propágulos. Mediante este procedimiento se producen inoculantes en Estados Unidos, Colombia y Francia (Wood, 1985; Sieverding, 1989); y también es el método más común en trabajos de investigación.

IMPORTANCIA DEL FÓSFORO EN LA AGRICULTURA.

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 de desarrollo. 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.

El fósforo en las primeras etapas vegetativas del trigo, favorece el desarrollo de sus hojas, sistema radicular y proporciona más rigidez a la planta haciéndola más tolerante a las heladas, su ausencia puede ocasionar el acame a la planta (Guerrero, 1981).

El fósforo juega un papel importante en las principales funciones de las plantas como:

- Acelera el crecimiento rápido y vigoroso en las primeras etapas de vida ya que forma parte del ADN y fosfolípidos; da fuerza a los tallos y ayuda a evitar el acamado.
- Aumenta la calidad de frutos, granos, hortalizas, forrajes, incrementando la resistencia a las enfermedades y acelerando la maduración de los frutos.
- Promueve 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 y genera espigas con más y mejor grano (Tisdale y Nelson, 1991).

6.1. Fertilización fosforada.

El fósforo puede ser agregado al suelo en forma de fertilizante, estiércol de animales, desperdicios humanos, residuos de cultivos u otros productos de desecho o el reciclaje del fósforo a través de la aplicación de distintos productos de desecho que se ha llevado a cabo por varios siglos, pero actualmente la demanda de fósforo es mayor que lo que estas fuentes pueden suministrar.

Gil (1995), encontró que la mayor parte del fósforo en el suelo está en la fracción inorgánica, en forma de iones fosfatados y en la fracción orgánica del suelo en forma de ácidos nucleicos, fosfolípidos y ácidos fíticos.

Pancholli y Bishnoy (1980), señalan que tanto el nitrógeno como el fósforo ejercen un papel importante en el crecimiento del cultivo no sólo en el desarrollo vegetativo, sino en el contenido de proteína de grano.

Pasashnikova (1990), realizó estudios sobre el efecto de los fertilizadores fosforados en la producción y calidad de grano en el trigo en suelos calcáreos con un pH de 8.0 y demostró que las mayores producciones de trigo se obtenían con 60 kg de fósforo/ha. El contenido de proteínas y la calidad de la harina del trigo fue mucho mejor, pero solamente hasta un año después de la aplicación del fertilizante. Esta dosis de fósforo contrasta con la de Charles (1976), quien evaluó el efecto de la fertilización nitrogenada y fosforada en dos variedades de trigo en la región central de Coahuila, y encontró que la dosis de fertilización 50-50-0 aumentó la producción en más de media tonelada por hectárea, en suelos calcáreos.

6.2. Efecto del fósforo sobre las micorrizas.

La micorrización generalmente se inhibe en condiciones de elevada fertilidad. Dentro de los macronutrientes, se ha detectado que el P y el N son los dos elementos que ejercen una mayor inhibición. La aplicación de pequeñas

cantidades de fertilizantes puede favorecer el desarrollo de las micorrizas en suelos pobres; sin embargo, cantidades elevadas inhiben la colonización, lo cual a su vez, está relacionado con el estado nutricional de la planta (Siqueira, 1988).

Hayman (1983), argumenta que la simbiosis micorrízica es un proceso autorregulado. El fósforo es el elemento que ha sido más estudiado en relación a la formación de las VAM por la influencia que ejerce sobre su formación. Los incrementos sucesivos en la cantidad de fósforo aplicado al suelo producen un aumento en el contenido de fósforo en la planta pero reducen la colonización, y la longitud de las hifas externas (Abbott *et al.*, 1983; Amijee *et al.*, 1989). Esto depende del contenido inicial de ese elemento en el sustrato; cuando éste es muy bajo ocurre un aumento en la micorrización hasta alcanzar un valor máximo, el cual depende del tipo de sustrato y de los simbiosiontes.

Braunberger *et al.* (1991), estudiaron la morfología de las micorrizas obtenidas mediante la colonización de maíz con *Glomus versiforme*, bajo diferentes niveles de fósforo y encontraron que la fracción de raíces que contiene arbuscúlos, así como aquella que contiene vesículas, presentó una relación inversa a la aplicación de fósforo.

Otros investigadores (Ratnayake *et al.*, 1978) han estudiado los posibles mecanismos de inhibición de la colonización micorrízica en *Sorghum vulgare* y *Citrus aurantium* bajo diferentes niveles de fósforo. Sus resultados indican que hay mayor exudación de aminoácidos y azúcares reductores

cuando se aplican dosis bajas de fósforo y que la cantidad de exudados está correlacionada con la caída en los niveles de fosfolípidos. Graham *et al.* (1981) confirmaron los resultados anteriores y demostraron que las diferencias iniciales en exudación radical tuvieron una estrecha correlación con los niveles subsecuentes de colonización micorrízica.

Siqueira *et al* (1984) reportaron también que la adición de niveles crecientes de fósforo a plantas de soya produjo una disminución en la exudación de azúcares y un incremento en su concentración en el interior de la raíz. Estos autores observaron que a niveles mayores de 30-40 μ g P/g de suelo el contenido de azúcares reductores disminuyó como producto del desbalance en la nutrición de la planta. Por el contrario, Same *et al* (1983) reportaron que en *Trifolium subterraneum*, inoculado con *Glomus fasciculatum*, el incremento en los niveles de fósforo disminuyó la concentración de azúcares en la raíz.

El trabajo de Koide y Li (1990), en el cual determinaron que conforme aumenta la disponibilidad de fósforo la colonización de plántulas de girasol con *Glomus etunicatum* disminuye, confirma que la colonización es regulada en función del contenido nutricional de la raíz, lo cual a su vez está en función de la disponibilidad de nutrimentos en el suelo (Amijee *et al.*, 1989).

Buwalda *et al.* (1982), al analizar el efecto de niveles crecientes (5, 14 y 30 mg/kg de suelo) de fósforo soluble en acetato de sodio, sobre la dispersión

de *Glomus mosseae* en el sistema radical de *Allium porrum* y *Triticum aestivum*, detectaron que aunque el aumento en la dosis redujo el porcentaje de longitud de la raíz micorrizada, la velocidad de dispersión del hongo fue poco afectada.

Sylvia *et al.* (1983), reportaron que *Gigaspora margarita*, *Glomus clarum*, *Glomus mosseae* y *Gigaspora heterogama*, incrementaron significativamente su esporulación al aumentar el nivel de fósforo en el suelo de 98 a 199 mg/kg, mientras que *Glomus etunicatum*, *Glomus macrocarpum* y *Gigaspora gigante* la disminuyeron, debido a la mayor tolerancia del primer grupo de hongos a niveles altos de este elemento en el suelo.

SUELOS CALCÁREOS.

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

Los suelos que se originaron 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.

El pH de los suelos calcáreos es elevado debido a la hidrólisis de carbonato de calcio, donde la producción de iones OH^- , por la disociación del hidróxido de calcio formado es mayor que los iones H^+ procedentes del ácido carbónico débil (Buckman y Brady, 1996).

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 nutrientes, tales como el P, Zn, Fe, Mn y Br (Tisdale y Nelson, 1991).

MATERIALES Y MÉTODOS

1. LOCALIZACIÓN.

1.1. Área general.

La presente investigación se llevó a cabo en terrenos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), ubicada en Buenavista, municipio de Saltillo, Coahuila y cuyas coordenadas geográficas son 25° 21' 20" de latitud norte y 101° 01' 30" de longitud oeste y una altitud media sobre el nivel del mar de 1743 m.

El clima predominante en esta localidad de acuerdo a la clasificación de Koppen modificada por García (1973), es del tipo BW ho (X') (e) que equivale a un clima muy seco, semicálido, con invierno fresco, extremoso y verano cálido, la temperatura media anual es de 16.6 ° C, con régimen de lluvias intermedio entre verano e invierno, con una precipitación media anual de alrededor de 443 mm y una evaporación promedio anual de 2167 mm.

1.2. Área de estudio.

La investigación se realizó en una parcela localizada dentro del área denominada el Bajío, al poniente de la UAAAN, con una superficie aproximada de 500 m². La superficie se dividió en parcelas de rendimiento de 4 m² con 5 surcos de 2 m de largo cada uno y una separación entre parcelas de 0.3 m. Se cosechó sólo 1 m² del centro de la parcela de rendimiento.

2. MATERIALES.

2.1. Material vegetativo.

Se utilizó semilla de trigo de la variedad Pavón F-76, 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).

2.2. Suelo.

Las características físicas y químicas del suelo utilizado en esta investigación se presentan en el Cuadro 1. El suelo según la clasificación taxonómica corresponde a un xerosol háplico, es un suelo que tiene influencia de las Sierras Zapalinamé y de San Juan, la formación casi de su totalidad es a través de material aluvial procedente de las sierras mencionadas. Estos suelos,

de origen calizo, son oscuros aunque algunos son claros debido al carbonato de calcio; son de textura migajón-arcillosa

Cuadro 1. Principales características físicas y químicas del suelo de la UAAAN utilizado en la presente investigación.

CARACTERÍSTICAS DEL SUELO	UNIDADES	MÉTODO	CONTENIDO
Textura	%	Hidrómetro de Bouyoucos	Migajón-arcilloso
PH	2:1	Potenciómetro	8.2
Materia Orgánica	%	Walkley-Black	1.9
Nitrógeno Total	%	Kjeldahl	0.11
Capacidad de intercambio Cationico (CIC)	Meq/100 g	Acetato de amonio	30.6
Carbonatos			

totales	%	Titulación ácida	31.3
Fósforo Aprovechable	ppm	Olsen	75
Da	g/cm ³	Probeta	1.25

Departamento de Suelos de la UAAAN, 1998.

con profundidad mayor a los 2 m y se localizan sobre un estrato calcáreo duro y continuo denominado petrocálcico.

2.3. Fuentes nutrimentales.

El nitrógeno, fósforo y potasio se aplicaron, respectivamente, en las siguientes formas:

- Urea [(NH₂)₂CO], con 46 por ciento de nitrógeno orgánico.

- Superfosfato triple [$10\text{Ca} (\text{H}_2\text{PO}_4)_2$] con 46 por ciento de P_2O_5 que contiene aproximadamente uno por ciento de impurezas del ácido fosfórico y 17 a 20 por ciento de CaO .
- Cloruro de potasio (KCL) con 52 por ciento de potasio y 48 por ciento de cloro.

2.4. Preparación del inóculo micorrízico.

Las endomicorrizas vesículo-arbusculares (VA) utilizadas fueron aisladas de malezas asociadas al cultivo de trigo en la UAAAN. Las malezas, identificadas como *Reseda luteola L.* (gualda) y *Eruca sativa Mill* (nabo silvestre) fueron extraídas del suelo, procurando dejar completo el sistema radicular que se envolvió en papel periódico y se colocó en bolsas de plástico para su traslado al laboratorio de Microbiología del Departamento de Suelos. Posteriormente se separó la raíz de cada maleza y se secó a temperatura ambiente, para después triturarlas por separado en un mortero. El triturado obtenido o inóculo micorrízico se guardó en bolsas enceradas hasta su utilización.

2.5. Material microbiano.

2.5.1. Endomicorriza vesículo-arbuscular (VA).

Se detectó la presencia de las endomicorrizas VA en las malezas *Reseda luteola* (gualda) y *Eruca sativa* (nabo silvestre) asociadas al cultivo de trigo. La detección se realizó mediante la técnica de tinción de Phillips y Hayman (1970) que consta de cinco pasos: 1) clareo, 2) blanqueo, 3) acidificación, 4) tinción, 5) decoloración.

1. Clareo. Las raíces libres de suelo se colocaron en cápsulas esterilizables y se agregó suficiente KOH al 10 % para cubrir las raíces. Se procedió a calentar por 10 minutos bajo 10 libras de presión.

2. Blanqueo. El KOH se retiró y se lavaron las raíces con agua destilada. Se agregó H₂O₂ al 10 % en suficiente cantidad para que cubriera las raíces durante tres minutos, pasando este tiempo se procedió a lavarlas con agua destilada.

3. Acidificación. Las raíces se cubrieron con HCl al 10 % por tres minutos, se eliminó el ácido y sin enjuagar se procedió a la tinción.

4. Tinción. Las raíces se cubrieron con la solución colorante (azul tripano 0.05 % en lactoglicerol) y se calentaron por 10 minutos a 10 libras de presión.

5. Decoloración. El colorante se eliminó y se decoloraron las raíces con lactoglicerol limpio.

Los hongos endomicorrizicos VA fueron identificados en el laboratorio de Microbiología de Suelos como pertenecientes al género *Glomus* tomando como base las características morfológicas de las esporas fúngicas. Se designó

como G a la endomicorriza VA aislada de *Reseda luteola* y como N a la endomicorriza VA aislada de *Eruca sativa* (Cuadro 2).

2.5.2. Rizobacteria (*Pseudomonas putida*).

Se inoculó caldo nutritivo, previamente esterilizado a 120 °C/15', con la rizobacteria *Pseudomonas putida* y se incubó a 20 ° C bajo agitación constante durante 48 horas. La rizobacteria utilizada se aisló de la maleza *Aristida spp*, asociada al cultivo de trigo y que en estudios anteriores mostró un efecto positivo sobre el crecimiento de trigo (Guzmán, 1997). La bacteria, identificada por el sistema computarizado de identificación bacteriana (BIOLOG), forma parte de la colección microbiana del Laboratorio de Microbiología del Departamento de Suelos.

2.6. Turba.

Se utilizó turba candiense comercial como soporte para el bioinoculante. La turba se trituró mecánicamente utilizando un molino marca Thomas Williams con una malla de 2 mm. Se pesaron 80 g de turba molida y se colocaron en recipientes de vidrio para esterilizarse a 120 °C durante 2 horas y se eliminó el exceso de humedad en una estufa a 60 °C. Ya seca la turba, se guardó en bolsas de polietileno hasta su utilización.

3. Preparación del bioinoculante.

En condiciones de asepsia se agregó, en dos partes, 60 ml de caldo nutritivo que contenía el cultivo de la rizobacteria *Pseudomonas putida*. El medio de cultivo se distribuyó homogéneamente en la turba y se dejó madurar por un período de 15 a 20 días a 30 ° C, realizándose conteos bacteriológicos periódicamente para seguir el desarrollo de la rizobacteria hasta lograr una población bacteriana de 10⁶ UFC/g turba.

4. Preparación del terreno.

Con la maquinaria de la UAAAN, el terreno recibió la siguiente preparación: barbecho, dos pasos de rastra cruzados, nivelación, surcado y bordeado. Posteriormente se aplicó un riego de presiembra y se dividió el terreno en 72 parcelas experimentales de 4 m² con cinco surcos de 2 m de largo cada uno, dejando 0.3 m de pasillo entre cada una de las parcelas.

5. Inoculación de trigo.

Se inocularon las semillas de trigo variedad Pavón F-76 con *Glomus G* (aislado de *R. luteola*) o *Glomus N* (aislado de *E. Sativa*) y *Pseudomonas putida* 12 horas antes de la siembra. Para ello, se pesaron 60 g de semilla por parcela de rendimiento, correspondiente a una densidad de siembra de 150 kg/ha, y se cubrieron con adherente (sacarosa 10 %). Posteriormente se mezclaron las semillas con 0.2 g del inóculo micorrízico y 40 g de

bioinoculante según los tratamientos señalados en el Cuadro 2. La semilla inoculada se guardó en bolsas de polietileno hasta su uso el día siguiente. Se preparó una bolsa para cada parcela experimental.

6. Siembra.

La siembra se realizó por el método a chorrillo a principios del mes de febrero de 1998, durante las primeras horas del día con el objetivo de evitar daños a los inoculantes por radiación solar u otro factor climático.

7. Fertilización.

Se utilizó como base de fertilización la dosis óptima recomendada para la región, 120-80-60, (SAGAR, 1996). El nitrógeno se aplicó en dos niveles, 0 y 100 por ciento de la dosis recomendada, en forma de urea con 46 %, el fósforo se aplicó en tres niveles, 0, 50 y 100 por ciento de la dosis recomendada, en forma de superfosfato triple. El nitrógeno y fósforo se fraccionó en 3 partes iguales y se aplicó cada parte durante el inicio del amacollamiento, antes de la floración y al iniciarse el llenado de grano, el potasio se aplicó en su totalidad al inicio de amacollamiento. Toda la fertilización se aplicó en banda en forma manual.

Cuadro 2. Distribución de los tratamientos utilizados en la presente investigación.

Tratamiento	Nitrógeno (%) ^a	P ₂ O ₅ (%) ^b	Inoculación ^c
1	0	0	0
2	0	0	G
3	0	0	N
4	0	50	0
5	0	50	G
6	0	50	N
7	0	100	0
8	0	100	G
9	0	100	N
10	100	0	0
11	100	0	G
12	100	0	N
13	100	50	0
14	100	50	G
15	100	50	N
16	100	100	0
17	100	100	G
18	100	100	N

a 100 % N = 120 kg urea/ha.

b 100 % P₂O₅ = 80 kg superfosfato triple/ha.

c 0 = sin inocular; G = inoculación con *Glomus spp*, aislado de gualda (*Reseda luteola L.*) + *Pseudomonas putida*; N = inoculación con *Glomus spp* aislado de nabo silvestre (*Eruca sativa Mill*) + *Pseudomonas putida*.

8. Riegos.

Se realizó un riego de presiembra por inundación y gravedad y seis riegos por aspersion en las siguientes etapas del desarrollo de trigo.

- Antes de la germinación de las semillas.
- Durante el estado de amacollamiento.
- Durante el encañe.
- Durante la formación de la banderilla o embuche.
- Durante la floración.
- Durante el estado lechoso del grano.

9. Cosecha.

Se cosechó 1 m² del centro de la parcela de rendimiento poco después de que la planta alcanzó su madurez fisiológica. El trigo se cortó con una hoz y se transportó a un local de secado del área de Cereales del Departamento de Fitomejoramiento donde posteriormente se trilló.

10. Variables.

Las variables evaluadas fueron peso seco (t/ha) y fósforo total (%) en vástago y rendimiento (t/ha) y fósforo total (%) en grano.

11. Análisis químico.

La determinación de fósforo se evaluó en los laboratorios de Microbiología y Servicios Generales del Departamento de Suelos de la UAAAN. Se tomó una porción de grano y vástago de trigo de cada repetición y se molió en un molino Thomas Williams utilizando una malla de 2 mm.

Para determinar el fósforo total se utilizó el método modificado de Olsen para lo cual se pesó una muestra de 1 g del material molido y se calcinó a 600 °C por 1 hora. Se dejó enfriar el material calcinado y se agregaron 2 ml de ácido clorhídrico y con una varilla de vidrio se mezcla muy bien el ácido con el material, dicha mezcla se pasa a un matraz de 100 ml y se afora con agua

destilada, se agita y se deja reposar hasta que las cenizas se sedimenten. Se tomó una alícuota del sobrenadante y se agregó a un matraz de 50 ml posteriormente se le aplicó 4 ml de la solución B (1.056 g ácido ascórbico en 200 ml de Sol. A) y se aforó luego se agitó el matraz para que se homogenice la solución adquiriendo una coloración azul, se leyó al Fotoespectrometro a una longitud de onda de 660 nm. Se tomó el valor de la absorbancia y se calculó el valor de fósforo según una regresión lineal.

12. Diseño y análisis estadístico.

El experimento se realizó con un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 (niveles de nitrógeno) x 3 (niveles de fósforo) x 3 (sin inocular, inoculado con *Pseudomonas putida* + *Glomus* G, inoculado con *Pseudomonas putida* + *Glomus* N) con cuatro repeticiones, lo cual equivale a 72 unidades experimentales (Cuadro 2). Se utilizó el paquete estadístico de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), para calcular los análisis de varianza y las pruebas de medias (Tukey con nivel de significancia = 0.05).

Modelo estadístico.

Para examinar los resultados obtenidos en la presente investigación se utilizó el siguiente modelo lineal.

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

donde:

Y_{ijkl} = Valor observado.

μ = Efecto verdadero de la media general.

A_i = Efecto del i-ésimo nivel de nitrógeno.

B_j = Efecto del j-ésimo nivel de fósforo.

C_k = Efecto del k-ésimo nivel de inoculación.

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

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

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

$(ABC)_{ijk}$ = Interacción del i-ésimo nivel de N por el j-ésimo nivel de P y el k-ésimo nivel de I.

\sum_{ijkl} = Efecto verdadero del error experimental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El propósito de este trabajo fue analizar el efecto de la inoculación de semillas de trigo con *Pseudomonas putida* + *Glomus spp* con dos niveles de fertilización nitrogenada y tres de fertilización fosforada. Las variables evaluadas fueron peso seco y por ciento de fósforo total en vástago y rendimiento y fósforo total en grano.

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANVA), que es una prueba estadística que determina la variación y diferenciación de los tratamientos, mientras que el coeficiente de variación (CV) otorga el grado de confiabilidad del proceso realizado, debiendo ser ≤ 30 por ciento en condiciones de campo (Apéndice).

Peso seco de vástago.

En la Figura 1 se observan los resultados de la inoculación de trigo con *Pseudomonas putida* y *Glomus spp* sobre el peso seco de vástago con dos niveles de nitrógeno y tres de fósforo. El trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (G) (aislado de gualda) o *Glomus* (N) (aislado de nabo silvestre), sin fertilizante, obtuvo un peso seco de vástago estadísticamente superior (Cuadro 3) al trigo utilizado como control absoluto (sin inocular o fertilizar). Esto indica que el beneficio principal de la micorriza V-A es aumentar el crecimiento vegetal, probablemente mediante una mayor absorción de los nutrimentos del suelo como N y P. Además, *Pseudomonas* contribuye a una mayor producción de fitohormonas que promueven directamente el crecimiento de las plantas (Kloepper *et al.*, 1989).

El trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (G o N) + 100 por ciento de N y sin P_2O_5 , obtuvo un peso seco de vástago superior al trigo utilizado como control absoluto. Lo anterior indica que la inoculación con *Pseudomonas* mejoró la solubilización y asimilación del fósforo del suelo y que la micorriza V-A permitió una mayor absorción de fósforo del suelo, con lo cual la planta obtuvo un mayor peso seco. Esto sugiere que hubo una asociación simbiótica entre los microorganismos inoculados y la planta, como observó Okon (1985).

El trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (G) y sólo fertilizado con 50 % P_2O_5 , alcanzó un peso seco de vástago estadísticamente mayor (Cuadro 3) al trigo utilizado como control relativo (sin inocular + 100 % N y P), lo cual indica que los microorganismos con un nivel intermedio de P tienen un efecto positivo

sobre el crecimiento de trigo. Una de las mayores contribuciones benéficas de los inoculantes al desarrollo de la planta, es el abastecimiento de nutrientes esenciales, particularmente N y P, ya que éstos son los dos nutrientes que comúnmente limitan el crecimiento de la planta. Marschner y Dell (1994), encontraron que el peso seco de vástago de sorgo se incrementó cuando se inoculó con *Glomus fasciculatum* a un nivel intermedio de fertilización fosforada.

El trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (G o N) + 100 por ciento de N + 50 por ciento de P_2O_5 , manifestó un peso seco de vástago estadísticamente inferior (Cuadro 3) al trigo utilizado como control relativo. Lo anterior indica que la aplicación alta de fertilización nitrogenada inhibió el efecto benéfico de los inoculantes, probablemente debido a que se modificó la producción de exudados radicales y, consecuentemente, se redujo la colonización de la raíz. Un efecto similar fue observado por Vransy *et al.* (1981), quienes reportaron que después de inocular semillas de trigo con *Pseudomonas putida* y aplicar altas dosis de urea, las plantas usualmente presentaron menor crecimiento que resultó en un menor peso seco de vástago.

El trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (G o N) y sólo fertilizado con 100 por ciento de P_2O_5 , manifestó un peso seco de vástago mayor al trigo utilizado como control relativo. Esto se atribuye a que esta dosis de fertilización modificó la producción de exudados radicales que fueron reconocidos por los microorganismos, lo que permitió que se establecieran en la rizósfera. Sin embargo, la adición de 100 por ciento de nitrógeno y fósforo disminuyó el efecto positivo de los inoculantes sobre el peso seco de vástago de trigo.

Fósforo total de vástago.

En la Figura 2 se observan los resultados de la inoculación de trigo con *Pseudomonas putida* + *Glomus spp* sobre el contenido de fósforo total en vástago. El trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (G o N) y sin fertilizar alcanzó un por ciento de fósforo total estadísticamente igual (Cuadro 4) al trigo utilizado como control absoluto.

Esto indica que es necesaria la aplicación de fertilizantes para que se manifieste el efecto de los inoculantes sobre el contenido de fósforo en el vástago. Lo anterior coincide con lo reportado por Holguin *et al.* (1996), quienes afirman que con la aplicación de cantidades mínimas de fertilizantes se establece la asociación mutualista entre bacterias de la rizósfera y hongos endomicorrízicos que posibilita una mayor absorción de nutrimentos, principalmente de fósforo. Por otra parte, el trigo inoculado y fertilizado sólo con 100 por ciento de N, alcanzó un por ciento de fósforo total de vástago mayor al trigo utilizado como control relativo. Este resultado se puede atribuir a que la fertilización nitrogenada aumentó el efecto sinérgico de los inoculantes posiblemente debido a una mayor colonización radical, que permitió que *Pseudomonas* aumentara la solubilización del fósforo del suelo o que, junto con *Glomus*, incrementara la absorción de este nutrimento.

El trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (G o N) y fertilizado sólo con 50 por ciento de P₂O₅, manifestó un por ciento de fósforo total de vástago superior a los demás tratamientos. Esto indica que a este nivel de fertilización fosforada los inoculantes son capaces de solubilizar P y aumentar la absorción radical de este elemento. Por el contrario, cuando el trigo inoculado se fertilizó con 100 por ciento de N y 50 por ciento de P₂O₅, su contenido de fósforo disminuyó notablemente, debido a que esta cantidad de nitrógeno inhibe el efecto positivo de los inoculantes sobre la eficiencia de asimilación de fósforo, como observaron Poit *et al.* (1988).

El trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (G o N) y sólo con 100 por ciento de fertilización fosforada, obtuvo un por ciento de fósforo total de vástago superior al trigo utilizado como control relativo. Esto pone de manifiesto que la dosis alta de fertilización fosforada por sí sola es suficiente para que *P. putida* y *Glomus* aumenten la absorción radical de fósforo en trigo. Lo anterior es congruente con lo observado por Freitas y Germida (1992), quienes inocularon trigo con *Pseudomonas fluorescens* y observaron una mayor absorción de fósforo en vástago.

El trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (G o N) + 100 por ciento de N y P, presentó un por ciento de fósforo total de vástago inferior al trigo utilizado como control relativo. Con esto se comprueba que las dosis altas de fertilización nitrogenada y fosforada probablemente reducen la colonización radical, y con ello, el efecto positivo de los inoculantes sobre la absorción de fósforo. Same *et al.* (1983), reportaron que en *Trifolium subterraneum*, inoculado con *Glomus fasciculatum*, el incremento en los niveles de fósforo disminuyó la concentración de azúcares en la raíz, lo cual disminuyó la colonización y redujo el contenido de fósforo en vástago.

Rendimiento de trigo.

En la Figura 3 se observa el efecto de la inoculación *P. putida* + *Glomus* sobre el rendimiento de trigo fertilizado a dos niveles de nitrógeno y tres de fósforo. El trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (G o N), sin fertilizante, logró un rendimiento estadísticamente superior (Cuadro 5) al trigo utilizado como control absoluto, lo que indica que los inoculantes afectaron positivamente la capacidad de absorción de la planta de los nutrimentos del suelo.

El trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (G) + 100 % N y sin P₂O₅, manifestó un rendimiento significativamente mayor (Cuadro 5) al trigo utilizado como control absoluto. En general, el efecto de *Pseudomonas* sobre trigo se refleja en el incremento de rendimiento y contenido de fósforo de grano según Vransy *et al.* 1981. Por otra parte, las endomicorrizas vesículo-arbusculares como *Glomus* benefician el rendimiento de la planta al incrementar su zona de exploración, absorción y traslocación de nutrimentos de baja solubilidad como el fósforo del suelo (Sylvia *et al.*, 1983).

El trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (N) + 50 por ciento de P₂O₅ y sin N, alcanzó un rendimiento estadísticamente mayor (Cuadro 5) a todos los demás tratamientos. La inoculación con *P. putida* + *Glomus* (G) y a la misma fertilización produjo un rendimiento de trigo ligeramente menor que la inoculación *P. putida* + *Glomus* (N), pero superior al control relativo. Esta respuesta del trigo a la inoculación se debe a que los inoculantes con niveles intermedios de fertilización fosforada aumentan el rendimiento de trigo debido a la producción de fitohormonas, por parte de *Pseudomonas putida*, y a una mayor colonización y producción de esporas por *Glomus*, como observaron Guzmán-Plazola *et al.* 1988; Mosse, 1981. Cuando las plantas inoculadas se fertilizaron con 100 por ciento de N y P₂O₅, disminuyó el rendimiento, especialmente en el trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (N). Esto muestra que *Glomus* (G) y *Glomus* (N) probablemente son especies distintas porque responden de manera diferente a la misma dosis de fertilización. La disminución del rendimiento se puede deber a una reducción en la colonización radical debido a que la dosis de nitrógeno impidió el establecimiento de los inoculantes o redujo su efecto benéfico (Collao, 1972).

El trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (G o N) y fertilizado sólo con 100 por ciento de P₂O₅, presentó un rendimiento estadísticamente mayor (Cuadro 5) al trigo utilizado como control relativo, pero inferior al trigo inoculado y fertilizado con 50 % P₂O₅, lo que indica que las dosis crecientes de fertilización fosforada reducen la acción de *Pseudomonas*, en cuanto a su poder de solubilización del fósforo del suelo, y disminuyen el efecto de *Glomus*, posiblemente debido a que se reduce la longitud de la raíz micorrizada, impidiendo la absorción de fósforo (Buwalda *et al.*, 1982). Este efecto se acentúa cuando el trigo inoculado se fertiliza con 100 por ciento de N y P, ya que el rendimiento es significativamente menor al control relativo (Cuadro 5). Lo

anterior se debe a que con niveles extremos de estos dos elementos se inhibe la colonización. Según Ratnayake *et al.* (1978), el efecto perjudicial de las altas dosis de fertilización nitrogenada y fosforada sobre la colonización micorrízica, parece deberse a las modificaciones en el metabolismo de carbohidratos, además de reducir la exudación de aminoácidos y azúcares. Por otro lado, Graham *et al.* (1981), propusieron que la inhibición de la simbiosis micorrízica por el aumento de la dosis de fertilizante puede estar relacionada con la disminución en la exudación radical.

Fósforo total de grano.

En la Figura 4 se muestran los resultados de la inoculación *P. putida* + *Glomus* en el contenido de fósforo total de grano de trigo con dos niveles de nitrógeno y tres de fósforo. Se observa que el trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (G o N) y sin fertilizar, o sólo fertilizado con 100 por ciento de N, alcanzó un por ciento de fósforo total de grano superior al trigo utilizado como control absoluto. Esto se debe a que *Pseudomonas* tiene la capacidad de solubilizar los minerales y nutrimentos existentes en el suelo, dejándolos disponibles para la planta y que *Glomus* ayuda a incrementar la disponibilidad y absorción de nutrimentos y aumenta el contenido de fósforo en grano (Sylvia *et al.*, 1983).

El trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (G o N) + 100 por ciento de N y sin P₂O₅, obtuvo un por ciento de fósforo total de grano superior al trigo

utilizado como control absoluto. Estos resultados sugieren que los inoculantes con una dosis alta de nitrógeno incrementaron la asimilación de fósforo de trigo, debido a que existe mayor exudación radicular en la rizosfera (Baca *et al.*, 1994).

El trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (G o N) y sólo con 50 por ciento de P_2O_5 y sin N, obtuvo un por ciento de fósforo total de grano estadísticamente mayor (Cuadro 6) al trigo utilizado como control relativo pero, estadísticamente igual al inoculado y fertilizado con 100 por ciento de N + 50 por ciento de P_2O_5 . Probablemente los microorganismos aumentaron la capacidad de absorción de fósforo en grano. Estos resultados coinciden con lo observado por Collao (1972), que encontró mayor cantidad de fósforo en grano por medio de la incorporación de microorganismos como son los inoculantes.

El trigo inoculado con *P. putida* + *Glomus* (G o N) + 100 por ciento de N y P_2O_5 , presentó un por ciento de fósforo total de grano inferior al trigo utilizado como control relativo. Con esto se comprueba que al incrementar los niveles de fertilizantes nitrogenados y fosforados disminuye el contenido de fósforo total de grano, posiblemente debido a que no se establece la simbiosis entre los inoculantes y el hospedero. Lu y Miller (1989), en un estudio de maíz en campo, establecieron que los incrementos en las aplicaciones de fertilizantes reducen el grado de colonización de la micorriza vesículo-arbuscular, lo que se refleja en un menor contenido de fósforo de grano.

CONCLUSIONES

Después de analizar los resultados del efecto de la inoculación *P. putida* + *Glomus spp* sobre el crecimiento, rendimiento y absorción de fósforo de trigo fertilizado con tres niveles de fósforo, se concluye lo siguiente:

1. Se comprueba que la inoculación *P. putida* + *Glomus* (G) de trigo produjo un mayor peso seco de vástago cuando se fertilizó sólo con 50 por ciento de P_2O_5 , comparado con el control relativo.
2. Se observa un incremento en el contenido de fósforo total de vástago con la inoculación *P. putida* + *Glomus* (G) + 50 por ciento de fósforo y sin N.
3. Se determinó que la inoculación *P. putida* + *Glomus* (N) logró un mayor rendimiento de trigo si se fertiliza exclusivamente con 50 por ciento de fósforo.
4. Se comprueba que se obtuvo un mayor por ciento de fósforo total de grano con la inoculación *P. putida* + *Glomus* (N) + 50 por ciento de fósforo y sin N.
5. Se comprueba que la inoculación *P. putida* + *Glomus* aumenta el contenido de fósforo en vástago y grano en el trigo con 50 por ciento

y sin N pero cuando se incrementa la dosis de fertilización fosforada, disminuye el contenido de fósforo

6. El contenido de fósforo en vástago del trigo inoculado dependió de la dosis de fertilización nitrogenada y fosforada mientras que en el grano fue independiente del fertilizante aplicado.
7. El trigo tuvo mejor respuesta en el peso seco y contenido de fósforo total en vástago cuando se inoculo con *P. putida* + *Glomus* (G) pero mejor rendimiento y contenido de fósforo total de grano con la combinación *P. putida* + *Glomus* (N).

RESUMEN

Se realizó una investigación experimental como una alternativa de solución a los problemas agrícolas que reduzcan el nivel de fertilización, disminuyan el costo de producción y mantengan el rendimiento. Una de las alternativas es la inoculación a semillas de trigo con la incorporación de bacterias de la rizosfera (rizobacterias) y endomicorrizas vesículo-arbusculares (VAM), ya que estos microorganismos benefician a las plantas por diversos mecanismos como la solubilización y absorción de nutrimentos minerales, como el fósforo y el nitrógeno.

Los microorganismos utilizados como inoculantes fueron aislados de malezas asociadas al cultivo de trigo. *Pseudomonas putida* fue aislada de la rizosfera de *Aristida spp* (tres barbas) y los hongos micorrízicos del género *Glomus spp* se obtuvieron de *Reseda luteola* (gualda) y *Eruca sativa* (nabo silvestre). Se inocularon semillas de trigo con *P. putida* y uno de los *Glomus* y se fertilizaron con 0, 50 y 100 % P₂O₅. Las variables evaluadas fueron peso seco (t/ha) y fósforo total (%) en vástago así como rendimiento (t/ha) y fósforo total (%) en grano.

Se compruebo que la inoculación *P. putida* + *Glomus* (G) de trigo produjo un mayor peso seco de vástago y contenido de fósforo total de vástago cuando se fertilizó sólo con 50 por ciento de fósforo y sin N.

Se determinó que la inoculación *P. putida* + *Glomus* (N) logró un mayor rendimiento y contenido de fósforo en grano cuando se fertilizo exclusivamente con 50 por ciento de fósforo.

Se concluye que la inoculación *P. putida* + *Glomus* aumenta el contenido de fósforo en vástago y grano en el trigo con 50 por ciento y sin N pero cuando se incrementa la dosis de fertilización fosforada, disminuye el contenido de fósforo. Y el trigo tuvo mejor respuesta en el peso seco y contenido de fósforo total de vástago cuando se inoculo con *P. putida* + *Glomus* (G) pero mejor rendimiento y contenido de fósforo total de grano con la combinación *P. putida* + *Glomus* (N).

LITERATURA CITADA

- Abbott, L.K., A.D. Robson y I.R. Hall. 1983. Introduction of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi into agricultural soils. *Austr. Jour. Agric. Res.* 34:741-749.
- Alexander, M. 1980. *Introducción a la Microbiología del suelo*. 2ª. edición. Edit. John Wiley and sons New York. pág. 245-249.
- Amijee F., P.B. Tinker y D.P. Stribley. 1989. The development of Endomycorrhizal Systems VII. A Detailed Study of the Effects of Soil Phosphorus on Colonization. *New Phytol.* 111:435-446.
- Baca, B.E., Soto, L.U., Xochihua, Y.G. y Cuervo, A.G. 1994. Characterization of Two Aromatic Amino Acid Aminotransferases and Production of Indolacetic in *Azospirillum* strains. *Soil Biol. Biochem.* 26(1):57-63. Great Britain.
- Balderas, G.M. 1990. Fertilizante enraizador y dos mejoradores de suelo sobre el crecimiento de frijol (*Phaseolus vulgaris L.*) en un suelo calcáreo. Tesis Maestría. U.A.A.A.N. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Bashan Y., M.E. Puente, N. Rodríguez, M. G. Toledo, G. Holguin, R. Ferrera-Cerrato y S. Pedrín. 1995. Survival of *Azospirillum brasilense* in the Bulk Soil and Rhizosphere of 23 Soil Types. *App. Environ Microbiol.* v 61 (5) p. 1938-1945. USA.
- Berthelin, J., C. Leyval y I. Weissenhorn. 1994. Agricultural and Health Impact of Soil Rhizosphere Weathering. ISSS. SMCS. Memorias del 15º. Congreso Mundial de la Ciencia del Suelo. (3ª): 572-585. México.
- Bonfante-Fasolo P. y S. Perotto. 1994. *Plants and Endomycorrhizal Fungi: The Cellular and Molecular Signals in Plant-Microbe Communications* P. 521. Boca Raton, London.
- Braunberger, P.G., M.H. Miller y R.L. Peterson. 1991. Effect of Phosphorus Nutrition on Morphological Characteristics of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Colonization of Maize. *New Phytol.* 119:107-113.
- Buckman, H.O. y C.N. Brady. 1996. *Naturaleza y Propiedades de los Suelos*. 1ª. ed. Montaner y Simon, S.A. Editorial UTEHA. Barcelona.

- Buwalda J.G., G.J. Ross, D.P. Stribley y P.B. Tinker. 1982. The Development of Endomycorrhizal Root Systems: 4. The Mathematical Analysis of Effects of Phosphorus on the Spread of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Infection in Root Systems. *New Phytol.* 92:391-399.
- Cepeda, D. J. M. 1983. Química de Suelos. U.A.A.N. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Charles, M.M. 1976. Efecto de los fertilizantes en dos variedades de trigo, en la región central de Coahuila. Tesis profesional UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México.
- Collao, V. 1972. A phosphore dissolving and nitrogen fixing microorganism and its possible influence on soil fertility. *Agrochimia.* 16:345-350.
- Cooper R. 1959. Bacterial Fertilizers in the Soviet Unión. *Soil and Fert.* 22:327-33.
- Doorembos J. y A.H. Kassam. 1979. Efectos del agua sobre el rendimiento de los cultivos. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Roma Italia. pág. 173-174.
- Ferrera-Cerrato, R. 1983. La micorriza vesículo-arbuscular en los diferentes agroecosistemas. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- Francis R. y D.J. Read. 1984. Direct Transfer of Carbon Between Plants Connected by Vesicular-Arbuscular Micorrizal Mycelium. *Nature.* 307:53-56.
- Frank A.B. 1885. Ueber die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Baume durch unterirdische Pilze (On the root-symbiosis-depending nutrition through hypogeous fungi of certain trees). *Ver. Deut. Bot. Gesell.* 3:128-145 (Traducido por J.M. Trappe, *Proc. 6 th N. Amer. Conf. Myc.*: 18-25).
- Frazier, W. C. 1962. Microbiología de los Alimentos. Acribia, España.
- Freitas de, J.L.M. y J.J. Germida, 1992. Growth Promotion of Winter Wheat by *Fluorescent Pseudomonas* under Field Conditions. *Soil Biol. Biochem.* 24(11):1137-1146. Great Britain.
- Garcia, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koopen. Adaptado a las condiciones climáticas de la Republica Mexicana. Instituto de Geografía – UNAM. México, pág. 264.
- Garbaye J. 1994. Helper bacteria. A New Dimension to the Mycorrhizal Symbiosis. *New Phytol.* 128:197-210.

- Gil, M. 1995. Elementos de fisiología vegetal. Edit. Mundi-Prensa. pág. 252-256. España.
- González, L.C. 1977. Introducción a la Fitopatología. Ed. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. San José, Costa Rica (IICA).
- Graham, J.H., R.T. Leonard y J.A. Menge. 1981. Membrane-mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Plant Physiology* 68:548-552.
- Guerrero, G.A. 1981. Cultivos herbáceos extensivos. Edit. Mundi-Prensa. 2ª. ed. pág. 17-22, 41-54. España.
- Guzman-Plazola, R.A., R. Ferrera-Cerrato y J.D. Etchevers. 1988. *Leucaena leucocephala*, a plant of high mycorrhizal dependence in acid soils. *Leucaena Research Reports* 9:69-73.
- Hagedorn, C., W.D. Gould y T.R. Bardinelli. 1989. Rhizobacteria of Cotton and their Repression of Seedling Disease Pathogens. *Appl Environ Microbiol. American Society for Microbiology.* 55(11):2793-2797.USA.
- Hayman D.S. 1983. The Physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal Symbiosis. *Can. J. Bot.* 61:944-963.
- Holguin, G., Y. Bashan y R. Ferrera-Cerrato. 1996. Interacciones entre plantas y microorganismos beneficios: procedimientos para el aislamiento y caracterización de hongos micorrízicos y rizobacterias promotoras de crecimiento en plantas. *Rev. Terra* Vol. 14. Num. 2 pág. 211-227.
- Janos D.P. 1983. Tropical Mycorrhizas, Nutrient Cycles and Plant Growth. In: *Tropical Rain Forest: Ecology and Management.* Sutton, S. L., T. C. Whitmore, and A. C. Chadwick (Eds). Blackwell Sci. Oxford. U. K. pág. 327-345.
- Kieft, T.L. 1991. Soil Microbiology in Reclamation of Arid and Semiarid Lands and Deserts. En: Skujins, J. *Soil Resource and Reclamation.* Marced Dekker, Inc. USA.
- Kloepper, J. W., R. Lifshitz y R. M. Zablotowicz. 1989. Free-living Bacterial Inocula for Enhancing Crop Productivity. *Trends Biotech.* 7:39-44.
- Koide, R.T. y M. Li. 1990. On Host Regulation of the Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *New Phytol.* 114:59-74.
- Lu, S. y M.H. Miller. 1989. The role of V-A mycorrhizae in the absorption of P and Zn by maize in field and growth chamber experiments. *Can J. Soil Sci.* 69:97-109.

Lynch, J.M. y J.M. Whipps. 1990. Substrate Flow in the Rhizosphere. *Plant Soil*. 129: 1-10. The Netherlands.

Marschner H. Y B. Dell. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal Symbiosis. *Plant and Soil*. 159:89-102.

Meyer, J.R. y R.G. Linderman. 1986. Response of Subterranean Clover to Dual Inoculation With Vesicular-Arbuscular Fungi and a Plant Growth-Promoting Bacterium, *Pseudomonas putida*. *Soil Biol. and Biochem.* 18:185-190.

Morton, J.B. y G.L. Benny, 1990. Revised Classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new order, Glomales, two new suborder, Glominae and Gigasporine and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae with emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37:471-491.

Mosse B. 1963. Vesicular-arbuscular Mycorrhiza: an Extreme form of Fungal Adaptations. En "Symbiotic Associations". P.S. Nutman and B. Mosse (Eds). pág. 146-170. Cambridge University Press, Cambridge.

Mosse B. 1981. Vesicular-arbuscular Mycorrhiza Research for Tropical Agriculture and Human Resources. University of Hawaii, pág. 5-82.

Nehl, D.B., S.J. Allen y J.F. Brown. 1997. Deleterious Rhizosphere Bacteria: An Integrating Perspective. *Appl Soil Ecology*. 5(1):1-20. The Netherlands.

Okon Y. 1985. *Azospirillum* as potential inoculant for agriculture. *Trends in Biotechnology* 3: 223-228.

Pancholli, D.K. y N.R. Bishnoy. 1980. Effect of different fertilization (N), rates on triticale in comparison to wheat and rye. *Agronomy. A.S.A.*, No. 140.

Pasashnikova, L.V. 1990. Effect of phosphorus fertilizers on the yield and grain quality in wheat. *Wheat Soil Science*; No. 3: 29-33.

Paul, E.A. y F.E. Clark. 1989. *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press Inc. USA.

Perry D.A., R. Molina y M.P. Amaranthus. 1988. Mycorrhizae, Micorrhizosphere and Re-forestation: Current Knowledge and Research Needs. En: *The Importance of Mycorrhiza For Roots* Can. J. For. Res. Mukerji K.G, R. Jagpal, M. Bali and R. Rekha (Eds).

Peyronel B., B. Fassi, A. Fontana y J.M. Trappe. 1996. Terminology of mycorrhizae. *Mycologia*. 61:410-411.

- Phillips, J.M. y Hayman, D.S. 1970. "Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection", *Trans. Br. Mycol. Soc.*, vol. 55, págs. 158-161.
- Poi, S.C., Kabi, T. y Kabi, M.C. 1988. Response of mustard *Brassica niger* to inoculation with *Azobacter chroocum* mutant Str¹⁶ at different regimes of nitrogenous fertilizer. *Environmental Ecology*. 6:653-655.
- Pratley, J.E. 1988. *Principles of field crop production*. Sydney University Press. National Library of Australia cataloguing in Publication data Australia.
- Piert, S.J. y Stankiewicz, M. 1990. Characteristics of Bacteria from 23 Rizoplanes of Selected Crops Cultivated in Different Soil Enviroments Using Hattoris Equation and by Presence of Different Physiological Groups. *Zeszyty Naukome Rolniczej we Wroclawiu. Poland*. 196 (53):63-74.
- Ratnayake, M., R.T. Leonard y J.A. Menge. 1978. Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. *New Phytologist* 81:543-552.
- Rhodes L.H. y J.W. Gerdemann. 1975. Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. *New Phytol.* 75:555-561.
- Ritz K. y E.I. Newman. 1984. Movement of ³²P between Intact Grassland Plants of the Same Age. *Oikos*. 43:138-142.
- Robles, S.R. 1990. *Producción de Granos y Forrajes*. 5ª. edición. Editorial Limusa S.A de C.V. México.
- Rodriguez, U.J. 1992. Importancia del trigo en la producción de alimentos en México. 1ª Conferencia Nal. sobre la producción de trigo en México. SARH-INIFAP-CIFAP-SON. Cd. Obregón, Son., Méx. Tomo 1:9-34.
- Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH). 1980. Descripción de las Variedades Desarrolladas por el CIANO. Publicación especial. Centro de Investigaciones Agrícolas del Noroeste. Sonora. pág.19. México.
- SAGAR, 1996. Informe Oficial. Mayo.
- Same, B.I., A.D. Robson y L.K. Abbott. 1983. Phosphorus, soluble carbohydrates and endomycorrhizal infection. *Soil Biology and Biochemistry* 15:593-597.
- Sieverding, E. 1989. La micorriza: un componente biotecnológico en la producción vegetal. Colombia: Ciencia y Tecnología. 7:9-11.

- Siqueira, J.O., D.H. Hubbell y R.R. Valle. 1984. Effects of phosphorus on formation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Pesq. Agropec. Bras.* 19:1465-1474.
- Siqueira J.O. 1988. *Biología do solo: Fundamentos e perspectivas*-MEC. Ministerio de educacao, ABEAS; Laurus:ESAL, FAEPE. Brasília. pág. 235.
- Smith S.E. 1982. Inflow of Phosphate into Mycorrhizal Plants of *Trifolium subterraneum* at Different Levels of Soil Phosphate. *New Phytol.* 90:293-303.
- Stainer, Y.R., M. Doudoroff y A.A. Edward. 1981. *Microbiología*. Aguilar España.
- Sylvia, D.M. y N.C. Scheck. 1983. Application of superphosphate to mycorrhizal plants stimulates sporulation of phosphorus-tolerant vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 95:655-661.
- Taiz L., y E. Zeiger. 1991. *Plant physiology*. Cummings Publishing Co. Inc. California. pág. 541.
- Terra Nova Enciclopedia Agropecuaria. 1995. *Producción Agrícola* tomo 1. Impreso por Panamericana S.A Santafé de Bogotá, Colombia.
- Tinker, P.B. 1984. The Role of Microorganisms in Mediating and Facilitating the Uptake of Plant Nutrients from Soil. *Plant Soil.* 76:77-91. The Netherlands.
- Tisdale, S.L. y Nelson, W. 1991. *Fertilidad de los Suelos y Fertilizantes*. Edit. Uthea-Limusa. pág. 139-145. México.
- Valdes, R.J.U. 1985. Estudio edafológico de la UAAAN en el área correspondiente a Buenavista, Saltillo, Coahuila. Tesis profesional, UAAAN. Depto. de suelos. Buenavista, Saltillo, Coahuila.
- Vrany J., V. Vancura y M. Stanek. 1981. Control of microorganisms in the rhizosphere of wheat by inoculation of seeds with *Pseudomonas putida* and soil application of urea. *Microbiol.* Vol. 26. Num. 1 pág. 45-51.
- Wood, T. 1985. Commercial pot culture inoculum productions: Quality control and other headaches. *Proceedings of the Sixth North American Conference on Mycorrhizae*. Bend, Oregon. E.U. pág. 84.

APÉNDICE

Cuadro 3A. Análisis de varianza de peso seco (t/ha) de vástago de trigo variedad Pavón F-76.

Diseño completamente al azar con cuatro repeticiones.

Fv	Gl	Sc	Cm	Fc	F α	
					0.05	0.01
Factor A	1	10.436707	10.436707	105.6600	4.024 - 7.15	**
Factor B	2	0.956116	0.478058	4.8398	3.174 - 5.04	*
Factor C	2	6.975037	3.487518	35.3072	3.174 - 5.04	**
A x B	2	0.354919	0.177460	1.7966	3.174 - 5.04	ns
A x C	2	8.297363	4.148682	42.0008	3.174 - 5.04	**
B x C	4	39.343018	9.835754	99.5760	2.554 - 3.70	**
A x B x C	4	3.551147	0.887787	8.9878	2.554 - 3.70	**
Error	54	5.333923	0.098776			
Total	71	75.248230				

** = altamente significativo.

* = significativo.

ns = no significativo.

C.V. = 9.63 %

Cuadro 4A. Análisis de varianza de fósforo total (%) de vástago de trigo variedad Pavón F-76.

Diseño completamente al azar con cuatro repeticiones.

Fv	Gl	Sc	Cm	Fc	F α	
					0.05	0.01
Factor A	1	0.000834	0.000834	1.9040	4.024 - 7.15	ns
Factor B	2	0.003023	0.001512	3.4515	3.174 - 5.04	*
Factor C	2	0.000445	0.000223	0.5082	3.174 - 5.04	ns
A x B	2	0.033145	0.016573	37.8396	3.174 - 5.04	**
A x C	2	0.004130	0.002065	4.7148	3.174 - 5.04	*
B x C	4	0.000850	0.000213	0.4855	2.554 - 3.70	ns
A x B x C	4	0.003261	0.000815	1.8615	2.554 - 3.70	ns
Error	54	0.023650	0.000438			
Total	71	0.069339				

ns = no significativo.

* = significativo.

** = altamente significativo.

C.V. = 24.04 %