

## Protocolo para Proyecto de Investigación 2014

### Titulo del proyecto

Microorganismos Promotores de Crecimiento Vegetal (PGPMs) nativos, como inoculantes para Sorgo forrajero (*Sorghum vulgare*) en La Comarca Lagunera

### Introducción

El sistema de producción agrícola, actualmente se encuentra inmerso en un ciclo vicioso interminable, que inicia con la pérdida de materia orgánica y microbiología del suelo, provocando que pierda su estructura, disminuya su porosidad con la consecuente reducción del intercambio de gases, retención de humedad y baja eficiencia de uso de nutrientes por la planta, que conlleva a un desbalance nutricional, todo esto debido al intenso laboreo de las tierras, al monocultivo monogenotípico, búsqueda de la cosecha per última con base en excesivas aplicaciones de fertilizantes químicos (Cortés *et al.*, 2009). Los fertilizantes químicos son una fuente de contaminación del suelo y aguas subterráneas si no se utilizan de forma balanceada; es por ello que desde hace algunas décadas se trabaja buscando alternativas ecológicas de fertilización en las plantas, con el objetivo de preservar el ambiente (Noda, 2009). Desde la década de los 70's, el estudio de microorganismos promotores del crecimiento vegetal se investiga con gran impulso en países europeos, asiáticos y latinoamericanos, incluido México (Hernández *et al.*, 2012), destacándose aquellos microorganismos capaces de llevar a cabo la fijación biológica de nitrógeno. Existen investigaciones cuyo objetivo es esclarecer los factores que permiten una mejor interacción entre diferentes especies de plantas y microorganismos (Torriente, 2010; Veresoglou y Menexes, 2010). El uso de microorganismos promotores de crecimiento en la agricultura se denomina biofertilización. Es considerada una biotecnología que contribuye al desarrollo sostenible ya que favorece el desarrollo de los cultivos agrícolas, beneficia al productor y se ha descrito como ambientalmente segura, económica y socialmente aceptable (Hernández *et al.*, 2012). La inoculación PGPMs, contribuye al desarrollo y producción de cultivos tales como arroz, trigo, maíz caña de azúcar, hortalizas y sorgo (Bécquer, 2008; 2012; Hassan *et al.*, 2012; Dávila *et al.*, 2009; Mujica y Fuentes, 2012; García de Salamone, 2012).

El sorgo forrajero es un cultivo de interés en La Comarca Lagunera, considerada la principal cuenca lechera del país (Ríos *et al.*, 2006), esto ha ocasionado el desplazamiento o cambio en el patrón de cultivos en la región por cultivos forrajeros, ocupando el primer lugar en producción nacional de sorgo forrajero en los años agrícolas 2008-2009 y 2009-2010, con producciones totales de 1,107,492 t. y 761,880 t., respectivamente (CONAGUA, 2010; 2011).

El objetivo de la presente investigación es la obtención, caracterización y uso de PGPM nativos, en el cultivo de sorgo forrajero.

### Objetivos

Aislar y caracterizar poblaciones PGPM de la rizósfera de plantas forrajeras y desérticas.

### Hipótesis

Se encontrarán cepas de PGPM eficientes para el cultivo sorgo forrajero en La Comarca Lagunera.

### Revisión de Literatura

#### **Microorganismos Promotores de Crecimiento Vegetal (PGPM).**

Gran diversidad de microorganismos presentes en el suelo, depende en gran medida de la composición y concentración de nutrientes exudados por las raíces de las plantas, factores que influyen en que la interacción microorganismo-cultivo sea positiva, negativa o neutral (Soroa *et al.*, 2009), y mediante diversos mecanismos pueden beneficiar al cultivo en aspectos como: incremento de germinación, colonización de raíces, estimulación de

crecimiento, control biológico, resistencia a patógenos, producción de fitohormonas y mejoramiento en asimilación de agua y nutrientes (Ogata *et al.*, 2008; Cano, 2011). Los estudios que describen interacciones microbianas cooperativas, han centrado su atención en bacterias y hongos, que de acuerdo a sus funciones se agrupan en: degradadores de residuos orgánicos, bacterias promotoras de crecimiento vegetal, y hongos y bacterias antagonistas de patógenos de raíces. Los microorganismos endofíticos colonizan internamente los tejidos radicales y desarrollan actividades dentro de la planta que promueven el crecimiento y protección vegetal (Pedraza *et al.*, 2010).

### **Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal**

Las bacterias asociadas a la rizósfera de las plantas tienen la capacidad de generar mecanismos que afectan positivamente su crecimiento y desarrollo; capacidad que no ha sido estudiada completamente y difiere de un microorganismo a otro (Sarabia *et al.*, 2010; Loredo *et al.*, 2004; García de Salamone *et al.*, 2010; Romero, 2012).

### **Mecanismos directos**

Los mecanismos directos relacionados con la producción de fitohormonas de tipo auxinas, y giberelinas o la regulación de la producción de hormonas por la planta. También puede afectar la disponibilidad de nutrientes como en el caso de fijación de nitrógeno y solubilización de fósforo (Camelo *et al.*, 2011).

Entre los grupos naturales importantes se encuentran las auxinas, que son compuestos fitoreguladores caracterizados por inducir la elongación de las células del tallo y reproducir el efecto fisiológico del ácido indol 3-acético (AIA); giberelinas que regulan diversos procesos en el crecimiento y desarrollo de las plantas como la germinación, alargamiento caulinar, floración y fructificación; las citocininas que regulan la división y diferenciación celular en tejidos no meristemáticos de plantas superiores. Estas fitohormonas se han asociado a un gran número de procesos fisiológicos entre los que se detallan el retardo de la senescencia, formación de órganos en gran variedad de cultivos de tejidos, desarrollo de la raíz, formación de pelos radicales, iniciación del tallo y expansión de las hojas; y etileno, hormona importante en el crecimiento y desarrollo de las plantas, debido a su condición gaseosa en condiciones fisiológicas (García de Salamone *et al.*, 2012), se ha considerado que las PGPB, generan una 1-aminociclopropano-1-carboxilato deaminasa (ACC), disminuyendo los niveles de etileno en la planta (Glick, 2014).

### **Mecanismos indirectos**

Son aquellos en donde la estimulación del crecimiento se lleva a cabo de manera indirecta, la bacteria libera sus metabolitos al medio edáfico efectuando otros factores rizosféricos, que se revierten en una mejora o estimulación del crecimiento de la planta como producción de sustancias capaces de movilizar nutrientes de tipo aminoácido, sideróforos y ácidos orgánicos que liberan fósforo, hierro y/o aluminio así como producción de fitoalexinas, compuestos utilizados para defensa de la planta, respuesta inducida por lipopolisacáridos producidos por bacterias en el rizoplasma (Celis & Gallardo, 2008). Se pueden generar seis pigmentos producidos por las especies tipo: cuatro fenazinas (piocina, piourubina, clororafina, oxifenazina), la proteína azul de *Pseudomonas* y pioverdina. Varios pigmentos fenazina se pueden producir por una sola cepa (Chamam *et al.*, 2013).

### ***Azospirillum brasilense***

*Azospirillum brasilense*, es una bacteria Gram negativa heterotrófica, efectúa varias etapas del ciclo del nitrógeno, fija nitrógeno bajo condiciones microaeróbicas y en ausencia de nitrógeno combinado; puede utilizar una amplia gama de azúcares, alcoholes y ácidos orgánicos como fuentes de carbono (Romero, 2012).

### ***Pseudomonas***

Bacilos rectos ligeramente curvados, pero no helicoidales, 0.5-1.0 x 1.5-5.0  $\mu\text{m}$ . La mayoría de las especies no acumulan gránulos de polihidroxibutirato, pero acumula polihidroxialcalonatos de monómeros de longitud alta de más de C4, puede ocurrir cuando crecen sobre alcanos o gluconato. Son Gram negativos, motiles con uno o más flagelos polares, raras las especies no móviles, aeróbicos, tienen un tipo de respiración estricta, de metabolismo con oxígeno como aceptor final de electrones (Chamam *et al.*, 2013).

### **Hongos micorrízicos.**

Micorrizas describe un fenómeno de ocurrencia generalizada, resultante de la unión orgánica entre raíces y el micelio de hongos del suelo. Órgano morfológicamente independiente con dependencia íntima y recíproca, seguido de crecimiento de ambas partes y con funciones fisiológicas muy estrechas (Mirabal y Ortega, 2008). Los hongos micorrízicos pueden ser de tipo ectomicorrizas que crecen en el exterior de las raíces formando una auténtica capa que envuelve a aquellas y conocido como "red de Hartig". Las ectomicorrizas son bastante específicas, que indica que

una especie de hongo solo puede vivir con una o pocas especies de plantas (Dávila *et al.*, 2009); Las micorrizas menos extendidas son las ectomicorrizas que presentan características comunes con los otros dos tipos, ya que pueden formar un manto más o menos desarrollado y existe una ligera penetración de las hifas en las células de la corteza en las que forman enrollamientos u ovidios. Este tipo de micorriza lo suelen formar especies de basidiomicetos y las endomicorrizas que viven en el interior de la raíz, en los espacios intercelulares y emiten hifas al interior de las células que se subdividen formando estructuras en árbol (arbusculo) dan origen al grupo de hongos micorrízicos más abundante que se conoce, entre los que se distinguen: Orquidoides, Ericoides y Arbusculares (González, 2005), poco específicos, menos sensibles a las agresiones externas que las ectomicorrizas, sus esporas germinan con facilidad alejadas de raíces vivas (Dávila *et al.*, 2009). Los HMA establecen una asociación mutualista con las raíces de las plantas formando las micorrizas arbusculares. En esta asociación el hongo ofrece un beneficio a su huésped a cambio de recibir otro, es decir, hay un beneficio mutuo producto de un intercambio bidireccional "hongo-planta": la planta le suministra fuentes de carbono procedentes de la fotosíntesis (proceso que el hongo no puede realizar) y le brinda protección; mientras que el hongo le facilita a la planta la absorción de agua y nutrientes como fósforo y nitrógeno, recursos del suelo que en condiciones extremas la planta difícilmente obtendría eficientemente sin su ayuda. Las MA bien podrían representar el segundo componente más grande en biomasa en muchos ecosistemas terrestres (Montaño *et al.*, 2007). La respuesta de una planta micorrizada con la misma especie de HMA varía según las condiciones ambientales. Por ello ha aumentado el interés en estudiar la asociación con HMA nativos (Harris *et al.*, 2011).

### Forrajes

La superficie cosechada en forrajes en México en el 2006 fue de aproximadamente 1.75 millones de hectáreas. De esa superficie el 44.53 % corresponde a avena forrajera, el 21.24 %, alfalfa y maíz con 20.03 %, el 13.23 % para sorgo y finalmente el 0.90 % al pasto Rye grass. Tomando como referencia la superficie establecida en el año de 1980 y comparándola con la de 2006, la superficie de cultivos forrajeros que más ha aumentado es la del sorgo con un 509 %, seguido del maíz con 239 %. En contraste, la de menor incremento ha sido la de alfalfa, con solamente el 54 % en el mismo período. La producción de forrajes forma parte de la cadena agroalimentaria de la producción bovina de leche. La alimentación, donde se incluyen los granos y forrajes, constituyen el principal componente del costo de la producción de cada litro de leche, es por eso que la producción eficiente de forrajes es fundamental (Espinoza *et al.*, 2007).

### Sorgo

El sorgo es uno de los principales granos en nuestro país. Casi la totalidad se usa para nutrir de materia prima a la industria generadora de alimentos balanceados para animales, con el 50% de la composición total, por lo que la producción pecuaria intensiva se encuentra altamente correlacionada con la producción de sorgo. Este representa el grano forrajero con mayor presencia en nuestro país, por encima de la utilización de la cebada, trigo y maíz. El 92% de la producción se destina al sector pecuario, el 7% son mermas y el 1% restante es utilizado como semilla para siembra

### Procedimiento Experimental

El área experimental se ubicará en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna. Torreón Coahuila México. (24° 22' de Latitud Norte y 102° 22' de Longitud oeste con elevación a 1120 msnm). El clima es semiárido, con una precipitación anual promedio de 224.6 mm y temperatura media anual de 21.11 °C. El suelo del área experimental con bajo contenido de materia orgánica, textura migajón arcillo limoso.

Los parámetros que se medirán en el suelo antes y después de la inoculación serán: pH, conductividad eléctrica que se determinarán en una solución acuosa (1:5, p/v), nitrógeno total (N), carbono total (C), C orgánico total, fósforo total (P) y potasio extraíble (K), serán determinados espectrofotométricamente. Los carbohidratos totales, solubles en agua se determinarán por el método de Brinck *et al.*, (1960). La respiración del suelo se determinará calculando la cantidad de CO<sub>2</sub> emitido durante un periodo de 24 h de incubación; se pesaran 10 g de suelo seco en un desecador, los contenidos de humedad se ajustarán a un 45% de la capacidad de retención de agua y un vial con 2 mL de KOH (0.1 g de KOH en 50 mL de agua destilada) se colocará en el desecador para retener el CO<sub>2</sub> liberado. El Contenido de biomasa microbiana del suelo se evaluará por el método de respiración inducido por el sustrato (RIS), seguido de la adición de glucosa al suelo. La transformación de la cantidad de CO<sub>2</sub> emitido por la biomasa de C microbiana realizará con la ecuación de Anderson y Dmshc (1978). La actividad deshidrogenasa se determinará de acuerdo con García *et*

*al.*; (2007). Para ello, 1 g de suelo al 60% de su capacidad de campo se expondrá a 0.2 mL de INT (cloruro de 2-p-iodofenil-3-p-nitrofenil-5-fenil tetrazodion) al 2 % en agua destilada por 20 h a 22 °C en la obscuridad. El INTF (el formazan iodionitrotetrazolium) que se forme se extraerá con 10 mL de metanol por agitación vigorosa por 1 min y filtrará con papel Whatman No. 5. El INTF se medirá espectrofotométricamente a una  $\lambda$  de 490 nm. La actividad deshidrogenasa se expresará como  $\mu\text{g g}^{-1}$  INTF (Schoebitz *et al.*, 2013).

La especie vegetal usada en el experimento será sorgo forrajero (*Sorghum vulgare*). Se seguirán las prácticas de manejo del cultivo de acuerdo con las especificaciones del INIFAP de Matamoros Coahuila, con la excepción de la fertilización química.

Para evaluar la respuesta a la inoculación con PGPMs, se medirán los siguientes parámetros:

i).- Pesos seco de follaje y raíz (70 °C por 48 h)

ii).-Diámetro basal del tallo y altura de planta.

iii).-Concentración foliar de C, N, P, y K.

iv).- Acumulación de prolina. La prolina se determinará después de la extracción con ácido sulfosalicílico y reacción con ninhidrina. Una curva estándar de L-prolina se utilizará para calibrar. La prolina se extraerá de 0.5 g de hojas frescas. La fase metanólica será empleada para la cuantificación de prolina. La prolina se estimará por análisis espectrofotométrico a  $\lambda$  555 nm de la reacción de ninhidrina (Bates *et al.*, 1973).

La recolección de muestras para el aislamiento de microorganismos, será dirigido y se llevará a cabo durante los meses de enero, febrero y marzo del año 2014. Se muestrearán las zonas radicales de sorgo y plantas desérticas en la comarca Lagunera, se depositarán en bolsas plásticas debidamente etiquetadas e inmediatamente se transportarán para el inicio de su tratamiento en el laboratorio de Agroecología, de la "Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro", Unidad Laguna.

Los microorganismos que se utilizarán en esta investigación se aislarán y determinarán<sup>1</sup> a partir de muestras rizosféricas de cultivos de plantas forrajeras y desérticas. El cultivo de *Azospirillum* será en medio Nfb cuya composición es de acuerdo al método de Subhashini (2012). Los cultivos de hongos micorrízicos se establecerán en cultivos trampa de frijol (González, 2005). En las cepas bacterianas preseleccionadas se evaluará la capacidad de fijación biológica de nitrógeno y posteriormente la producción de indoles totales en cultivo bacteriano; para evaluar la fijación biológica de nitrógeno las bacterias se incubarán en caldo NFB durante 16 h a 33 °C y un inóculo de 100  $\mu\text{L}$  conteniendo igual número de bacterias (este se ajustará por diluciones en solución fisiológica) se sembrará en medio NFB en frascos de penicilina de 10 ml herméticamente cerrados. Después de 24 h de crecimiento serán extraídos 0,5 ml de aire con una jeringa de 1 ml y se reemplazará por 0,5 ml de acetileno (10% del espacio atmosférico del frasco de penicilina). Después de esto será incubado a 33 °C durante 24 h. Transcurrido este tiempo, una muestra de 1 ml se inyectará en el cromatógrafo de gases. El procedimiento de medición corresponde a 1 mL de muestra del espacio gaseoso, que se inyectará en el cromatógrafo gaseoso adaptado con una FID y una columna de nitrógeno Porapak de acero inoxidable (3.2 mm x 2 m, 80/100 mesh). El inyector, el horno y el detector poseen temperaturas de 110 °C, 90 °C y 250 °C respectivamente. N<sub>2</sub> se usará como un gas transportador con una velocidad lineal de 4,5 cm/s.

Para evaluar la producción de indoles se detectará utilizando el reactivo de Salkowski bajo análisis colorimétrico. Cada cultivo bacteriano será ajustado a un mismo tamaño de inóculo (600 nm) en caldo tripticaseína de soya suplementado con triptófano (0.01 g/L). A distintos tiempos de incubación (16, 20, 24 y 48 h) se tomará un volumen de 1 mL de cada una de estas y se centrifugará (1000 rpm; durante 15 min), para recoger el líquido sobrenadante, para realizar la detección de indoles totales, según Torres *et al.* (2000). Esta alícuota será mezclada con el reactivo Salkowski (relación 2:1). Después de 30 min esta reacción desarrollará una coloración violácea que será medida en el espectrofotómetro UV-Visible a 530 nm. La concentración de indoles se calculará en una ocasión por una curva de calibración usando como patrón AIA.

Se establecerá un diseño experimental de bloques completos al azar con arreglo factorial, siendo el factor A, el tipo de PGPMs y el factor B, la concentración de PGPMs, se utilizarán cinco repeticiones.

Los valores serán transformados a logaritmos para compensar la heterogeneidad de varianza. Los efectos sobre la planta y suelo de la inoculación microbiana y su interacción se analizarán por una ANOVA de dos vías y una separación de medias por la prueba de rango múltiple de Duncan a  $P \leq 0.05$  mediante el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System).

#### Cronograma de actividades.

Actividad a realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Muestreo de plantas	X	X	X	X	X	X						
Análisis de suelo	X		X	X								
Aislamientos microbianos		X	X	X								
Caracterización de aislados		X	X	X								
Selección de cepas			X									
Ensayos preliminares			X	X	X	X						
Informe de resultados								X				
Publicación de resultados											X	X

#### 5.-Productos esperados

- 1 Cepario de PGMPs.
- 1 Tesis de maestría
- 2 Tesis de licenciatura
- 1 Artículo en Revista indexada
- 1 Congreso nacional

#### 6.-Literatura citada

Bécquer C. J., J. A. Nápoles, Fajardo, L. A. Palmero, U. Ávila, Orquidia Álvarez, Yamilka Ramos, Maribel Quintana, Yaldreisi Galdo, Susana Vega. 2012. Efecto de la inoculación con *Bradyrhizobium sp.* y de la fertilización nitrogenada en dos variedades de sorgo de grano (*Sorghum bicolor* L. Moench). Pastos y forrajes. 35, 67-78.

Bécquer C. J., Salas B., Avila U., Palmero L., Nápoles J. A. Ulloa Lisbet. 2008. Selección de cepas de rizobios aisladas de ecosistemas ganaderos de Cuba, inoculadas en trigo (*Triticum aestivum*). Pastos y Forrajes. 31, 63-72.

Camelo R. M., Vera M. S., Bonilla B. R. 2011. Mecanismos de Acción de las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal. Revista Corpoica-Ciencia y tecnología Agropecuaria. 12, 159-166.

Cano M.A. 2011. Interacción de Microorganismos Benéficos en Plantas: Micorrizas, *Trichoderma spp.* y *Pseudomonas spp.* Una Revisión. Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica. 14, 15-31.

Celis B. L. J., Gallardo I. R. 2008. Estandarización de Métodos de Detección para Promotores de Crecimiento Vegetal (Acido Indol Acético y Gliberinas) En Cultivos Microbianos. Pontificia Universidad Javeriana.

Comisión Nacional del Agua. 2010. Estadísticas Agrícolas de los Distritos de Riego Año Agrícola 2008-2009. México, D.F.

Comisión Nacional del Agua. 2011. Estadísticas Agrícolas de los Distritos de Riego Año Agrícola 2009-2010. México, D.F.

Cortés J. J., Fuentes D. G., Ortíz A. A., Ortíz E. J., Tamayo E. L., Padilla V. I., Ramírez A. J., 2009. Primer simposium Internacional de Agricultura Ecológica. Centro de Investigación Regional del Noroeste, Campo Experimental Valle del Yaqui.

Chamam, A., Sanguin, H., Bellvert, F., Meiffren, G., Comte, G., Wisniewski-Dye, F., Bertrand, C., Prigent-Combaret, C. 2013. Plant secondary metabolite profiling evidences strain-dependent effect in the *Azospirillum-Oryza sativa* association. Phytochemistry, 87, 65-77.

Davila L., Ramos C. J., Rosales C. 2009. Multiplicación de Hongos Micorrízicos Arbusculares MA Nativos de Cultivo de Cacao (*Theobroma cacao*) En Maíz (*Zea mays*) Bajo distintos Tratamientos Agronómicos. Universidad Popular del Cesar.

Espinoza Arellano J.J., Salinas González H., Palomo Rodríguez M., Núñez Hernández G., Figueroa Viramontes U., Cano Ríos P. Orona Castillo I. 2007. Situación y Tendencias del Mercado de Algunos Productos

- Agropecuarios y la investigación del INIFAP en La Comarca Lagunera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación; Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Norte Centro, Campo Experimental La Laguna.
- García de Salamone I., Vázquez S., Penna C. & Cassán F. 2010. Rizosfera, Biodiversidad y Agricultura Sustentable. Taller Internacional Sobre Rizosfera, Biodiversidad y Agricultura Sustentable. Asociación Argentina de Microbiología.
- García de Salamone I. 2012. Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal. Universidad de Buenos Aires.
- Glick, B.R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Res.* 169:30-39.
- González- Guerrero M. 2005. Estudio de los mecanismos implicados en la homeostasis de metales pesados en el hongo formador de micorrizas arbusculares *Glomus intraradices*. Universidad de Granada, consejo superior de investigación.
- Harris-Valle C., Esqueda M., Valenzuela-Soto E., Castellanos A. 2011. Tolerancia a Sequía y Salinidad en *cucurbita pepo* var. *pepo* Asociada con Hongos Micorrízicos Arbusculares del Desierto Sonorense. *Agrociencia.* 45, 959-970.
- Hassan E. A., Ibrahim M. M. and Khalifa Y. A. M. 2012. Efficiency of Biofertilization on Growth, Yield, Alkaloids Content and Chemical Constitutes of *Lupinus Termis*, L. Plants. *Australian Journal of Basic and Sciences.* 6,433-442.
- Hernández-Flores L., Munive- Hernández J. Antonio, Sandoval- Castro Engelberto, Martínez- Carrera Daniel y Villegas- Hernández Ma. Carmen. 2012. Poblaciones Bacterianas Nativas: Alternativa Sustentable para la Agricultura. *Terra Latinoamericana.* 30, 129-138.
- Loredo-Osti C., López-Reyes L. y Espinoza-Victoria D. 2004. Bacteria Promotoras del Crecimiento Vegetal Asociadas con Gramíneas: Una Revisión. *Terra Latinoamericana:* 225-239.
- Mirabal L. y Ortega E. 2008. Comunidad Microbiana Asociada a los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA). *Cultivos Tropicales.* 29,13-20.
- Montaño N., Camargo S., García R., Monroy A. 2007. Micorrizas Arbusculares en Ecosistemas Áridos y Semiáridos. Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, Mundi-Prensa SA de CV, UAM-Iztapalapa, FES Zaragoza, UNAM. Pp 460.
- Mujica Y. y Fuentes A. 2012. Efecto ala Biofertilización con Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) En el Cultivo de Tomate en Condiciones de Estrés Abiótico. *Cultivos Tropicales.* 33, 40-46.
- Noda Yolai. 2009. Las micorrizas: una alternativa de fertilización ecológica en los pastos. *Pastos y forrajes.* 32: 2.
- Ogata K., Arellano C., Zúñiga D. 2008. Efecto de Diferentes Bacterias Aisladas de Rizósfera de *Caesalpinia spinosa* en la Germinación de diferentes especies vegetales cultivadas. *Zonas Áridas.*12: 1.
- Pedraza R., Teixeira K., Fernández A., García I., Baca B., Azcón R., Baldani V., Bonilla R. 2010. Microorganismos que mejoran el Crecimiento de las Plantas y la Calidad de los Suelos. Revisión. *Revista Corpoica- Ciencia y Tecnología Agropecuaria.* 11: 55-164.
- Ríos Flores J.L., Ruiz torres J., Salcedo Portillo A.A. 2006. Análisis económico marginal del riego por bombeo respecto al riego por gravedad en cultivos oleaginosos e industriales en la comarca lagunera. *Revista Chapingo serie zonas áridas.* 5: 49-54.
- Romero-Orsorio A. 2012. Estudio de la Formación de la Biopelícula en *Azospirillum brasilense*. Benemérita Universidad de Puebla. México.
- Sarabia-Ochoa M., Madrigal- Pedraza R., Martínez-Trujillo M. y Carreón-Abud Y. 2010. Plantas, Hongos Micorrízicos y Bacterias: Su compleja Red de Interacciones. *Revista de la DES, Ciencias Biológico Agropecuarias, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.*12: 65-71.
- Schoebitz, M., Mengual, C., Roldan, A. 2013. Combined effects of clay immobilized *Azospirillum brasilense* and *Pantoea dispersa* and organic olive residue on plant performance and soil properties in the revegetation of a semiarid area. *The Science of the total environment* 466-467C, 67-73.
- Soroa- Bell M.R., Hernández-Fernández A., Soto Carreño F. y Terry-Alfonso E. 2009. Identificación de Algunas especies de microorganismos Benéficos en la Rizósfera de Gerbera y su Efecto en la productividad. *Revista Chapingo Serie Horticultura.* 15: no. Especial.
- Subhashini V. 2012. *Soil Microbiology –A Laboratory Manual.* LAP LAMBERT ACADEMIC PUBLISHING, PP, 80. U.S.A.
- Torriente D. 2010. Aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de la caña de azúcar. perspectiva de su uso en cuba. *Cultivos Tropicales.* 31: 19-26.
- Veresoglou S., Menexes G. 2010. Impact of Inoculation with *Azospirillum spp.* on Growth Properties and seed Yield of Wheat: a meta-analysis of studies in the ISI web of science from 1981 to 2008. *Plant Soil.* 337: 469-480.

Microorganismos promotores de crecimiento vegetal (PGPMs) nativos, como inoculantes para sorgo forrajero (*shorghum vulgare*) en La Comarca Lagunera

## OBSERVACIONES, COMENTARIOS Y SUGERENCIAS AL RESPONSABLE DEL PROYECTO

- 1).- No se establece una relación clara entre el título, objetivos e hipótesis.
- 2).- No se define el tipo de material genético vegetal híbrido o variedad a utilizar.
- 3).- No se hace mención de fechas de siembra y su relación con las fechas de recolección de muestras.
- 4).- La recolección de muestras no es muy clara al igual no se define en cuales especies de plantas desérticas se realizaran las colectas.
- 5).- No se establece la fecha de las inoculaciones.
- 6).- No se definen las concentraciones a utilizar.
- 7).- La descripción de trabajo a realizar en laboratorio es muy detallado y el de campo no.
- 8).- No queda clara la interpretación de la relación positiva o negativa entre ~~las inoculaciones y el sorgo forrajero, en función del cronograma.~~
- 9).- Las actividades descritas en el cronograma no concuerdan con las mencionadas en el apartado del procedimiento experimental.