# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

# **DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**



# APLICACIÓN DE ÁCIDOS HÚMICOS Y AZOSPIRILLUM SP. EN MEZQUITE (Prosopis glandulosa)

Por: JUAN CARLOS RAMOS REYES.

**TESIS** 

Presentada como Requisito para Obtener el Título de:

**INGENIERO FORESTAL** 

Saltillo, Coahuila, México

Junio de 2011

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO **DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**

# **DEPARTAMENTO FORESTAL**

APLICACIÓN DE ÁCIDOS HÚMICOS Y AZOSPIRILLUM SP. EN MEZQUITE (Prosopis glandulosa).

# Por: **JUAN CARLOS RAMOS REYES**

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO FORESTAL** 

**APROBADA** 

Dra. Rosalinda Mendøza

Asesor principal

Dr. Marjo Ernesto Vázquez Badillo Coordinador de la División Agronomía

División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México Junio de 2011

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

# **DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**

### **DEPARTAMENTO FORESTAL**

APLICACIÓN DE ÁCIDOS HÚMICOS Y AZOSPIRILLUM SP. EN MEZQUITE (Prosopis glandulosa)

Por:

**JUAN CARLOS RAMOS REYES** 

**TESIS PROFESIONAL** 

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO FORESTAL** 

**APROBADA** 

Dra. Resalinda Mendoza Villarreal

Asesor principal

apercio

Asesor

Dr. Rubén López Cervantes

Asesor

Saltillo, Coahuila, México Junio de 2011

**DEDICATORIA** 

A Dios: Por permitir la llegada a este mundo maravilloso, además de brindarnos

salud, bienestar físico y espiritual, logrando mis objetivos profesionales con mucha

bondad y amor.

A mis Padres: Sra. Hilda Reyes Morales

y

Sr. Carmelo Ramos Velázquez

Que son los seres más queridos que me apoyaron durante mi formación

profesional, a través de cariño y apoyo incondicional con sus sabios consejos y

por todas las cosas que me han enseñado y que me ha ayudado a salir adelante,

gracias.

A mis Abuelitos: Hermelindo Ramos Álvarez, Carmen Velázquez Ruiz (+) y

Salustria Morales Camacho, por ser parte de mí en cada momento de mi infancia

que viví siendo para ellos como otro hijo más, momentos inolvidables que jamás

olvidaré.

A mi Hermana: Malene Ramos Reyes, con mucho cariño por los momentos que

hemos compartidos y por los que un quedan en camino, permaneciendo unidos

por siempre.

A mi Primo Hermano: José Julián Ramos Velázquez, Por lo momentos de

infancia que pasamos juntos como hermanos.

A mis tíos y tías: Por toda su muestra de apoyo moral que me han brindado,

muchas gracias.

A mis amigos: Candy, Christian, Cesar, Freddy, Jairo, Marisol, Moy, Nasheli,

Osvaldo Toño y Vera, por todos los buenos momentos que pasamos, por su

valiosa amistad y por toda la felicidad que se genero con la convivencia durante mi

formación profesional y sobre todo que nunca los olvidare estarán siempre en mi

corazón.

#### **AGRADECIMIENTOS**

A mi *Alma Terra Mater* la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro porque a través de sus servicios generales y educativos pude concluir mis metas e inspiraciones como profesionista.

A todos los profesores del **Departamento Forestal** que me permitieron ser parte de la carrera INGENIERO FORESTAL, durante mi formación profesional.

A la Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal, por el apoyo y amistad incondicional y por su disposición de trasmitir sus conocimientos en la dirección a este trabajo.

Al Dr. *Alejandro Zarate Lupercio*, por su orientación inicial en el desarrollo de este trabajo, por su valiosa amistad y atenciones aportadas de conocimientos durante mi estancia en la Universidad.

Al Dr. *Rubén López Cervantes*, por su apoyo incondicional en este trabajo tan valioso para mí.

Al Ph. Dr. *Eladio H. Cornejo Oviedo* por generar ideas positivas en diferentes actitudes de trabajos, por su amistad y apoyo que recibí durante mi estancia en esta Universidad.

Al M.C *Salvador Valencia Manzo*, por ser un gran maestro que siempre se preocupó por nuestra generación en resolver problemas que se presentaron, también por su valiosa amistad y sabios consejos.

Al Ing. Sergio Braham Sabag, por su ayuda incondicional en consejos sobre este trabajo, además de ser uno de los mejores amigos que tuvimos en la generación.

A la Lic. *Minerva Zermeño Camarillo*, TLQ. *Patricia Herrera Gaytán y* TLQ. *Blanca Elena Rodríguez Pérez*, por asesorarme en los análisis del laboratorio, que fue muy importante para el desarrollo y culminación de este trabajo.

A todos mis **compañeros** de la **generación CXI,** por su gran amistad y apoyo durante mi estancia en la Universidad.

# ÍNDICE DE CONTENIDO

Páginas.

ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE FIGURAS	V
RESUMEN	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivo	3
1.2 Hipótesis	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Mezquite (Prosopis glandulosa)	4
2.2. Importancia económica y ecológica	5
2.3. Morfología y taxonomía	6
2.3.1. Clasificación taxonómica	7
2.4. Características generales del género Azospirillum	7
2.4.1. Antecedentes históricos	7
2.4.2 Clasificación taxonómica	8
2.4.3 Características de la bacteria	8
2.4.4 Distribución	9
2.5 Inoculación	10
2.5.1 Diferentes tipos de inoculación	11
2.6 Biofertilización con Azospirillum	12
2.7 Concentración de Azospirillum	13
2.7.1 Producción de hormonas de crecimiento	13

	2.8 Efecto de crecimiento en el sistema radicular y parte aérea	14
	2.8.1 Efecto de crecimiento en el tallo	15
	2.8.2 Efecto benéfico en el crecimiento	16
	2.9 Exudados radiculares	16
	2.10 Ácidos húmicos	17
	2.10.1 Características húmicas	17
	2.10.2 Efecto benéfico de los ácidos húmicos	18
	2.10.3 Dosis de ácidos húmicos	19
II	I. MATERIALES Y METODOS	20
	3.1 Descripción del área experimental	20
	3.2 Labores culturales	20
	3.2.1 Deshierbe	20
	3.2.2 Riego	20
	3.3 Selección de muestra	20
	3.4 Análisis preliminar de suelo	21
	3.5 Variables agronómicas	21
	3.5.1 Altura y diámetro	21
	3.5.2 Incrementos de altura y diámetro	22
	3.6 Preparación de biofertilizante	22
	3.6.1 Medio de propagación	22
	3.6.2 Concentración	22
	3.6.3 Preparación de ácidos húmicos	23
	3.7 Preparación de muestras para el análisis radicular	23
	3.8 Análisis estadístico	23
	3.8.1 Distribución de tratamientos	25

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
4.1 Análisis físico del suelo	26
4.1.2 Análisis de micro y macro elementos del suelo	26
4.2 Análisis del sistema radicular	27
4.3 Análisis estadístico	31
4.3.1 Análisis de Varianza y Prueba de Tukey en diámetro	31
4.3.2 Análisis de Varianza y Prueba de Tukey en altura	32
V. CONCLUSIONES	34
VI. RECOMENDACIONES	34
VII. LITERATURA CITADA	35
APÉNDICE	45

# ÍNDICE DE CUADROS

# Páginas.

Cuadro 1. Aplicación de tratamientos de inoculación y fertilización con
Azospirillum sp en Prosopis glandulosa, bajo el invernadero forestal de la UAAAN,
Enero, 201125
Cuadro 2. Análisis físico preliminar de suelo al inicio del experimento en
invernadero forestal de la UAAAN, Marzo, 201126
Cuadro 3. Análisis preliminar de micro y macro elementos del suelo, al inicio de
experimento en el invernadero forestal de la UAAAN, Marzo, 201126
Cuadro 4. Análisis de varianza para diámetro de Mezquite, aplicándole ácidos
húmicos e inoculación con <i>Azospirillum</i> sp. UAAAN, Mayo, 201131
Cuadro 5. Comparación de medias en diámetro de Mezquite, por el método
Tukey, con respecto a la aplicación de biofertilizante e inoculación con Azospirilum
sp. UAAAN, Mayo, 201132
Cuadro 6. Análisis de varianza para altura de Mezquite, aplicándole ácidos
húmicos e inoculación con <i>Azospirillum</i> sp. UAAAN, Mayo, 201133
Cuadro 7. Comparación de medias en diámetro de Mezquite, por el método de
Tukey, con respecto a la aplicación ácidos húmicos e inoculación con Azospirilum
sn HAAAN Mayo 2011

# **ÍNDICE FIGURAS**

# Páginas.

Figura 1. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en Prosopis glandulosa, para e
T1-R1
Figura 2. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en <i>Prosopis glandulosa</i> , para el
T2-R2
Figura 3. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en <i>Prosopis glandulosa</i> , para el
T3-R4
Figura 4. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en <i>Prosopis glandulosa</i> , para el
T4-R3
Figura 5. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en <i>Prosopis glandulosa</i> , para el
T5-R2
Figura 6. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en <i>Prosopis glandulosa</i> , para el
T6-R2
10-1\223
Figura 7. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en <i>Prosopis glandulosa</i> , para el
T7-R130
Figura 8. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en <i>Prosopis glandulosa</i> , para el
T8-R330
Figura 9. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en <i>Prosopis glandulosa</i> , para el
T9-R230
Figura 10. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en Prosopis glandulosa, para e
T10-R2. (Sin inoculación)31

#### RESUMEN

El mezquite( *Prosopis glandulosa*) es un arbusto que se caracteriza por tener un crecimiento rápido, resiste la sequia, tolera la salinidad de suelo y con una distribución marcada de poder formar bosques y debido a la importancia en la reforestación de especies vegetales, en el experimento se planteó como objetivo determinar la concentración de ácidos húmicos y *Azospirillum* sp que incremente la altura, diámetro de planta, así como la raíz en mezquite establecido en el invernadero de forestal en la UAAAN de enero a junio del 2011.

Se seleccionaron 500 plantas, con las características similares cuanto a su altura existente, libre de plagas y enfermedades; bajo un diseño completamente al azar con 10 tratamientos incluyendo el testigo sin ácidos húmicos ni biofertilizante, cada tratamiento con 10 plantas y 5 repeticiones. Se utilizaron tres dosis de ácidos húmicos al 1, 2 y 3 % y tres concentraciones de *Azospirillum* sp de 10<sup>8</sup> 10<sup>9</sup> y 10<sup>10</sup> ufc ml<sup>-1</sup>, tomando en cuenta los tratamientos T1, T2 y T3 pertenecieron a la primera dosis y concentración de la bacteria, T4, T5 y T6 a la segunda y la tercera fueron los tratamientos, T7, T8 y T9, todos estos comparado con el T10 (testigo). La aplicación de estos tratamientos se llevó a cabo de febrero a mayo del 2011; agregando 10 ml de ácidos húmicos y 10 ml de *Azospirillum* sp, en la base del tallo de la planta, previo humedecimiento.

Los resultados que se obtuvieron en este estudio en cuanto a las variables evaluadas, fue que el diámetro registró un incremento del 8 %, la altura fue de 17 %; mientras que en los resultados radiculares de longitud fue del 32 %, diámetro 51 % y el área radicular total mayor a (1 mm) fue del 57 %, por lo consiguiente el área radicular total menor a (1 mm) fue de 14 %.

Se concluye que el diámetro de mezquite se incrementó con el 1 % de ácidos húmicos y 10<sup>10</sup> ufc ml <sup>-1</sup> de *Azospirillum* sp en formulado líquido, no hubo influencia de la concentración de ácidos húmicos y de *Azospirillum sp* en altura de planta, quizá porque el suelo es rico en Materia orgánica, Nitrógeno y

Fósforo, los cuáles inhibieron la actividad de ácidos húmicos y bacteria, además, el mayor incremento en longitud, y diámetro radicular se produjo con el 1% de ácidos húmicos y 10<sup>8</sup> ufc ml <sup>-1</sup> de *Azospirillum* sp.

Palabras claves: Prosopis glandulosa, Azospirillum sp, ácidos húmicos, diámetro, altura, raíz.

# I. INTRODUCCIÓN

El mezquite (*Prosopis glandulosa*), crece en regiones de clima seco y se clasifica dentro del tipo de vegetación de "matorral mediano espinoso o bosque caducifolio espinoso", sus rodales frecuentemente son llamados "mezquitales" (Rzedowski, 1981, 2001). Es un arbusto o árbol espinoso de hasta 10 m de altura, proveniente del náhuatl micuitl; se caracteriza por tener un crecimiento rápido, resistencia a la seguia, tolerante a la salinidad de suelo y con una distribución marcada de poder formar bosques. Su abundancia es diversa en los ecosistemas áridos y semiáridos de México, por lo que estos ecosistemas cubren más del 50 % de la superficie y su vegetación es continuamente eliminada y fragmentada, (Toledo y Ordóñez, 1998). Su principal causa es el sobre-pastoreo, expansión agrícola, ganadería y la extracción de especies útiles. Su género se encuentra en una variedad de suelos y climas; encontrándose en nuestro país alrededor de 10 especies, (Hasting et al., 1972; Fagg y Stewart, 1994; Harsh y Tewari, 1998; Cavazos, 1999; CONAZA e INE, 1994). Es una especie de importancia económica ya que su madera es usada como combustible, para construcción de cercas, sus vainas como forrajes y como alimento para el hombre; produce resina que tiene uso en la fabricación de pegamentos, barnices, mientras sus flores son importantes en la producción de miel, (Buckart, 1976; Hernández, 1992).

Desde el punto de vista ecológico, los mezquitales son plantas fijadoras de nitrógeno, enriquecen al suelo, promueven el crecimiento de matorrales asociados a ella y previenen erosión del suelo; así mismo actúa como refugio de numerosas aves y roedores, (Bravo-Hollis, 1978; Hubbell, 1979; Belsky *et al.*, 1989; Garner y Steinberger, 1989; Joffre y Rambal, 1993; INE, 1994; Carrillo *et al.*, 1998; Golubov *et al.*, 2001).

Para lograr un mejor desarrollo de plantas de mezquite se tienen alternativas con el uso de microorganismos como biofertilizantes por ejemplo bacterias del género *Azospirillum* de vida libre, aunque se asociacian con el sistema radicular de las plantas; Su inoculación, es una práctica en la biotecnología del suelo debido a la capacidad que tiene esta bacteria de fijar nitrógeno, producir sideróforos y

fitohormonas reguladoras como: auxinas, citocininas y giberelinas, (Mascarúa-Esparza et al., 1988; Okon et al., 1988). Estas bacterias incrementan el desarrollo vegetal y promueven el rendimiento de cultivos en diferentes tipos de suelos y regiones edafoclimáticas, asociándose con la rizósfera, caulósfera y filósfera, (Haahtela et al., 1990; Okon y Labandera-González, 1994). A pesar de que se conoce que *Azospirillum* y otras bacterias, son microorganismos fijadores de nitrógeno, todavía no existe evidencia de que esta característica sea la única que determina el mejor crecimiento y desarrollo de las plantas. Debido a que no se han reportado estudios en esta especie asociada a *Azospirillum* en el campo forestal; se pretende contribuir en las investigaciones científicas en el campo Mexicano, aportando alternativas de solución en la conservación de los suelos y rehabilitación ecológica, en cuanto al acelerado crecimiento de *Prosopis glandulosa*, (Mezquite).

Por otro lado existen mejoradores de suelos que contribuyen a incrementar la absorción de nutrientes, como los ácidos húmicos que son moléculas complejas orgánicas formadas por la descomposición de materia orgánica, así como de la actividad de síntesis de microorganismos (Schnitzer, 1978 y Steveson, 1982). Al mismo tiempo incrementan el rendimiento de la cosecha, por otro lado, la permeabilidad de las membranas, influye en la fertilidad y estabilidad del suelo. estimulando los procesos bioquímicos en las plantas para establecer un buen desarrollo en el sistema radicular, y acumulación de materia orgánica aportada por la infiltración de agua, particularmente en los suelos arenosos. De este modo las necesidades de agua se pueden reducir hasta un 50% y así se puede ahorrar mucha aqua en las zonas áridas. Su función es fijar y retener nitrato en la zona radicular de las plantas, impidiendo la lixiviación hacia las aguas subterráneas, optimizando el suelo, para el desarrollo de las raíces como por ejemplo; la absorción de elementos nutritivos, la aireación de los suelos, la capacidad de retener el aqua, la capacidad del intercambio catiónico (CIC) y la formación de complejos de arcillas-humus.

# 1.1 Objetivo

 Determinar la concentración de ácidos húmicos y Azospirillum sp que incrementa el crecimiento radicular, diámetro y altura en Prosopis glandulosa, bajo condiciones de invernadero ubicado en la UAAAN.

# 1.2 Hipótesis

- HO: La aplicación de ácidos húmicos e inoculación con Azospirillum sp.
   Producirá diferencias en el crecimiento radicular, tallo y altura por la fijación de nitrógeno-nitrato y la inducción en la síntesis de hormonas del crecimiento, con mayor fertilidad y mejor condición en las raíces de Prosopis glandulosa (Mezquite).
- HA: La estimación en crecimiento radicular, diámetro y altura de *Prosopis* glandulosa, no muestra diferencia con la aplicación de *Azospirillum* y
   ácidos húmicos.

# II. REVISIÓN DE LITERATURA

# 2.1. Mezquite (Prosopis glandulosa)

El mezquite (*Prosopis glandulosa*), crece en regiones de clima seco y se clasifica dentro del tipo de vegetación de "matorral mediano espinoso o bosque caducifolio espinoso", sus rodales frecuentemente son llamados "mezquitales" (Rzedowski, 1981, 2001). El género de *Prosopis* en México se conoce con el nombre común de mezquite, que proviene del náhuatl micuitl, y que probablemente los aztecas le dieron a estas plantas (Granados, 1996). El bosque de *Prosopis* o mezquital, es una comunidad muy difundida en México y su distribución se encuentra hasta los 2,000 msnm, aunque este prefiere lugares moderadamente secos, prospera en climas que varía desde desérticos (BW) hasta cálidos-subhúmedos (AW) y templados subhúmedos (CW) de la clasificación de Kooepen, Rzedowski 1978; Comprende 44 especies ampliamente distribuidas en las regiones áridas y semiáridas de Asia, África y América; de las cuales, 40 son nativas de América. En nuestro país se encuentran alrededor de 10 especies (Hasting *et al.*, 1972; Fagg y Stewart, 1994; Harsh y Tewari, 1998; Cavazos, 1999; CONAZA e INE, 1994).

Por lo que hoy en día, la reproducción y reforestación son actividades que dependen de agua subterránea y de pozos. Desafortunadamente, la extracción de agua, supera al índice de mantos acuíferos, y el uso inadecuado de fertilizantes químicos han causado aumentos en la salinidad, que durante las dos décadas pasadas se convirtió en un problema grave en la reproducción de árboles tradicionales en estas regiones (SAGAR, 1981; Randall, 1985; Reig, 1994; Nobel, 1996; Carrillo *et al.*, 1999; Carrillo, 2002; Carrillo *et al.*, 2002).

En cambio, en las zonas semiáridas de México, el efecto de la vegetación sobre el suelo se ha abordado sólo a nivel de especies vegetales, como: en mezquites, *Prosopis glandulosa* (García-Espino *et al.*, 1989) y *P. laevigata* (Frías-Hernández *et al.*, 1999); en huizache, *Acacia tortuosa* (Luna-Suárez *et al.*, 2000); y en uña de gato, *Mimosa buincifera* (Reyes-Reyes *et al.*, 2002).

En México, los ecosistemas áridos y semiáridos cubren más de 50% de la superficie (Toledo y Ordóñez, 1998) y su vegetación es continuamente eliminada y fragmentada. En ellos, el sobre-pastoreo, la expansión de la frontera agrícola, la ganadería y la extracción de especies útiles son las causas principales de la perturbación de la cobertura vegetal (Cavazos, 1997). Ésta se define como la pérdida de su fertilidad, resultado de un deterioro de sus propiedades físicas, químicas y biológicas, producto de la desarticulación del binomio planta-suelo (Astier *et al.*, 2002). Como consecuencia, la degradación afecta el funcionamiento del ecosistema al alterar la circulación de nutrimentos, la productividad primaria y el flujo y retención de agua, entre otros (Maass, 1998).

# 2.2. Importancia económica y ecológica

Esta especie, es un recurso natural con importancia económica en las regiones áridas y semiáridas del mundo, ya que su madera es usada como combustible, para construcción de cercas, sus vainas como forraje y como alimento para el hombre; produce resina que tiene uso en la fabricación de pegamentos, barnices, mientras sus flores son importantes en la producción de miel (Buckart, 1976; Hernández, 1992). Su importancia ecológica radica en el medio ambiente como planta fijadora de nitrógeno, enriquecedor del suelo a su alrededor, promueve el crecimiento de matorrales asociados a ella y por tanto previene la erosión del suelo; así mismo actúa como planta nodriza de numerosas especies de aves y roedores (Bravo-Hollis, 1978; Hubbell, 1979; Belsky *et al.*, 1989; Garner y Steinberger, 1989; Joffre y Rambal, 1993; INE, 1994; Carrillo *et al.*, 1998; Golubov *et al.*, 2001).

Estos árboles son potencialmente importantes ya que se pueden incorporar dentro de viveros para reproducirlos, restaurar y estabilizar áreas afectadas por la salinidad y las zonas perturbadas (Carrillo *et al.*, 1999). Además se ha demostrado que el mezquite, es un estabilizador de las dunas del desierto, ya que posee un sistema radicular que ayuda a conservar la humedad en el suelo y subsuelo (Solís y Espericueta, 2005). Sin embargo, a pesar de su importancia ecológica y

económica, en la actualidad sus poblaciones han disminuido en los ecosistemas semiáridos (Galindo y García-Moya, 1986; Golubov et al., 2001).

# 2.3. Morfología y taxonomía

El mezquite es un arbusto o árbol espinoso de hasta 10 m de altura; su sistema radical puede alcanzar más de 50 m de profundidad y hasta 15 m en sus laterales; los tallos son de corteza oscura y ramas con abundantes espinas axilares o terminales. Las hojas son compuestas, bipinnadas con 12 a 15 pares de foliolos oblongos o lineares, de 5 a 10 mm de largo. Las flores son de color amarillo verdoso, agrupado en racimos, miden de 4 a 10 mm, son bisexuales, actinomorfas, con 5 sépalos y 10 estambres. El fruto es una vaina de color paja o rojizo violáceo; con forma de lomento drupáceo, alargado, recto o arqueado y espiralado en algunos casos, indehiscente, de 10 a 30 cm de longitud, puede ser plano o cilíndrico en la madurez y contiene de 12 a 20 semillas (CONAZA e INE, 1994).

La taxonomía del mezquite no está aun bien definida, sin embargo, la clasificación más aceptada para el territorio nacional es la de Correl y Johnston (1970) quien ha considerado cinco especies para México: *Prosopis articulata*, *P. julifora*, *P. laevigata*, *P. velutina* y *P. glandulosa* con dos variedades: *P. glandulosa* var. *glandulosa* y *P. glandulosa* var. *torreyana*. Por otra parte, la identificación de esta planta es difícil porque presenta un gran polimorfismo debido a las condiciones del medio ambiente y a los cruzamientos naturales entre poblaciones, los cuales son facilitados por su enorme plasticidad genética (Gómez *et al.*, 1970).

En la clasificación del mezquite, *Prosopis glandulosa*, según (Bukart, 1976).

### 2.3.1. Clasificación taxonómica

Reino: Vegetal

Phillum: Spermathophita

Subphilum: Angiosperma

Clase: Dicotiledónea

Subfamilia: Mimosoideae

Género: Prosopis

Especie: glandulosa

# 2.4. Características generales del género Azospirillum

#### 2.4.1. Antecedentes históricos

Spirillum lipoferum, ahora llamado Azospirillum, fue descrito por primera vez en 1925 por Martinus Willem Beijerinck, luego de lo cual la bacteria permaneció en el olvido por varias décadas, por dicho autor; posteriormente en 1973 (Peña-Cabriales y Döbereiner).

Una de las características fenotípicas más ampliamente usada como criterio para el reconocimiento tentativo del género *Azospirillum*, es el color rojo escarlata que toman las colonias al crecer en un medio adicionado del colorante rojo Congo (Rodríguez Cáceres, 1982). No obstante, en este medio pueden hallarse colonias mutantes de *Azospirillum* sp., de color blanco debido a la incapacidad de producir polisacáridos no identificados (Bastarrachea & Rivas, 1987).

7

#### 2.4.2 Clasificación taxonómica

Según el manual de Bergey (1984) el Azospirillum se clasifica en:

Reino: Procaryote

División: Gracilicute

Clase: Scotobacteria

Familia: No existe

Género: Azospirillum

Especie: sp

#### 2.4.3 Características de la bacteria

Este género de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal es el más estudiado en la actualidad debido a su capacidad de mejorar significativa mente el crecimiento y desarrollo, así como el rendimiento de numerosas especies vegetales de interés agrícola (Bashan *et al.*, 2004).

Inicialmente se creía que sólo se encontraron en el rizósfera, pero más tarde fueron aislados del suelo y también ciertas cepas endofíticas, que son capaces de colonizar el interior de la planta, el suministro del nitrógeno de forma más eficaz (Assmus, et al. 1995; Basán y Levanony, 1990; Döbereiner et al, 1995;. Fischer, et al, 2000; Hauwaerts, et al. 2002, Hecht-Buchholz, 1998; James, 2000; Kirchhof et al. 1997; Ramos, et al, 2002). Se ha demostrado que los cultivos puros de Azospirillum sp producen auxinas, citoquininas y sustancias similares a giberelinas, hormonas que participan en el desarrollo vegetal (kapulnik et al., 1985). Poseen un metabolismo carbonado y nitrogenado muy versátil, lo que le permite adaptarse y establecerse en el competitivo entorno rizosférico, son bacterias químio-organotróficas y pueden utilizar como fuente de carbono azúcares, alcoholes, sales de ácidos orgánicos y como fuente de nitrógeno pueden disponer de nitrato, sales de amonio y ciertos aminoácidos (Holt, 1984).

En las poblaciones microbianas del suelo existen grupos bacterianos de importancia agrícola, como el género *Azospirillum* que fija el nitrógeno atmosférico cuando la tensión parcial de oxígeno es baja, y produce sideróforos y sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal, como auxinas, giberelinas y citocininas (Mascarúa-Esparza *et al.*, 1988; Okon *et al.*, 1988).

#### 2.4.4 Distribución

Su distribución es ubicada en todo el mundo, conociéndose hasta el momento siete especies del género (Eckert *et al.*, 2001). Aún cuando su abundancia es mas en regiones tropicales, también se les encuentra en las regiones templadas, frías y desérticas (De Coninck et al., 1988; Döbereiner et al., 1976; Haahtela et al., 1981; Tyler et al., 1979). En las regiones templadas del sur de Brasil, los Estados Unidos y Kenia la presencia de *Azospirillum* es menor al 10% en las muestras analizadas (Döbereiner et al., 1976).

Es por lo tanto imprescindible identificar y cuantificar inequívocamente la cepa usada, cuando se efectúan ensayos tendientes a evaluar el efecto promotor en el campo, tiene un crecimiento óptimo en un rango de pH de 6,5 -7,0.; Si el microorganismo no cuenta con el pH correspondiente, esto provocaría la inhibición de su crecimiento y desarrollo (Sánchez, 1964). Para Azospirillum brasilense: pH 6,0-7,8; Azospirillum lipoferum: pH 5,7-6,8; Azospirillum amazonense: pH 5,7-6,5; Azospirillum halopraeferens: pH 6,0-8,0; Azospirillum doebereinerae: pH 6,0-7.0.

En el laboratorio, bajo condiciones experimentales axénicas, la cuantificación rutinaria de las bacterias presentes en las raíces de las plantas se efectúa mediante la evaluación del crecimiento en diluciones sucesivas en NFb semisólido, determinando así el número más probable (Creus, 1996). No obstante, este medio de cultivo es relativamente diferencial, permitiendo el crecimiento de microorganismos diazótrofos microaerofílicos, por lo cual es necesario confirmar el género, la especie y eventualmente la cepa, lo que generalmente se efectúa por métodos microbiológicos.

#### 2.5 Inoculación

Los efectos positivos de la inoculación bacteriana están principalmente asociados al mejoramiento del desarrollo de las raíces y consecuentemente incrementar la tasa de absorción de agua y minerales (Dalla *et al.*, 2004).

La promoción de crecimiento de las plantas inoculadas con *Azospirillum* se ha obtenido en condiciones de campo y los experimentos de efecto invernadero, lo que ha producido cambios significativos en las características las plantas. Esto puede causar aumento del peso seco y en la acumulación del total nitrógeno de la planta, en el rendimiento y el peso de los granos, la tasa de germinación de las semillas y en los cambios en la duración de las plantas etapas de crecimiento (Boddey y Döbereiner, 1988; Fages, 1994; Fallik y Okon, 1996; Nur et al,. 1980, Pandey et al 1998; Sumner, 1990).

Las bacterias son los principales habitantes de la rizósfera, rizoplano y histoplane desempeñando un papel vital en el crecimiento de las plantas pronunciada (Riggs et al., 2001). Estas pueden aumentar la disponibilidad de nutrientes para las plantas (Alami et al., 2000), colonizan la rizósfera (Lubeck et al., 2000) y regenerar la calidad del suelo (Alami et al., 2000). Por este motivo las rizobacterias han sido ampliamente difundidas como alternativa para reducir el uso de agroquímicos (fertilizante y biocidas) con la finalidad de disminuir costos y contaminación ambiental y preservar la salud humana (Dobbelaere et al.,2002; Roy et al.,2002; Kozdroj et al.,2004).

Las condiciones ambientales (suelo, clima, fertilización, etc.) y las características de los microorganismos nativos e introducidos son factores determinantes para la sobrevivencia y actividad en la rizosfera (Bacilio- Jiménez *et al.*, 2001; Chotte *et al.*, 2002; Kaushik *et al.*, 2002; Tsagou *et al.*, 2003; Kozdroj *et al.*, 2004).

#### 2.5.1 Diferentes tipos de inoculación

La inoculación de diversas plantas con *Azospirillum* ha mostrado que los principales sitios de colonización son las áreas de elongación celular y las bases de los pelos radicales (Levanony, *et al.*, 1991, Kapulnik *et al.*, 1985).

Díaz y Ortegón (2006), dice que debido a las condiciones limitadas de humedad de la región árida del norte de Tamaulipas, tanto la inoculación de la semilla con *A. brasilense* como la fertilización química (100N-60P-00K) no tuvieron impacto en el peso de biomasa aérea seca, peso de gramo por planta y rendimiento total en el hibrido de canaloa **H**yola 401.

Shishido *et al.* (1996), sugieren que la inoculación de PGPBs en semillas forestales puede ser una alternativa para aumentar la productividad de las plantaciones forestales. Por lo que *Azospirillum* sp., es un género con amplia distribución en diferentes suelos y especies vegetales, además ha sido reportada en especies forestales (Deaza y Mesa, 1996; Jiménez, 1996), en frutales (Okon y Itzigsohn, 1995) y gramíneas (Bashan y Holguín, 1997), lo que indica que no hay especificidad en la asociación y por consiguiente un aislamiento de PGPBs de una especie forestal puede ser inoculada en otra especie forestal (García *et al.*, 2003).

Su efecto de inoculación de *Azospirillum* sp, sobre el rendimiento total aumenta generalmente con el crecimiento de las plantas y está en un rango de 10 -30 % (Bashan y Vázquez. 2000). Este proceso es altamente benéfica en gramíneas como: maíz, caña de azúcar, pastos y sorgo, pues aporta de 30 a 50 % de los requerimientos de nitrógeno de dichos cultivos (Martínez-Morales *et al.*, 2003: Viviene *et al.*, 2004).

En cambio el género *Azospirillum brasilense* presenta una opción dentro de los inoculantes para especies forestales, aun cuando los estudios biológicos de interacción planta-microorganismo se sumen al enriquecimiento del conocimiento, la mayoría ha ignorado la participación de ampliar el conocimiento en plantas de reforestación como es el Mezquite, el cual en las áreas que presentan condiciones de aridez y salinidad, puede ser una alternativa de solución a la deforestación con

la asociación exitosa de las bacterias inoculadas a la planta (Hamdi, 1999; Neori y Zskova-KonZcalova, 2001).

Por otro lado, existen estudios sobre la germinación de *P. chilensis* es afectado negativamente por la salinidad. Sin embargo, la inoculación de las bacterias *Azospirillum halopraeferans* y *Bacillus amilolyquefasciens* mitigan ese efecto negativo, promoviendo la germinación de la semilla y subsecuente en etapa de plántula. Es posible la utilización de bacterias benéficas como *A. halopraeferens B. amilolyquefasciens* en plantas halotolerantes con potencial para ser utilizadas en reforestación en áreas deforestadas, (Villegas-Espinoza, 2010).

En este sentido Tien *et al.* (1979) mostraron que la inoculación con A. brasilense provocaba cambios significativos a nivel de la morfología de raíz a plántulas de pearl millet, observando incremento en el número de raíces laterales y en la densidad de los pelos radicales de cada raíz.

# 2.6 Biofertilización con Azospirillum

El nitrógeno es el elemento esencial de las proteínas, ácidos nucléicos y otros compuestos a base de nitrógeno, esenciales para el vital los procesos de todos los seres vivos. En sorgo, la biofertilización con *Azospirillum* sp no incrementó significativamente el crecimiento y rendimiento de grano, lo que se le atribuye a la diversidad de factores ambientales en la región de la evaluación (características físico-químicas del suelo, clima, genotipo y cepa) (Ramírez y Luna, 1995; Martínez-Medina, 2004; Pecina-Quintero *et al.*, 2005). Wiedenfeld y Braverman (1991) concluyeron que la fertilización nitrogenada no incrementó el rendimiento de chile marrón (*Capsicum annuum* L.) y cebolla (*Allium cepa* L.) en el sur de Texas y Díaz *et al.* (2004) informaron sobre la inconsistencia en el incremento de sorgo con la fertilización química en el norte de Tamaulipas.

### 2.7 Concentración de Azospirillum

En un estudio realizado en la región de Tamaulipas, Mendoza *et al.*, 2004 encontraron que la concentración de *Azospirillum* adheridos a la raíz fue de 5 x 10<sup>5</sup>, el cual demuestra la capacidad de estas bacterias para interactuar con los híbridos de maíz y sorgo de esta región. Mientras que el número de bacterias capaces de invadir el tejido interno fue analizado, se encontró que el máximo número de bacterias por gramo de tejido fue de 1 x 10<sup>3</sup>. Esta concentración fue decayendo mientras que las plantas llegaban a la madurez.

La aplicación de Azospirillum a diferentes tiempos no tienen una influencia significativa en el rendimiento aéreo y radicular del sorgo; sin embrago, a diferentes dosis (1 y 3 ml) y concentraciones (de 10<sup>4</sup> a 10<sup>8</sup> ufc ml<sup>-1</sup>) los resultados difieren (Hernández *et al.*, 1996).

En plantas de trigo la inoculación de *Azospirillum* induce cambios significativamente mayores que los causados por *Rhizobium leguminosarum* o *Azotobacter chrococcum*, los cuales son mínimos (Jain, *et al.*, 1984, Kapulnik, *et al.*, 1985). Además, fue observado que la inoculación con 10<sup>5</sup> a 10<sup>6</sup> células de *Azospirillum* causa tanta elongación como el aumento de la superficie total de la raíz, en tanto que la inoculación de 10<sup>8</sup> a 10<sup>9</sup> las células causan inhibición del desarrollo de ésta (Kapulnik, *et al.*, 1985).

#### 2.7.1 Producción de hormonas de crecimiento

La aplicación exógena de auxinas, citocininas y giberelinas produjo cambios en la morfología de la raíz comparables a los obtenidos con la inoculación. En otros ensayos, Cacciari *et al.* (1989) determinaron que el cultivo mixto de *A. brasilense y Arthrobacter giacomelloi* mostraba una gran producción de giberelinas y citocininas, comparado con sus respectivos monocultivos, lo cual tendría gran importancia fisiológica, debido a que la presencia de distintas especies microbianas en la rizósfera, induciría la producción de citocininas y otras fitohormonas en bacterias PGPR.

Recientemente, Krumpholz et al. (2006) evaluaron la respuesta de crecimiento de plántulas de tomate inoculadas con *Azospirillum brasilens*e FT326 (súper productora de IAA), correlacionando el aumento significativo en el número y longitud de raíces, con la producción vegetal de etileno de hasta 10 veces superiores a los controles.

Barbieri *et al.* (1988) probaron que la inoculación con una cepa nativa de *A. brasilense* (activa productora de AIA) causaba un aumento del número y longitud de raíces laterales en plantas de trigo y que la inoculación con una mutante nif(pobre productora de AIA) no conseguía modificar el desarrollo radical.

Kucey (1988) comprobó que la inoculación de trigo con *A. brasilense* simulaba el efecto del tratamiento exógeno con AIA y GA3 a nivel del patrón de crecimiento de tallo y raíz. Zimmer et al. (1988), también en plantas de trigo, probaron que la adición exógena de AIA (completamente) y NO<sub>2</sub> - (parcialmente) eran sustituidas por la inoculación con *A. brasilense*.

### 2.8 Efecto de crecimiento en el sistema radicular y parte aérea

En un estudio de evaluación de la asociación de bacterias fijadoras de nitrógeno en Colombia; Castilla (2005) realizó la evaluación entre líneas interespecíficas de arroz (*Oryza spp*), a la inoculación con bacterias fijadoras de nitrógeno *Azotobacter chroococcum y Azospirillum amazonense*, en un suelo con textura franco arenoso, en el cual concluye que la inoculación con *A. chroococum y A. amazonense* y 50 % de la fertilización nitrogenada produjeron plantas de arroz más vigorosas, con mayor biomasa aérea y radical; especialmente en líneas interespecíficas Cirad y Cirad CT13941, logró la mayor altura a los 60 días de siembra; sin embargo en la cosecha, este efecto no apareció.

Fulchieri et al. (1993) encontraron que plántulas de maíz (*Zea mays* L.) inoculadas con las 3 cepas de *Azospirillum lipoferum* mejoraron significativamente el crecimiento de la raíz y de la parte aérea.

Así mismo los efectos positivos de *A. brasilense* en diversos cultivos se han atribuido principalmente al mejoramiento en el desarrollo de la raíz y al incremento

subsecuente en la tasa de asimilación de agua y la utilización de minerales del suelo (Okon y Labandera-González, 1994; Fallik y Okon, 1996; Burdman *et al.*, 1997; Hamaoui *et al.*, 2001; Dobbelaere *et al.*, 2002).

#### 2.8.1 Efecto de crecimiento en el tallo

Los compuestos químicos fitoreguladores se caracterizan por su capacidad de inducir la elongación de las células del tallo en la región subapical y que logran reproducir el efecto fisiológico del ácido indol 3-acético (AIA). Estos compuestos han sido vinculados a procesos de orientación del crecimiento de tallos y raíces en respuesta a la luz y gravedad, diferenciación de tejidos vasculares, dominancia apical, iniciación de las raíces laterales y adventicias, estimulación de la división celular y elongación de tallos y raíces (Ross et al. 2000). Rennie et al. (1982) demostraron que la actividad fijadora de nitrógeno por bacterias asociadas al tallo y a la raíz de maíz es significativamente influenciada por el tipo de suelo, entre otros factores.

Ross and O´Neill (2001) sugieren que las auxinas podrían promover, al menos en parte, la elongación del tallo por incrementar los niveles de endógenos de giberelinas 3ß-hidroxiladas, lo cual podría tener relación directa con los resultados obtenidos por Fulchieri *et al.* (1993) ya que ni el contenido endógeno de IAA ni la expresión de los genes que codifican para 3ß-hidroxilasas fueron cuantificados en las fracciones correspondientes.

Gibson, et al (1986), establecieron algunos estudios de campo que se realizaron en Gunnedah y Cowra en Nueva Gales del Sur, durante 1979, mostraron que la incorporación del tallo del trigo en el suelo, lleva incrementos en la actividad de la nitrogenada del suelo, de acuerdo con lo que se midió con la reducción de acetileno.

#### 2.8.2 Efecto benéfico en el crecimiento

 Fijación de nitrógeno en la rizósfera, reducen el nitrato, solubilizan fosfatos, sintetizan antibióticos, sintetizan sustancias promotoras del crecimiento en las plantas como; fitohormonas y sideróforos.

#### 2.9 Exudados radiculares

Los exudados radiculares son una secreción en el sistema radicular de las plantas; por las células de las puntas en las raíces, denominada gel, mucílago, exudado o segregación radicular, etc.

Algunos de estos compuestos, ejercen un marcado efecto inhibitorio sobre la germinación y el crecimiento de otras especies; sus componentes principales son: aminoácidos, ácidos orgánicos y otros polisacáridos. Los aminoácidos presentes en los exudados radiculares son de carácter predominante ácido, de lo cual destacan las aminas derivadas de éstos (Asparagina y Glutamina).

Una concentración de 10<sup>7</sup> ufc ml -1 indica el grado positivo de quimiotaxis entre los exudados radicales y la bacteria. Al respecto, Velazco (2001) plantea que la presencia o no en la rizósfera de un cultivo conformando un ecosistema dado, está influida por diferentes factores abióticos como son el tipo de suelo, el grado de humedad, la fertilización aplicada y la temperatura. Ya que puede existir afinidad o no, y, dependiendo de los exudados radicales, existirá quimiotaxis positiva o negativa. La eficiencia de *Azospirillum brasilense* como una rizobacteria, estimula positivamente el crecimiento, desarrollo y rendimiento en el cultivo del tomate a partir de una alta colonización (Elein *et al.*, 2005). Las sustancias o exudados producidos por las raíces sirven como fuente energética y pueden llegar a inducir incluso cambios de pH, disponibilidad de sustratos, nutrientes y factores de crecimiento microbiano en la rizósfera moldeando de esta manera su dinámica poblacional (Reyes & Valery, 2007). Esto puede presentar diferencias fisiológicas

que se traducen en la composición bioquímica de los exudados radiculares (Silva et al., 2003).

#### 2.10 Ácidos húmicos

Los ácidos húmicos son moléculas complejas orgánicas formadas por la descomposición de materia orgánica, así como de la actividad de síntesis de microorganismos (Schnitzer, 1978 y Steveson, 1982). Al mismo tiempo incrementan el rendimiento de la cosecha, la permeabilidad de las membranas, influye en la fertilidad y estabilidad del suelo, estimulando los procesos bioquímicos en las plantas para establecer un buen desarrollo en el sistema radicular, y acumulación de materia orgánica aportada por la infiltración de agua, particularmente en los suelos arenosos.

Su función es fijar y retener nitrato en la zona radicular de las plantas, impidiendo la lixiviación hacia las aguas subterráneas, optimizando el suelo, para el desarrollo de las raíces como por ejemplo; la absorción de elementos nutritivos, la aireación de los suelos, la capacidad de retener el agua, la capacidad del intercambio catiónico (CIC) y la formación de complejos de arcillas-humus.

#### 2.10.1 Características húmicas

Los ácidos húmicos no son solubles en agua y precipitan en el medio ácido, pero solubles en álcalis, son de color oscuro, acidos predominante aromáticas, hidrófilas, químicamente complejas, polielectrolíticas, con un amplio rango de peso molecular; constituye del 70 al 80 % de la materia orgánica en la mayoría de los suelos (Schnitzer, 1978. 2000).

La investigación científica de los ácidos húmicos y de sus características tiene una larga tradición en Alemania que empezó con los trabajos del químico Franz Carl Achard (1753-1821). En el curso del siglo pasado el uso de ácidos húmicos se impuso en el sector agrícola, en la medicina y en el sector del medio ambiente.

En una investigación muy completa sobre la evolución de la materia orgánica, Loison y Noigret (1990), determinaron que su efecto se lleva en dos fases: una de desorganización de compuestos no húmicos, decir, la biodegradación y la otra, estabilización de la materia orgánica, con construcción de nuevas moléculas: la humificación.

Chen y Aviad (1985) encontraron que las sustancias húmicas en el crecimiento vegetal con una adecuada nutrición mineral muestran efectos positivos sobre la biomasa y el crecimiento de las raíces. Mientras que Kononova (1981), dice que determinadas fracciones de ácidos húmicos tienen una sorprendente capacidad de estimular los procesos fisiológicos y bioquímicos para la respiración y la síntesis de bioactivadores nucléicos en las plantas.

#### 2.10.2 Efecto benéfico de los ácidos húmicos

Dumbar y Wilson (1983); indican que el oxigeno de los ácidos húmicos originan en los vegetales principalmente celulosa y en otras plantas carbohidratos; lo cual representan las siguientes características:

- Mejora la estructura del suelo, incrementando la permeabilidad de suelos arcillosos o evitando la excesiva filtración en el caso de suelos are nosos.
- Aumenta la capacidad de retención de agua.
- Mejora la capacidad de intercambio de cationes, incrementando de esta manera la absorción de nutrientes.
- Provee carbono orgánico y minerales y estimula la actividad microbiana del suelo
- Reduce la posibilidad de cambios bruscos de pH en el suelo al aplicar fertilizantes u otros productos.
- Provee de fósforo activo, disponible para una fácil absorción por parte de la planta.

#### 2.10.3 Dosis de ácidos húmicos

Pérez 2010, en un estudio que realizo de efectividad de ácidos húmicos y *Azospirillum* en la distribución radicular de chile jalapeño, encontró que las mezclas de (AH2+AZ7) y (AH4+AZ9), aumentaron el peso fresco y el área radical; siendo la primer mezcla la que obtuvo el aumento en el ancho de la raíz; el diámetro de cuello de la raíz aumento al aplicar las dosis medias de ácido húmico mas la dosis baja de *Azospirillum* ( 4 ml.lt<sup>-1</sup> + 10<sup>7</sup> ufc ml<sup>-1</sup>), respectivamente mientras que la longitud de raíz aumento al aplicar dosis alta de *Azospirillum* (10<sup>9</sup> ufc ml<sup>-1</sup>).

# III. MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1 Descripción del área experimental

El área de estudio se localiza en invernadero del Departamento Forestal, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Buenavista Saltillo, Coahuila. México, durante el ciclo primavera – verano 2011. Sus coordenadas geográficas están ubicadas a 25° 21′ 11″ latitud **N** y 101° 01′ 38″ longitud **W.** A una altitud de 1778 msnm.

El invernadero se programó a una temperatura de 27º C durante el día y de 22º C por la noche en época de verano, con una humedad relativa de 65 a 70 %. El invernadero cuenta con controles de temperatura y humedad, control de sombra artificial, riegos y ventilación automática.

#### 3.2 Labores culturales

#### 3.2.1 Deshierbe

Se realizaron 4 deshierbes manuales, uno al inicio del experimento y los demás cada mes antes de aplicar los tratamientos en el experimento, con esto se mantuvieron a las plantas libre de malezas, que pudieran afectar su crecimiento y desarrollo.

## 3.2.2 Riego

Se aplicaron riegos constantemente 3 veces a la semana, siendo los días lunes, miércoles y viernes hasta culminar con el experimento durante 4 meses; para esto se empleo el sistema de riego manual, el cual consiste en regar con una manguera a presión de forma roseada o humedecida.

#### 3.3 Selección de muestra

El experimento inició con plantas de mezquite (*Prosopis glandulosa*), de seis meses, seleccionando 500 plantas homogéneas en altura. Se establecieron

parcelas experimentales de 10 plantas, obteniendo 50 unidades experimentales (UE). Se utilizaron 3 concentraciones de ácidos húmicos (1, 2, y 3 %) y 3 concentraciones (10 <sup>8</sup>, 10 <sup>9</sup>, 10 <sup>10</sup> ufc ml <sup>-1</sup>) de *Azospirillum* sp en formulado líquido, en 9 tratamientos y 5 repeticiones y 50 plantas como testigos.

# 3.4 Análisis preliminar de suelo

Para este análisis se seleccionaron tres plantas representativas, de las cuáles se separó el suelo identificándose como muestras 1, 2 y 3, las cuales fueron llevadas al laboratorio, ubicado en el Departamento de Ciencias del Suelo, dentro de UAAAN.

Las muestras fueron tamizadas por una maya No. 2 mm para determinar características físicas y químicas de suelo; La **materia orgánica** (M.O) se cuantificó con el método Walkley y Black; nitrógeno (**N**) total se analizó mediante el método de MicroKjeldahl; la **textura** (T) con el Hidrómetro de Boyoucaus, el **fósforo** (P) método de Olsen por colorimetría con la extracción de bicarbonato de sodio, la **conductividad eléctrica** (C.E.) método de saturación de suelo, el potencial hidrógeno (pH) y los **minerales** (Ca, Mg, K, Fe, Mn, Zn y Pb) analizaron por el método de digestión húmeda con equipo de absorción atómica.

#### 3.5 Variables agronómicas

#### 3.5.1 Altura y diámetro

Después de establecer los tratamientos se realizó la medición de altura de planta(Ht), al inicio del experimento utilizando cinta métrica, midiendo de la base del tallo hasta la rama más alta en centímetros, y el diámetro (D) con el vernier digital expresada en milímetros. Posteriormente, se realizaron tres evaluaciones mensuales (30, 60 y 90 días).

La primera evaluación de altura y diámetro se realizó el día 12 de febrero del 2011, y así sucesivamente, el día 12 de cada mes, hasta culminar el 12 de mayo del 2011; midiendo el total de las plantas experimentales.

3.5.2 Incrementos de altura y diámetro

Para el cálculo de incrementos en Altura y Diámetro se tomo la medición inicial

con la medición final, registrando una base de datos de cada variable por medias

de cada tratamiento y repetición; para esto se estimó el incremento total por cada

variable, mediante la siguiente fórmula:

IT= MF-MI.

MI= Medición inicial.

**MF**= Medición final.

IT= Incremento total.

Estos incrementos fueron sometidos a una base de Excel, para determinar el

análisis de varianza, con ayuda complementaria con el análisis de varianza de dos

factores con varios tratamientos por repeticiones.

3.6 Preparación de biofertilizante

3.6.1 Medio de propagación

La cepa de Azospirillum sp fue aislada de raíces de trigo en Buenavista, Coahuila

(2006), se reprodujo en medio NFb a 30 y caracterizada por pruebas bioquímicas

y NFb-rojo congo (Rodríguez y Cáceres, 1982). El formulado líquido se obtuvo al

desarrollar la cepa en medio l'iquido en la incubadora a 30 °C por 72 h con la

cuantificación por el método de dilución en placa hasta obtener una concentración

de 10 <sup>10</sup> ufc ml <sup>-1</sup>.

3.6.2 Concentración

Se cuantificó la concentración por medio del método de dilución en placa,

partiendo de una concentración de 10 10 UFC mL-1, a partir de la cual se realizaron

diluciones de109 y 108 UFC mL-1.

22

Se realizaron tres aplicaciones cada 30 días iniciando el 15 de febrero del 2011, hasta el 15 de abril del 2011.

# 3.6.3 Preparación de ácidos húmicos

Se prepararon tres diluciones de ácidos húmicos al 1, 2 y 3 %, ml<sup>-1</sup> a partir de 14.5 %, para ser aplicada en las plantas y un día después la bacteria en la base del tallo. Las concentraciones que se aplicaron fueron 1% (10<sup>8</sup>, 10<sup>9</sup>, 10<sup>10</sup>), 2% (10<sup>8</sup>, 10<sup>9</sup>, 10<sup>10</sup>), y 3% (10<sup>8</sup>, 10<sup>9</sup>, 10<sup>10</sup>), para cada uno de los tratamientos experimentales. La aplicación de este producto se realizo el día 14 de febrero del 2011, así mismo los días 14 de cada mes fue aplicado hasta culminar el 14 de abril del mismo año, utilizando 10 ml de cada concentración de ácidos húmicos y bacterias (*Azospirillum*)

# 3.7 Preparación de muestras para el análisis radicular

En base a los datos de diámetro y altura, se seleccionó una planta por cada tratamiento, siendo estas las más representativas de todas las repeticiones. Se sacaron las plantas de la bolsa de polietileno descubriendo totalmente las raíces, estas fueron lavadas y preparadas un día antes del análisis el cual se realizó el 28 de mayo del 2011, en el departamento de Ciencias del Suelo, dentro

Para esto se les tomaron dos fotografías representativas para cada tratamiento, en un cuarto oscuro, para que el flash de la cámara pudiera reflejar la imagen de la raíz, la cual fue analizada con el programa de Imag Proc.

#### 3.8 Análisis estadístico

de la UAAAN.

La captura datos se efectuó mediante una base numérica utilizando Microsoft Office Excel, registrando los incrementos en cada respectiva medición, para realizar un análisis de varianza con las medias de altura y diámetro, con la

finalidad de determinar si existe diferencia o diferencias significativas entre los tratamientos y repeticiones.

El análisis estadístico se realizó con el programa de Statical Analisys System (SAS) y utilizando el método de Tukey para la comparación de medias.

El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Yij = \mu + Ti + Eij$$

**i=**1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9,10 (tratamientos)

**j**=1, 2, 3, 4, 5 (repeticiones)

### En donde:

Yij = Valor observado en las diferentes variables

 $\mu$  = Efecto de la Media poblacional

Ti = Efecto verdadero del i-enesimo tratamiento

Eij = Error experimental en la e-nesima repetición

# 3.8.1 Distribución de tratamientos

En el Cuadro 1. Se muestra la distribución de tratamientos y repeticiones a diferentes contracciones de ácidos húmicos y *Azospirillum* en las unidades experimentales.

Cuadro 1. Aplicación de tratamientos de inoculación y fertilización con *Azospirillum* sp en *Prosopis glandulosa*, bajo el invernadero forestal de la UAAAN, Enero, 2011.

# PARCELAS CON REPETICIONES.

T	DC.	R1	R2	R3	R4	R5
T1	1% - 10 <sup>8</sup>	16	35	49	48	28
T2	1% - 10 <sup>9</sup>	41	19	33	32	27
T3	1% - 10 <sup>10</sup>	15	2	18	21	46
T4	2% - 10 <sup>8</sup>	42	29	3	44	50
T5	2% - 10 <sup>9</sup>	23	34	25	6	9
T6	2% - 10 <sup>10</sup>	36	12	39	22	4
T7	3% - 10 <sup>8</sup>	8	13	40	20	26
T8	3% - 10 <sup>9</sup>	45	5	7	31	47
T9	3% - 10 <sup>10</sup>	37	11	10	17	38
T10	TESTIGO	24	30	14	43	1

T=Tratamiento; DC= Dosis de concentración a diferentes dosis en el fertilizante y *Azospirillum* sp; R1, R2...R5=Repeticiones; las parcelas numeradas=Unidad experimental.

# IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 4.1 Análisis físico del suelo

El análisis preliminar de suelo de tres muestras (Cuadro 2) indicó que el N y P se clasifican como elementos ricos, el K se clasifica como pobre, mientras que la materia orgánica fue extremadamente rica, con un pH neutro para cada una de las muestras y una textura de migajón.

Cuadro 2. Análisis físico preliminar de suelo al inicio del experimento en invernadero forestal de la UAAAN. Marzo, 2011.

Muestra	N	Р	K	M.O	CE	рН	Textura	
	(%)	(ppm)		(%)	(µscm <sup>-</sup>			
M1	4.96	87.62	26	4.33	210	6.9	Migajón	
M2	4.55	98.22	27	4.97	194	7.0	Migajón	
M3	4.19	96.26	25	5.60	144	6.9	Migajón	

En el Cuadro 3, el Fe y Ca se clasifican como muy pobre, el Zn y Mn se consideran nivel medio, el Mg como moderadamente rico y el Pb como no toxico.

# 4.1.2 Análisis de micro y macro elementos del suelo

Cuadro 3. Análisis preliminar de micro y macro elementos del suelo, al inicio del experimento en el invernadero forestal de la UAAAN, Marzo, 2011.

Muestra	Zn	Pb	Ca	Mg	Mn	Fe
				ppm		
M1	0.6	1.0	1150	40	2.4	Trazas
M2	0.7	1.0	1050	40	2.9	Trazas
M3	0.5	1.0	600	25	2.6	Trazas

### 4.2 Análisis del sistema radicular

En el incremento radicular, se presentó que el tratamiento T1 (1% ácidos húmicos y10<sup>8</sup> ufcml<sup>-1</sup>) siendo el mejor en comparación con el testigo T10; el cual mostro un incremento radicular en las variables de longitud del 32 %, y diámetro 51 %. Mientras que en el área radicular total mayor a (1 mm) fue del 57 % y el área radicular total menor a (1 mm) fue de 14 %. Mendoza *et al.*, 2004 determinaron que la concentración adherida a la raíz fue de 5 x 10<sup>5</sup> lo cual demuestra la capacidad de estas bacterias para interactuar con híbridos de maíz y sorgo. Por otro lado, Okon y Labandera-Gonzalez (1994), mencionan que la inoculación con *Azospirillum* sp, estimula el crecimiento de raíces, aumentando su densidad y velocidad de crecimiento. Sin embargo Pérez 2010, en chile jalapeño encontró que al combinar ácidos húmicos al 0.3% y 10<sup>7</sup> ufc ml<sup>-1</sup> de *Azospirillum* que se beneficia área y ancho de raíz.

Kapulnik *et al.*,(1985) encontraron que el *Azospirillum* ha mostrado que los sitios principales de colonización son las áreas de elongación celular y las bases de sus pelos radicales; así mismo determinó que la concentración  $10^5$  y  $10^6$  presentan aumento de la superficie total de la raíz; mientras que la concentración  $10^8$  y  $10^9$  causan la inhibición del desarrollo de esta en cultivos agrícolas como se presento en el caso del arroz sin embargo, en el mezquite la concentración de bacterias es mayor quizá por las fertilidad del suelo utilizado en plantas de vivero.

Por lo que los resultados obtenidos en esta especie forestal como es *Prosopis glandulosa*, presento aumento en la concentración 10<sup>8</sup>, siendo las concentraciones 10<sup>9</sup> y 10<sup>10</sup>, las que presentaron menor fijación de la bacteria de acuerdo con sus parámetros en la rizósfera.

Como se pueden ver en las siguientes figuras del análisis radicular.

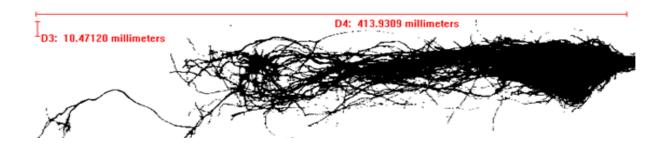


Figura 1. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en *Prosopis glandulosa*, para el T1-R1.



Figura 2. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en *Prosopis glandulosa*, para el T2-R2.



Figura 3. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en *Prosopis glandulosa*, para el T3-R4.

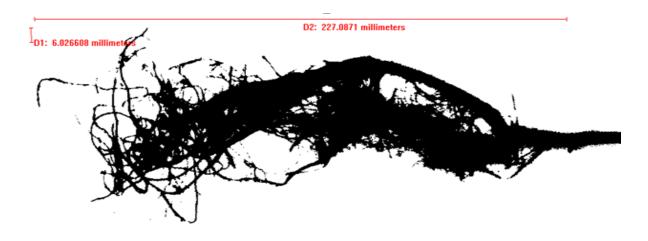


Figura 4. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en *Prosopis glandulosa*, para el T4-R3.



Figura 5. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en *Prosopis glandulosa*, para el T5-R2.



Figura 6. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en *Prosopis glandulosa*, para el T6-R2.



Figura 7. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en *Prosopis glandulosa*, para el T7-R1.

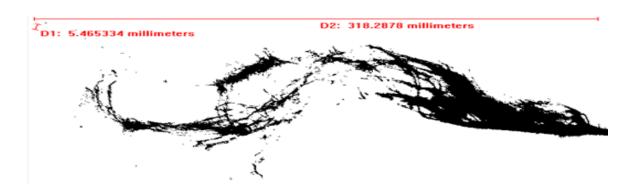


Figura 8. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en *Prosopis glandulosa*, para el T8-R3.



Figura 9. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en *Prosopis glandulosa*, para el T9-R2.



Figura 10. Imagen binaria de largo y cuello de raíz en *Prosopis glandulosa*, para el T10-R2. (Sin inoculación).

#### 4.3 Análisis estadístico

# 4.3.1 Análisis de Varianza y Prueba de Tukey en diámetro

La aplicación de ácidos húmicos e inoculación con *Azospirillum* sp, marco diferencia significativa en cuanto a la variable diámetro. Como se puede ver en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Análisis de varianza para diámetro de Mezquite, aplicándole ácidos húmicos e inoculación con *Azospirillum* sp. UAAAN, Mayo, 2011.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	12	0.01469411	0.00122451	2.22	0.0315
Error	37	0.02040101	0.00055138		
Total	49	0.03509512			
C V 0 46 %			* Cian	ificativa	

C.V= 9.46 % \*=Significativo.

El análisis de varianza (ANVA), indica que esta variable presentó diferencia significativa entre los tratamientos (P<0.03), la información es considerada confiable, dado que el coeficiente de variación, es de 9.46 % (Cuadro 4).Sin embargo, la prueba de comparación de medias por el método de Tukey, (Cuadro 5) no mostró diferencia estadística, aunque numérica sí, para el tratamiento T3 al 1 % de ácidos húmicos y una concentración de 10<sup>10</sup> de *Azospirillum* sp, comparado con el testigo tuvo un incremento del 8 %. Rennie *et al.* (1982)

demostraron que la actividad fijadora de nitrógeno por bacterias asociadas al tallo y a la raíz de maíz es significativamente influenciada por el tipo de suelo, entre otros factores.

Cuadro 5. Comparación de medias en diámetro de Mezquite, por el método Tukey, con respecto a la aplicación de biofertilizante e inoculación con *Azospirilum* sp. UAAAN, Mayo, 2011.

Tratamiento	Media
T3	0.273A
T6	0.264A
T4	0.256A
T2	0.256A
Т9	0.255A
Т7	0.245A
T1	0.242A
T5	0.237A
Т8	0.229A
T10	0.226A

Tukey = 0.0499

# 4.3.2 Análisis de Varianza y Prueba de Tukey en altura

Las aplicaciones de ácidos húmicos e inoculación con *Azospirillum* sp, no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos en base a la variable altura, en comparación al testigo, que no se le aplico ningún tipo de tratamiento como lo muestra el Cuadro 6. Debió a que el suelo donde se realizo el experimento inhibió la actividad del *Azospirillum* sobre todo de nitrógeno, a causa de la presencia abundante de Materia orgánica, Nitrógeno y Fosforo.

Cuadro 6. Análisis de varianza para altura de Mezquite, aplicándole ácidos húmicos e inoculación con *Azospirillum* sp. UAAAN, Mayo, 2011.

FV	GL	SC	СМ	F	P>F
Tratamientos	12	59.719397	4.976616	0.16	0.9993
Error	37	1176.942875	31.809267		
Total	49	1236.662272			

C.V= 25.63 %

No hubo diferencias significativas.

La prueba de comparación de medias por el método Tukey (Cuadro 7), no muestra diferencias significativas, Numéricamente el T3 al 1 % de ácidos húmicos y 10<sup>10</sup> ufc ml<sup>-1</sup> de *Azospirillum* sp, comparado con el testigo tuvo un incremento de 17 %, aunque Medina *et al.*, en (1997), al evaluar la respuesta del cultivo del tomate a la aplicación de biopreparados en concentración 10<sup>7</sup> para *A. brasilenses* y 10<sup>8</sup> *A. chroococcum*, reportaron diferencias significativas entre tratamientos para la altura de la planta y masa fresca al momento del trasplanté en comparación al testigo si inocular.

Cuadro 7. Comparación de medias en diámetro de Mezquite, por el método de Tukey, con respecto a la aplicación ácidos húmicos e inoculación con *Azospirilum* sp. UAAAN, Mayo, 2011.

Tratamiento	Media
T3	24.078A
Т9	23.024A
T6	22.824A
T5	22.248A
T10	22.148A
Т7	21.018A
T8	21.562A
T4	21.082A
T1	20.866A

Tukey=11.996

### **V. CONCLUSIONES**

El diámetro de plantas de mezquite se incrementó al aplicar 1 % de ácidos húmicos y 10<sup>10</sup> ufc ml<sup>-1</sup> de *Azospirillum* sp en formulado líquido.

No hubo influencia de la concentración de ácidos húmicos y de *Azospirillum sp* en altura de planta, quizá porque el suelo es rico en Materia orgánica, Nitrógeno y Fósforo, inhibieron la actividad de ácidos húmicos y bacteria.

El mayor incremento en longitud, y diámetro radicular se produjo con el 1% de ácidos húmicos y 10<sup>8</sup> ufc ml<sup>-1</sup> de *Azospirillum* sp.

### VI. RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos y en base a las conclusiones de este presente estudio; se recomienda aplicar las mismas concentraciones y dosis de biofertilizante y *Azospirillum* sp; pero en un estudio similar a las condiciones naturales donde se presenta *Prosopis glandulosa*, castigándolas con bajo contenido de Materia orgánica, Nitrógeno y Fósforo, para poder comprobar la actividad de ácidos húmicos y *Azospirillum*.

Para la producción de planta en vivero con mayor diámetro y longitud de raíces, a menor costo y en la reforestación de áreas pobres en nutrientes, son una alternativa los ácidos húmicos y el *Azospirillm*.

### VII. LITERATURA CITADA

- **Alami, Y., W. Achouak, C. Marol and T. Heurin,** 2000. Rhizosphere soil aggregation and plant growth promotion of sunflowers by an exopolysaccharide-producing *Rhizobium* sp., strain isolated from sunflower roots. Appl. Environ. Microbiol., **66**: 3393-3398.
- Assmus, B.; Hutzler, P.; Kirchhof, G.; Amann, R.; Lawrence, J. R. and Hartmann, A. 1995. In situ localization of *Azospirillum brasilense* in the rhizosphere of wheat with fluorescently labeled, rRNA-targeted oligonucleotide probes and scanning confocal laser microscopy. Appl. Environ Microb., **61**, 1013-1019.
- Astier-Calderón, M., M. Maass-Moreno y J. Etchevers-Barra. 2002. Derivación de indicadores de calidad de suelos en el contexto de la agricultura sustentable. Agrociencia 36: 605-620.
- Bacillio-Jiménez, M., Aguilar-Flores, S., del Valle, M. V., Pérez, A., Zepeda, A. and E. Zentero. 2001. Endophytic bacteria in rice sedes inhibit early colonization of roots by *Azospirillum brasilense*. Soil Biology and Biochemistry. **33**: 167-172.
- **Basahan, Y., and H. Levanony.** 1990. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirilum* as a challenge for agriculture. Can. J. Microbiol. **36:** 591-608.
- **Bashan, Y., G. Holguin. 1997.** *Azospirilum*-plant relationships: environmental and physiological advances. Can. J. Microbiol . **43:** 103-121.
- **Bashan, Y. & Vázquez, P.** 2000.Effect of calcium carbonate, sand and organic matter levels on mortality of five species of *Azospirillum* in natural and artificial bulk soils,. Biol Fertil soils **30:** p. 450-459. Disponible en: <a href="http://www.bashanfoundation.org/gmaweb/pdfs/ronaldpgpb8.pdf">http://www.bashanfoundation.org/gmaweb/pdfs/ronaldpgpb8.pdf</a>
- **Bashan, Y,; Holguin, G and Bashan, L.E.** 2004. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular agricultural and environmental advances (1997-2003). Can. J.Microbiol. **50:**521-557.
- Barbieri P., Zanelli, T., Galli E., Zanetti G. 1988. Inoculation with *Azospirillum brasilense* Sp6 and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3- acetic acid production. FEMS Microbiol. Lett. **36**: 87-90.
- **Bastarrachea**, **F.,M. Zamudio**, **and R. Rivas.** 1987. Non-encapsulated mutants of *Azospirillum bruselense* and *Azospirillum lipoferum*. Can. J. Microbiol. **34**: 24-29.
- Belsky, A., Amudson, R., Duxbury, D., Riha, S., Ali, A. y S. Mwonga. 1989. The effects of trees on their physical, chemical, and biological environments in a semi-arid savanna in Kenya. Journal of Applied Ecology. 26: 1005-1024.

- **Bergey's Manual.**1984 Bacteriología sistemática. Ed. I, Vol. I sección 2. Instituto nacional de ciencias agrícolas. Artículo científico.
- **Boddey, R. M. and Döbereiner, J.** 1988. Nitrogen fixation associated with grasses and cereals: Recent results and perspectives for future research. Plant Soil, **108**, 53-65.
- **Buckart, G.** 1976. A monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae, Mimosidae) in North America. Acta Méx. 3: 7-19.
- Burdman, S.; Kigel, J. and Okon, Y. 1997. Effects of *Azospirillum brasilense* on nodulation and growth of common bean (*Phaseolus Vulgaris* L.). Soil Biol. Biochem, 29(5/6): 923-929.
- **Burkart, A.** 1976. A monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae subfam Mimosidae). Journal of Arnold Arboretum **57 (3-4):** 219-249, 450-525.
- **Bravo, H.** 1978. Las Cactáceas de México (The cactácea of México). Volumen I. Universidad Autónoma de México, México City, México.
- Cacciari I., Lippi D. and Pietrosanti T. 1989. Phytohormone-like substances produced by single and mixed diazotrophic cultures of *Azospirillum* spp. And Arthrobacter. Plant Soil 115: 151-153.
- Carrillo, A., Puente, M., Castellanos, T. y Y. Bashan. 1998. Aplicaciones Biotecnológicas de Ecología Microbiana. In: Pontificia Universidad Javeriana, Santa Fe de Bogotá, Colombia and Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste Manual de Laboratorio (eds), Manual de Laboratorio, La Paz, B.C.S., México.
- Carrillo-García, A., León de la Luz, J., Bashan, Y. y G. Bethlenfalvay. 1999. Nurse plants, mycorrhizae, and plant establishment in a 30 disturbed area of the Sonora desert. Restoration Ecology. 7: 321-335.
- Carrillo, A. 2002. Efecto de Azospirillum brasilenses en Cardón. Tesis de Maestría en Uso Manejo y Preservación de los Recursos Naturales. Colombia y Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, B.C.S.México.
- **Carrillo, A., Li, C. y Y. Bashan.** 2002. Increased acidification in the rhizosphere of cactus seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. Naturwissenschaften. **89:** 428-432.
- Castilla, L. A. 2005. Evaluación de líneas interespecíficas de arroz (*Oryza* spp) a la inoculación con las bacterias fijadoras de nitrógeno *Azotobacter chroococcum* y *Azospirillum amazonense* en un *Typic haplustalf* de la meseta de lbagué. Colombia. Palmira, 156p.
- Cavazos, D. R. 1997. Uso múltiple de los matorrales en el norte de México. Ciencia Forestal en México 22(81): 3-26.

- Cavazos D., R. 1999. Proyecto Nacional de Mezquite (*Prosopis* spp.) Estrategias y Líneas de Acción. Documento de circulación interna. INIFAP-CE. Palma de la cruz. San Luis Potosí, S.L.P. México. 13 p.
- **CONAZA e INE.**1994. Mezquite *Prosopis* spp. Cultivo Alternativo para las Zonas Áridas y Semiáridas de México. Folleto. En: www.ine.mx. 31p.
- **Correll, D.S. y Johnston, M.C. 1970.** Manual of the vascular plants of Texas. Texas Research Foundation, Renner, Texas, U.S.A. 1881 pp.
- **Chen, Y and T. Aviad.** 1985. Effects of Humics Substances on Plant Growth. Soil Science. p (161-186). USA.
- Chotte, J.; Schwatzamann, A.; Bally, R. and Monrozier, L. J. 2002. Changes in bacterial communities and *Azospirillum* diversity in soil fractions of a tropical soil under 3 or 19 years of natural fallow. Soil Biol. Biochem., **34**, 1083-1092.
- Creus, C.M., Sueldo, R.J. and Barassi, C.A. 1996. Can. J. Microbiol. 42: 83-86.
- **Dalla s.** *et al.*, 2004.Effects of inoculation of *Azospirillum* sp. in maize seeds under field conditions,. Food, Agriculture and Environment, **2(1)**: p. 238-242.
- **Deaza, J. y Mesa, C.** 1996. Aislamiento y caracterización de bacterias fijadoras de nitrógeno microaerófilas asociadas a la rizósfera de Nageia rospigliosii (Pilger) Laubenfels. Trabajo de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.
- **De Coninck, K., S. Horemans, S. Randombage, and K. Vlassak**.1998. Occurrence and survival of *Azospirillum* spp. In temperate regions. Plant Soil **110:**213-218.
- **Díaz F A, I Garza C, V Pecina Q, A Magallanes E** .2004. Inoculación de micorriza arbuscular en sorgo: Práctica de producción sostenible. Campo Experimental Rio Bravo, INIFAP. Folleto Técnico No. 30. México.20p.
- **Díaz-Franco A, Ortegón-Morales A.** 2006. Efecto de inoculación con *Azospirillum bruselense* y fertilización química en el crecimiento y rendimiento de canola (*Brassica napus*). Rev. Fitotec. Mex. **29:** 63-67.
- Dobbelaere, S; A Croonenborghs; A Thys; D Ptacek; Y Okon & J Vanderleyden. 2002. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. *Biol. Fert. Soils* **36**: 284-297.
- **Döbereiner, J., I. Marriel, and M. Nery.** 1976. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. Canadian Journal Microbiology. Vol. 22. pp. 1464-1473.

- **Döbereiner, J.** 1995. Isolation and identification of aerobic nitrogen fixing bacteria from soil y plants [4] Pp. 134 -141 *In:* K Alef & P Nannipieri (eds.). Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press. Harcourt Brace y Company Publishers. London. 576 pp.
- **Dumbar, J. And Wilson A.T.** 1983. The origin of oxigen in Soil humic substances. J. of soil science. P34.
- Eckert,B., Weber, O.B., Kirchof, G., Halbritter, A., Stoffels, M. and Hartmann, A. 2001. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 51: 17-26.
- **Elein T. A., A. Leyva., y A. Hernández. 2005.** Microorganismo benéficos como biofertilizantes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Revista colombiana de biotecnología, diciembre. Vol. VIII, No. 002. Universidad Nacional de Colombia Bogotá, Colombia, pp. 47-54.
- **Fages J.** 1994. Azospirillum inoculants and field experiments, In: Okon, Y. (Ed.). Azospirillum Plant Associations. USA: CRC Press. pp. 88-105.
- **Fagg, W.C. and J.L. Stewart.** 1994. The value of *Acacia* and *Prosopis* in arid and semi-arid environments. J. of Arid Environments. 27: 3-25.
- **Fallik E, Y Okon**.1996. Inoculations of *Azospirillum brasilense*: biomass production, survival and growth promotion of *Setaria italic* and *Zea mays*. Soil Biol. Biochem. **28**:123-126.
- **Fischer, S; V Rivarola & G Mori.** 2000. Colonization of wheat by *Azospirillum brasilense* Cd is impaired by saline stress. *Plant Soil* **225:** 187-191.
- Fulchieri M., Lucangeli C., Bottini R. 1993. Inoculation with A. lipoferum affects growth and gibberellin status of corn seedlings roots. Plant Cell Physiol.34: 1305-1309.
- Frías-Hernández, J. T., A. L. Aguilar-Ledezma, A. J. Balderas, G. Gutiérrez-Juárez, J. J. Alvarado-Gil, J. J. Castro, H. Vargas, A. Albores y L. Dendooven. 1999. Soil characteristics in semiarid highlands of central Mexico as affected by mesquite trees (*Prosopis laevigata*). Arid Soil Res. Rehabilitation 13: 305-312.
- **Galindo Almanza S. Y E. García Moya.** 1986. The uses of mezquites (*Prosopis* spp.) In the highlands of San Luis Potosí, México. Forest Ecol. Manag. **16:** 49-56.
- García-Espino, G., J. R. Reynaga, J. G. Medina y R. Jasso. 1989. Características físicas y químicas de suelos de islas de fertilidad y áreas adyacentes de mezquite (*Prosopis glandulosa* Torr.) en un matorral mediano espinoso en el norte de Coahuila. Agraria Rev. Científica UAAAN 5: 38-47.
- García, L.; Schloter, M.; Durkaya, T.; Hartman, F. y Gutiérrez, M. 2003. Colonization of pepper roots by a plant growth promoting Pseudomonas fluorecens strain. Biology and Fertility of Soils. 37: 381-385.

- **Garner, W. y Y. Steinberger.** 1989. A proposed mechanism for the formation of 'Fertile Islands' in the desert ecosystem. Journal of Arid Environments. **16:** 257-262.
- **Gibson, A.H., Roper, M.M., Halsall, D.M.** 1986. Straw breaddown to fuel nitrogen fixation in soil. Report, CSIRO- Division of Plant- industry. pp. 17-23. Australia.
- **Golubov, J. Mandujano, M. y L. E. Eguiarte.** 2001. The paradox of mesquites (*Prosopis* spp): Invading species of biodiversity enhancers. Boletín de la Sociedad Botánica de México. **69:** 21-28.
- **Gómez, L. F.** 1970. Importancia económica de los mezquites (*Prosopis* spp) en algunos estados de la República Mexicana. En: Mezquites y huizaches. I.M.R.N.R., México. pp.1-69.
- **Granados, S. D.** 1996. El Mezquite: El árbol del desierto. Ciencias Forestales 1: 37-51.
- Haahtela, K., T. Wartiovaara, V. Sundman, and J. Skujins. 1981. Root- associated N<sub>2</sub> fixation (acetylene reduction) by *Enterobacteriaceae* and *Azospirillum* strains in cold-climate spodsols. Appl. Environ. Microbiol. **41:** 203-206.
- **Hamdi, H.** 1999. Rhizobium-Legume Symbiosis and Nitrogen Fixation under Severe Conditionsand in Arid Climate. Microbiology and Molecular Biology Reviews. **63:** 968-989.
- Harsh, NL. And J.C. Tewari. 1998. *Prosopis* in the arid regions of India: Some important aspects of research and development. In: Tewari, J.C.; N.M. Pasiecznik; L.N. Harsh and P.J.C. Harris (eds.) semi-arid zones of India. HDRA and The *Prosopis* Societ of India. p. 5-10.
- Hastings, J.R., Turner R.M. and Warren D.K. 1972. An atlas of some plant distributions in the Sonoran Desert. University of Arizona. Technical Reports on the Meteorology and climatology of arid regions. 21. Tucson, Az. USA. 255 p.
- Hauwaerts, D.; Alexandre, G.; Das, S. K.; Vanderleyden, J. and Zhulin, I. B. 2002. A major chemotaxis gene cluster in *Azospirillum brasilense* and relationships between chemotaxis operons in alfa-proteobacteria. FEMS Microbiol. Lett., **208**, 61-67.
- **Hecht-Buchholz, C.** 1998. The apoplast-habitat of endophytic dinitrogen-fixation bacteria and their significance for the nitrogen nutrition of nonleguminous plants. Z. Pflanzenernähr. Bodenk., **161**, 509-520.
- Hernández, R.A. 1992. El Mezquite. Vinculación 4: 23-26.
- **Hernández**, **A. N.** 1996. Selección de Rizobacterias para la biofertilizacion en el cultivo del maíz. Tesis de Maestria. La Habana. 4-18.

- **Holt, J.** 1984.Azotobactereaceae. In: Bergey's of systematic bacteriology. Baltimore Williams and Wilkins, Vol. 1. p. 220-229.
- **Hubbell, S.** 1979. Tree dispersion, abundance, and diversity in a tropical dry forest. Science. **203**: 1299-1309.
- **Instituto Nacional de Ecología (INE)** 1994. Mezquite *Prosopis* spp. Cultivo alternativo para las zonas áridas y semiáridas de México. Instituto Nacional de Ecología. México, D.F. México.
- **James, E.K. 2000**. Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. Field Crop Res. **65:** 197-209.
- **Jain, D. K., and D.G. Patriquin.** 1984. Root hair deformation, bacterial attachment, and plant growth in wheat-*Azospirillum* associations. Appl. Environ. Microbiol. **48:**1208-1213.
- **Kapulnik**, **Y.**, **Y.Okon**, **and Y.Henis**. 1985. Changes in root morphology of wheat caused by *Azospirillum* inoculation. Can.J.Microbiol. **31**:881-887.
- **Kaushik, R; AK Saxena & KVBR Tilak.** 2002. Can *Azospirillum* strains capable of growing at a sub-optimal temperature perform better in field-grown-wheat rhizosphere. Biol. Fert. Soils **35:**92-95.
- Kirchhof, G., V. M. Reis, J. I. Baldani, B. Eckert, J. Döbereiner y A. Hartman. 1997. Occurrence, physiological and molecular analysis of endophytic diazotrophic bacteria in gramineous energy plants. Plant Soil 194: 45-55.
- **Kononova, M.M.** 1981. Materia orgánica del suelo; su Naturaleza, Propiedades y Métodos de investigación. Barcelona, España. P365.
- **Kozdroj, J; JT Trevor & JD Van Elsas.** 2004. Influence of introduced potential biocontrol agents on maize seedling growth and bacterial community structure in the rhizosphere. *Soil Biol. Biochem* **36:**1775-1784.
- **Kucey, R.M.N.,** 1988. Alteration of size of wheat root system and nitrogen fixation by associative nitrogen fixing bacteria measured under field conditions. *Canadian J. Microbiol.*, **34:** 735–739.
- Krumpholz, E., Ribaudo, C., Cassán, F., Bottini, R., Cantore M. and Curá A. 2006. Azospirillum sp. promotes root hair development in tomato plants through a mechanism that involves ethylene. Journal of Plant Growth Regulation (2006). 25(2):175-185.
- **Levanony, H., and Y. Bashan.** 1991. Active attachment of *Azospirillum brasilense* to root surface of non-cereal plants and to sand particles. Plant Soil. **137**:91-97.
- **Lubeck**, **P.S.**, **M.** Hasen and **T.** Sorensen, 2000. Simultaneous detection of establishment of seed inoculated Pseudomonas fluorescens strain DR54 and native soil bacteria

- on sugar beet root surfaces using fluorescens antibody and in situ hybridization technique. FEMS Microbiol. Ecol., **33:** 11-19.
- Luna-Suárez, S., J. T. Frías-Hernández, V. Olalde-Portugal y L. Dendooven. 2000. Catclaw (*Mimosa buincifera*): a pest or a means to restore soil fertility in heavily eroded soil from the central highlands of Mexico? Biol. Fertil. Soils **32**: 109-113.
- Maass, J. M. 1998. La erosión de suelos en México: una consecuencia de la transformación del hábitat y uno de los problemas más serios de degradación ambiental. pp. 271-285. *In:* Toledo, G. y M. Leal (eds.). Destrucción del hábitat. PUMA, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.
- Martínez Morales, L. J.; Soto-Urzúa, L.; Baca, B, E. and Sánchez, J. A. 2003. Indole-3-butyric acid (IBA) production in cultura médium by wild strain *Azospirillum* brasilense. FEMZ Microbiol. Lett. 228(2): 167-173.
- Martínez-Medina, J. 2004. Respuesta de la biofertilización en el crecimiento y rendimiento de sorgo de grano en Linares, Nuevo León. *In:* Díaz-Franco, A,: Mayek-Pérez, N.;Mendoza, A. y Maldonado-Moreno, N.(eds.)Memoria del Simposio de biofertilización. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Rio Bravo. Tamaulipas, México. P. 42-52.
- Mascarúa-Esparza, M. A., G. R. Villa y J. Caballero-Mellado. 1988. Acetylene reduction and indoleacetic acid production by *Azospirillum* isolates from cetaceous plants. Plant Soil 106: 91-95.
- **Medina, B. Nicolás** *et al.*, 1996-1997. Efecto de la biofertilización con bacterias rizosferica en el cultivo del tomate. Instituto nacional de ciencias agrícolas. Artículo científico.
- Mendoza H. Alberto, Cruz M. Antonia, Jacques Hernández Cuauhtémoc.2004. Aislamiento, selección, producción y evaluación de un inoculante basado en cepas nativas de *Azospirillum* en el norte de Tamaulipas. Simposio de biofertilización, Reynosa Tamaulipas México.
- **Neori, A. y Zskova-KonZcalova, Z.** 2001. Bioactive chemicals and biological-biochemical activities and their functions in rhizospheres of wetland plants. Bottany Review. **66:** 350-378.
- **Nobel, P.** 1996. Ecophysiology of roots of desert plants, with special emphasis on agaves and cacti. in Y. Waisel, A. Eshel, and U. Kafkafi, editors. Plant roots, the hidden half. 2nd edition. Marcel Dekker, Inc." New York.
- Nur, I., Y.Okon, and Y Henis. 1980. Comparative studies of nitrogen-fixing bacteria associated with grasses in Irael with *Azospirillum brasilense*. Can. J .Microbiol. **26**:714-718.

- Okon, Y., E. Fallik, S. Sarig, E. Yahalomy S. Tal. 1988. Plant growth promoting effects of *Azospirillum.* pp. 741-746. *In:* Bothe, H, F. J. de Bruijn y W. E. Newton (eds.).Nitrogen fixation: hundred years after. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart, Germany.
- **Okon, Y. y C. A. Labandera-González.** 1994. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years world wide field inoculation. Soil Biol. Biochem. **26:** 1591-1601.
- **Okon, Y. y Itzigsohn, R.** 1995. The development of Azospirillum as a commercial inoculant for improving crop yields. Biotechnology Advances. **13:** 365-374.
- Pandey, A.; Sharma, E. and Palni, L. M. S.1998. Influence of bacterial inoculation on maize in upland farming systems of the Sikkim himalaya. Soil Biol. Biochem., 30, 379-384.
- Pecina-Quintero,V.; Díaz-Franco, A.; Williams-Alanis, H.; Rosales-Robles, E. y Garza-Cano, I. 2005. Influencia de la fecha de siembra y biofertilizantes en sorgo. Rev. Fitotec. Méx. **28(4)**: 389-392.
- **Pérez M. Rolfi. 2010.** Efectividad de ácidos húmicos de leonardita y *Azospirillum* en la estabilidad de agregados y distribución radicular de chile jalapeño. Tesis. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah, Méx. pp. 35-36.
- Ramírez, G.R. y Luna, B. M. 1995. Simbiosis asociativas. *In*: Ferrera-Cerrato, R. y Pérez M., J. (eds). Agromicrobiología. Elemento útil en la agricultura sustentable. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. P. 143-165.
- Ramos, H. J. O.; Roncato-Maccari, L. D. B.; Souza, E. M.; Soares-Ramos, J. R. L.; Hungria, M. and Pedrosa, F. O. 2002. Monitoring *Azospirillum*-wheat interactions using the gfp and gusA genes constitutively expressed from a new broad-host range vector. J. Biotechnol., **97**, 243-252.
- **Randall, A.** 1985. Economía de los recursos naturales y política ambiental, trad. Por Ricardo Calvet Pérez, Limusa, México.
- Reig, A. 1994. Análisis de económico de los recursos naturales. Cátedra de Contabilidad I. Fac. de Ciencias Económicas. Universidad Champagnat. Mendoza. Multequina. 3: 205-211.
- Reyes-Reyes, G., L. Baron-Ocampo, I. Cuali-Alvarez, J. T. Frías-Hernández, V. Olalde-Portugal, L. Varela-Fregoso y L. Dendooven. 2002. C and N dynamics in soil from the central highlands of Mexico as affected by mesquite (*Prosopis* spp.) and huizache (*Acacia tortuosa*): a laboratory investigation. App. Soil Ecol. 19: 27-34.
- Riggs, P.J., M.K. Chelius, A.L. Iniguez, S.M. Kaeppler y E.W. Triplett. 2001. Enhanced maize productivity by inoculation with diazotrophic bacteria. Aust. J. Plant Physiol. 28: 829-836.

- Rennie, R. J., J. R. de Freitas, A. P. Ruscher y P. B. Vose. 1982. Isolation and identification of N2-fixing bacteria associated withsugar cane (*Saccharum* sp.). Can. J. Microbiol. **28:** 462-467.
- Reyes I. & Valery A. 2007. Efecto de la fertilidad del suelo sobre la microbiota y la promoción del crecimiento (Zea mays L.) con Azotobacter spp. Bioagro. 19: 117-126.
- **Rodriguez- Cáceres, E.** 1982. Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp. Appl. Environ. Microbiol. **44:**990-991.
- Ross, I. L.; Alami, Y; Harvey, P. R.; Achouak, W. and M. Ryder. 2000. Genetic diversity and biological control activity of closely related Pseudonomas isolated from wheat field soils in Souh Australia. Appl. Environ. Microbiol. 66(4): 1609-1616.
- **Ross J. and O'Neill D.** 2001. New interactions between classical plant hormones. Trends Plant Sci **6:**2-4.
- **Roy, RN; RV Misra & A Montanez.** 2002. Decresing reliance on mineral nitrogen- Yet more food. *Ambio* **31**:177-183.
- Rzedowski J.1978. Vegetación de México. Editorial LIMUSA, México.
- Rzedowski, J.; 1981. Vegetación de México. LIMUSA. México. pp 430.
- Rzedowski, G. C. de, Y J. Rzedowski (eds.). 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2ª ed. Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán. pp 259.
- **Sánchez, M.** 1964. Microbiología Agrícola. Serie de apuntes Nº3. Chapingo, México: s.n., p. 568.
- **Silva K., Salles F., Seldini L. & Elsas J.** 2003. Application of a novel Paenibacillus-specific PCR-DGGE method and sequence analysis to asses the diversity of Paenibacillus spp. in the maize rhizosphere. Journal of Microbiological Methods. **54:** 213-231.
- **Solis, G., y M. Espericueta.** 2005. Utilización y aprovechamiento del mezquite (*Prosopis*) en Sonora. Biotecnia. Vol. 8. Revista de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad de Sonora.
- **Sumner, M. E.** 1990. Crop responses to *Azospirillum* inoculation. In: Stewat, B. A. (Ed.). Advances in Soil Science. New York: Springer-Verlag. pp. 52-123.
- **Schnitzer, M.**1978. Humic Substances: Chemistry and Reactions: in Soil Organic Matter(Ed.) Schnitzer y Khan. Soil Organic Matter. Elseveir, Amsterdam.

- **Schnitzer, M.** 2000. Life Time Perspective on the Chemistry of Soil Organic Matter. D. L. Sparks (Ed.). Advances in Agronomy, Academic Press. **98:** 3-58.
- Shishido, M.; Massicotte, H y Chanway, C. 1996. Effect of plant growth promoting Bacillus strain on pine and spruce seedling growth and mycorrhizal infection. Annals of Botany. 77, 433-441.
- Stevenson, F.J.1982. Humus Chemistry. Wiley, New York.
- **Toledo, V. M. y Ma. de J. Ordóñez.** 1998. El panorama de la biodiversidad de México: una revisión de los hábitats terrestres. pp. 757-777. *In:* Ramamoorthy, T. P., R. Bye, A. Lot y J. Fa (eds.). Diversidad biológica de México: orígenes y distribución. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.
- **Tien, T.; Gaskins, M. and D. Hubbell,** 1979. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of Pearl Millet (*Pennisetum americanum*) Appl. Environ. Microbiol. **37:** 1016-1024.
- **Tsagou, V; I Kefalogianni; K Sini & G Aggelis.** 2003. Metabolic activities in *Azospirillum lipoferum* grown in presence of NH<sub>4</sub> <sup>+</sup>. Appl. Microbiol. Biotechnol. **62:**574 -578.
- Tyler, M.E., J.R. Milam, R L. Smith, S.C. Schank, and D. A. Zuberer. 1979. Isolation of *Azospirillum* from diverse geographic regions. Can. J. Microbiol. **25**:693-697.
- **Velazco, A.** 2001. Utilización de *Azospirillum brasilense* en el cultivo del arroz (*Oriza sativa* L) sobre un suelo hidromórfico Gley de la provincia del Pinar del Rio. Tesis presentada en opción al grado científico Dr. En Ciencias Agrícolas. INCA. La Habana. 100.
- Villegas-Espinoza, J.A.; Rueda-Puente, E.O.; Murillo-Amador, B.; Puente, M.E.; Grimaldo-Juárez, O.; Avilés-Marín, S.M.; Ponce Medina, J.F. 2010. Efecto de la inoculación de *Azospirillum halopraeferens* Y *Bacillus amyloliquefaciens* en la germinación de *Prosopis chilensis*. Tropical and Subtropical Agroecosystems. Universidad Autónoma de Yucatán. Vol. 12, Núm. 1 pp. 19-32.
- **Vivienne, N.; Matiru, F.D. and Dakora. S.** 2004. Potencial use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in landraces of African cereal crops. Afr. J. Biotechnol. **3(1):** 1-7.
- **Wiedenfel R, M Braverman.** 1991. Fertilizer nitrogen for vegetable production. Subtrop. Plant Sci. **44(1):**33-36.
- **Zimmer, W., K. Roeben, and H. Bothe.** 1988. An alternative explanation for plant growth promotion by bacteria of the genus *Azospirillum*. Planta **176**:333-342.

**APÉNDICE** 

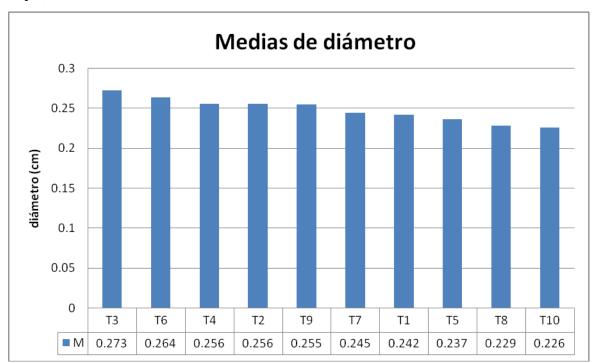
Apéndice 1.Base de datos de las medias de incrementos de altura y diámetro en *Prosopis glandulosa.*, en el invernadero forestal de la UAAAN.

				o forestal de la	
T	F	В	R	ITD	ITH
1	1	1	1	0.23	25.12
1	1	2	2	0.25	17.05
1	1	3	3	0.249	19.31
1	1	1	4	0.234	18.96
1	1	2	5	0.247	23.89
2	1	3	1	0.241	17.97
2	1	1	2	0.289	18.61
2	1	2	3	0.24	27.84
2	1	3	4	0.23	20.49
2	1	1	5	0.278	16.26
3	1	2	1	0.255	19.34
3	1	3	2	0.278	30.98
3	1	1	3	0.291	27.54
3	1	2	4	0.268	24.37
3	1	3	5	0.272	18.16
4	2	1	1	0.24	21.34
4	2	2	2	0.264	23.5
4	2	3	3	0.233	32.53
4	2	1	4	0.281	18.63
4	2	2	5	0.262	9.41
5	2	3	1	0.296	19.5
5	2	1	2	0.205	25.01
5	2	2	3	0.234	13.66
5	2	3	4	0.208	19.97
5	2	1	5	0.242	33.1
6	2	2	1	0.308	19.55
6	2	3	2	0.237	25.4
6	2	1	3	0.265	20.44
6	2	2	4	0.241	20.99
6	2	3	5	0.271	27.74
7	3	1	1	0.218	28.91
7	3	2	2	0.244	26.31
7	3	3	3	0.248	15.52
7	3	1	4	0.245	20.69
7	3 3 3 3	2	5	0.268	18.66
8	3	3	1	0.202	15.79
8		1	2	0.276	23.67
8	3	2	3	0.255	31.69
8	3 3 3	3	4	0.189	18.5
8	3	1	5	0.225	18.16

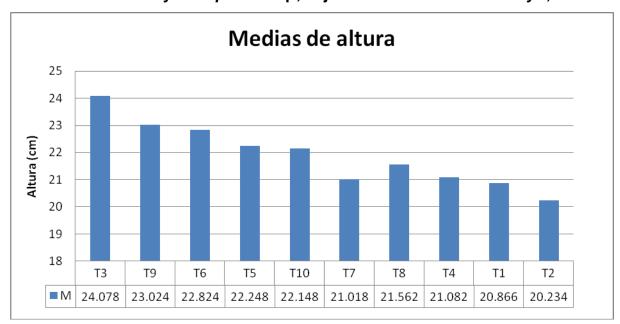
9	3	2	1	0.236	20.26
9	3	3	2	0.219	26.84
9	3	1	3	0.294	19.33
9	3	2	4	0.255	25.32
9	3	3	5	0.271	23.37
10	0	0	1	0.226	25.19
10	0	0	2	0.245	18.3
10	0	0	3	0.204	27.73
10	0	0	4	0.232	19.37
10	0	0	5	0.221	20.15

Donde: T= Tratamiento; F= Fertilizante 1, 2, 3 %; B= Bacteria (*Azospirillum* sp) con concentración 10<sup>8</sup> 10<sup>9</sup> y 10<sup>10</sup>; R= Repetición; ITD= Incremento total en diámetro; ITH= Incremento total en altura.

Apéndice 2. Análisis de comparación de medias de Tukey de los incrementos en diámetro para *Prosopis glandulosa*, sometidas a la aplicación de ácidos húmicos y *Azospirillum* sp, bajo invernadero forestal. Mayo, 2011.



Apéndice 3. Análisis de comparación de medias de Tukey de los incrementos en altura para *Prosopis glandulosa*, sometidas a la aplicación de ácidos húmicos y *Azospirillum* sp, bajo invernadero forestal. Mayo, 2011.



Apéndice 4. Selección de plantas para el análisis del sistema radicular en *Prosopis glandulosa*, en el invernadero forestal de la UAAAN. Mayo, 2011.

Т	R	D	Ht	BL	PLANT
T1	R1	0.58	64.5	16	2
<b>T2</b>	R2	0.58	61	19	1
Т3	R4	0.58	67	21	10
<b>T4</b>	R3	0.57	57	3	2
T5	R2	0.5	61	34	9
Т6	R2	0.69	66.7	12	8
<b>T7</b>	R1	0.6	68.5	8	4
T8	R3	0.54	61.2	7	2
Т9	R2	0.44	60.5	11	5
TESTIGO	R2	0.43	48.8	30	10

Donde: T= Tratamientos; R= Repeticiones; D= Diámetro; Ht= altura; BL= Bloque o unidad experimental; PLANT=Plantas seleccionadas.