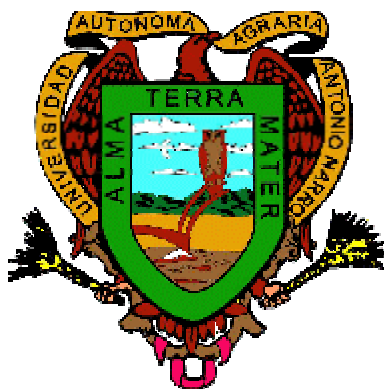


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

División de agronomía.

Departamento de Botánica.



**INFLUENCIA DE *Trichoderma* spp., EN LA ABSORCIÓN DE N Y P EN LOS
CULTIVOS DE MAÍZ (*Zea mays* L.) Y AJO (*Allium sativum* L.).**

JOSÉ DAVID LÓPEZ LEYVA

TESIS

Como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
Agosto de 2005.

Universidad Autónoma Agraria

“Antonio Narro.”

División Agronomía

Departamento Botánica

Influencia de *Trichoderma* spp., en la absorción de N y P en los cultivos de maíz (*Zea mays* L.) y ajo (*Allium sativum* L.).

Por

José David López Leyva.

Fue realizada bajo la dirección del Consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

PRESIDENTE DEL JURADO:

DR. Gabriel Gallegos Morales.

SINODAL:

Dr. Juan José Peña Cabriales

SINODAL:

Bióloga. Sofía Comparán Sánchez.

SINODAL:

Biólogo. Miguel Agustín Carranza Pérez.

Coordinador del departamento de agronomía.

Ingeniero Arnoldo Oyervides García

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México Agosto de 2005.

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Microbiología Ambiental del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV-IPN), Unidad Irapuato, bajo la dirección del Dr. Juan José Peña Cabriales y la asesoría del M. C. José Antonio Vera Núñez como parte del proyecto FOMIX-Guanajuato 5373.

Director Interno.

DR. Gabriel Gallegos Morales.

Director Externo.

Dr. Juan José Peña Cabriales
Profesor Investigador CINVESTAV. Unidad Irapuato.

Asesor Externo.

M. C. José Antonio Vera Núñez
Asistente de investigación CINVESTAV Unidad Irapuato.

DEDICATORIAS

A mis padres el Sr. José Guadalupe López Elizondo y la Sra. María De La Paz Leyva De Anda. Por contar siempre con su apoyo, en mi formación profesional así como en mi formación como persona. Contando siempre con sus buenos ejemplos de nunca rendirse a pesar de que no siempre la vida les sonreía su constancia les permitía salir adelante y creo que ese ejemplo me permitió terminar mi formación y construir un sueño de vida que se esta realizando.

A mis hermanos Mónica María y Juan Francisco. Por haber contado siempre con su apoyo como hermanos y amigos y haberme dado ánimos en las decisiones tomadas.

A mis sobrinos Gerardo, Rocio, Jorge y Juan José. Que forman parte de mi familia.

A una persona muy especial, Amparo Mauricio Gutiérrez, por su apoyo incondicional durante y al final de la realización del trabajo; que a pesar de no siempre haber tenido momentos benignos y haber pasado tiempos difíciles siempre conté con su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Gabriel Gallegos Morales. El cual me dio su apoyo incondicionalmente además de la asesoría para realizar mi trabajo.

Al Dr. Juan José Peña Cabriales. Por haberme dado la oportunidad de realizar mi tesis en el laboratorio a su cargo y la asesoría recibida por su parte para la mejor comprensión y presentación de los resultados obtenidos.

Al M.C. Martín Ávila Miranda. Por todo el apoyo recibido, sus consejos y observaciones durante mi estancia en el laboratorio de microbiología ambiental.

Al técnico y profesor Simón Rodríguez Castellanos, por sus consejos en el tratado de las muestras.

Al M. C. José Antonio Vera Núñez. Por su apoyo para terminar este trabajo.

A mi Alma Terra, por las herramientas que me dio para enfrentar la vida.

Al Sistema Nacional de Investigadores, Por el apoyo recibido en mi calidad de ayudante de investigador y haberme dado la oportunidad de contribuir con un grano de arena en el desarrollo científico de país. Además de conocer una institución de investigación reconocida nacional e internacionalmente.

Índice General	V
Índice de Cuadros	VII
Índice de Figuras	VIII
Índice de Tablas	XI
Resumen	XII
I. INTRODUCCIÓN	1
II. JUSTIFICACIÓN	3
III. Objetivo general	4
IV. Objetivos específicos	4
V. Hipótesis	5
VI. ANTECEDENTES	6
VI. 1. Importancia de los cultivos de maíz y ajo	6
VI. 1.1. Cultivo de maíz (<i>Zea mays</i> L.)	6
VI. 1.2. Cultivo de ajo (<i>Allium sativum</i> L.)	7
VI. 2. Fertilizantes	8
VI. 3. Nutrición mineral de las plantas	10
VI. 3.1. Nitrógeno (N)	13
VI. 3.1.1. Ciclo del N	13
VI. 3.1.2. Asimilación de N por las plantas	14
VI. 3.1.3. Transformaciones y pérdidas de N en el sistema suelo-planta	16
VI. 3.2. Fósforo (P)	18
VI. 3.2.1. Ciclo del P	18
VI. 3.2.2. Asimilación de P por las plantas	20
VI. 3.2.3. Función del P en la planta	21
VI. 4. Interacción cultivo-microorganismo	21
VI. 5. <i>Trichoderma</i>	25
VI. 5.1. Taxonomía y ciclo de vida	25
VI. 5.2. Importancia del género <i>Trichoderma</i>	25
VI. 5.3. <i>Trichoderma</i> como promotor del crecimiento	27
VI. 5.4. <i>Trichoderma</i> asociado a la absorción de nutrimentos	32
VI. 5.5. Otros usos de <i>Trichoderma</i>	34
VI. 6. Métodos para cuantificar la eficiencia nutrimental	34
VI. 6.1. Técnicas isotópicas de ¹⁵N	35
VI. 6.2. Evaluación de la absorción de fertilizantes	36
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	38
VII. 1. Generación de tratamientos y diseño experimental	38

VII. 2. Suspensión conidial de <i>Trichoderma</i>	40
VII. 3. Sustrato de salvado para <i>Trichoderma</i>	41
VII. 4. Muestreo	42
VII. 5. Tinción de raíz	43
VII. 5. Método Kjeldahl	44
VII. 6. Relación isotópica $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ por oxidación de Rittenberg	45
VII. 7. Cuantificación de P	46
VII. 7. Variables en estudio	49
VII. 7.1. Biológicas	49
VII. 7.1.1. Biomasa seca (BS)	49
VII. 7.2. Nutrimentales	49
VII. 7.2.1. N total (Nt)	49
VII. 7.2.2. P total (Pt)	50
VII. 7.2.1.1. Rendimiento de nitrógeno total (RNt)	50
VII. 7.3. Isotópicas	50
VII. 7.3.1. ^{15}N Nitrógeno a.e. (^{15}N)	50
VII. 7.3.2. N derivado del fertilizante (Nddf)	51
VII. 7.3.3. Rendimiento de N fertilizante (RNF)	51
VII. 7.3.4. Eficiencia de absorción del fertilizante N (EFN)	51
VII. 8. Análisis estadístico de la información	51
VIII RESULTADOS	52
VIII. 1. Inóculos de <i>Trichoderma</i>	52
VIII. 2. Exp. 1: ^{15}N-Maíz/<i>Trichoderma</i>	52
VIII. 2.1. Variables biológicas	52
VIII. 2.2. Variables nitrógeno (Nt) e isotópicas	61
VIII. 3. Exp. 3: P-Maíz/<i>Trichoderma</i>	65
VIII. 3.1. Variables biológicas	65
VIII. 3.2. Variables fósforo (P)	68
VIII. 4. Exp. 2: ^{15}N-Ajo/<i>Trichoderma</i>	73
VIII. 4.1. Variables biológicas	73
VIII. 4.2. Variables nitrógeno (Nt) e isotópicas	78
VIII. 5. Exp. 4: P-Ajo/<i>Trichoderma</i>	87
VIII. 5.1. Variables biológicas	87
VIII. 5.1. Variables fósforo (P)	92
IX. DISCUSIÓN	99
X. CONCLUSIONES	111
XI. BIBLIOGRAFÍA	113

Índice de Cuadros

Cuadro 1. Concentración de la suspensión conidial y preparación de preinóculos de <i>Trichoderma</i> spp.	52
Cuadro 2. Producción de raíz, paja, grano y biomasa total del exp. 1: ¹⁵ N-Maíz/ <i>Trichoderma</i> .	54
Cuadro 3. Rendimiento de N total y N fertilizante en paja del cultivo de maíz del exp. 1: ¹⁵ N-Maíz/ <i>Trichoderma</i> .	61
Cuadro 4. Rendimiento de N total y N fertilizante en paja del cultivo de maíz del exp. 1: ¹⁵ N-Maíz/ <i>Trichoderma</i> .	64
Cuadro 5. Rendimiento de P total y P fertilizante e paja de maíz del exp. 3: P-Maíz/ <i>Trichoderma</i>	69
Cuadro 6. Rendimiento de raíz, paja, bulbo y biomasa total en el cultivo de ajo del exp. 2: ¹⁵ N-Ajo/ <i>Trichoderma</i> .	73
Cuadro 7. Rendimiento de N total y N fertilizante en paja del cultivo de ajo del exp. 2: ¹⁵ N-Ajo/ <i>Trichoderma</i> .	79
Cuadro 8. Rendimiento de N total y N fertilizante en bulbo del cultivo de ajo del exp. 2: ¹⁵ N-Ajo/ <i>Trichoderma</i> .	83
Cuadro 9. Rendimiento de raíz, paja, bulbo y biomasa total del exp. 4: P-ajo/ <i>Trichoderma</i> .	87
Cuadro 10. Rendimiento de P total y P fertilizante en paja de ajo del exp. 4: P-ajo/ <i>Trichoderma</i> .	92
Cuadro 11. Rendimiento de P total y P fertilizante en bulbo de ajo del exp. 4: P-ajo/ <i>Trichoderma</i> .	96

Índice de Figuras

Fig. 1. Vías apoplasto y simplasto de la nutrición en la plantas.	12
Fig. 2. Esquema simplificado del sistema dinámico N en suelo-planta.	14
Fig. 3. Esquema simplificado del sistema dinámico P en suelo-planta.	20
Fig. 4. Curva de calibración de P (ppm: partes por millón o $\mu\text{g mL}^{-1}$) para las muestras de maíz.	47
Fig. 5. Curva de calibración de P (ppm: partes por millón o $\mu\text{g mL}^{-1}$) para las muestras de ajo.	48
Fig. 6. Producción de raíz por el cultivo de maíz inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 1: ^{15}N -Maíz/ <i>Trichoderma</i>).	54
Fig. 7. Producción de paja por el cultivo de maíz inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 1: ^{15}N -Maíz/ <i>Trichoderma</i>).	56
Fig. 8. Producción de grano por el cultivo de maíz inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 1: ^{15}N -Maíz/ <i>Trichoderma</i>).	57
Fig. 9. Producción de biomasa por el cultivo de maíz inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 1: ^{15}N -Maíz/ <i>Trichoderma</i>).	58
Fig. 10. Colonización por arbusculos fúngicos de raíces del cultivo de maíz inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 1: ^{15}N -Maíz/ <i>Trichoderma</i>).	60
Fig. 11. Absorción de N fertilizante por paja del cultivo de maíz inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 1: ^{15}N -Maíz/ <i>Trichoderma</i>).	62
Fig. 12. Eficiencia de uso de N fertilizante en paja del cultivo de maíz inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 1: ^{15}N -Maíz/ <i>Trichoderma</i>).	63
Fig. 13. Absorción de N fertilizante por grano del cultivo de maíz inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 1: ^{15}N -Maíz/ <i>Trichoderma</i>).	65
Fig. 14. Producción de raíz por el cultivo de maíz inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 3: P-Maíz/ <i>Trichoderma</i>).	66
Fig. 15. Producción de paja por el cultivo de maíz inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 3: P-Maíz/ <i>Trichoderma</i>).	67
Fig. 16. Producción de biomasa por el cultivo de maíz inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 3: P-Maíz/ <i>Trichoderma</i>).	68
Fig. 17. Absorción de P total por paja del cultivo de maíz inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 3: P-Maíz/ <i>Trichoderma</i>).	70

Fig. 18. Absorción de P fertilizante por paja del cultivo de maíz inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 3: P-Maíz/ <i>Trichoderma</i>).	71
Fig. 19. Eficiencia de absorción de P fertilizante por el cultivo de maíz inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 3: P-Maíz/ <i>Trichoderma</i>).	72
Fig. 20. Producción de raíz por el cultivo de ajo inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ¹⁵ N-Ajo/ <i>Trichoderma</i>).	74
Fig. 21. Producción de paja por el cultivo de ajo inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ¹⁵ N-Ajo/ <i>Trichoderma</i>).	75
Fig. 22. Producción de bulbo por el cultivo de ajo inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ¹⁵ N-Ajo/ <i>Trichoderma</i>).	76
Fig. 23. Producción de biomasa por el cultivo de ajo inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ¹⁵ N-Ajo/ <i>Trichoderma</i>).	77
Fig. 24. Colonización de raíz del cultivo de ajo inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ¹⁵ N-ajo/ <i>Trichoderma</i>).	78
Fig. 25. Absorción de N total por paja del cultivo de ajo inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ¹⁵ N-Ajo/ <i>Trichoderma</i>).	80
Fig. 26. Absorción de N fertilizante por paja del cultivo de ajo inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ¹⁵ N-Ajo/ <i>Trichoderma</i>).	81
Fig. 27. Eficiencia de N fertilizante por paja del cultivo de ajo inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ¹⁵ N-Ajo/ <i>Trichoderma</i>).	82
Fig. 28. Absorción de N total por el bulbo de ajo inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ¹⁵ N-Ajo/ <i>Trichoderma</i>).	84
Fig. 29. Absorción de N fertilizante por el bulbo del cultivo de ajo inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ¹⁵ N-Ajo/ <i>Trichoderma</i>).	85
Fig. 30. Eficiencia de N fertilizante por paja del cultivo de ajo inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ¹⁵ N-Ajo/ <i>Trichoderma</i>).	86
Fig. 31. Producción de raíz por el cultivo de ajo inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/ <i>Trichoderma</i>).	88
Fig. 32. Producción de paja por el cultivo de ajo inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/ <i>Trichoderma</i>).	89
Fig. 33. Producción de bulbo por el cultivo de ajo inoculado con <i>Trichoderma</i> spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/ <i>Trichoderma</i>).	90

- Fig. 34. Producción de biomasa por el cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*). **91**
- Fig. 35. Absorción de P total por paja del cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-Maíz/*Trichoderma*). **93**
- Fig. 36. Absorción de P fertilizante por paja del cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*). **94**
- Fig. 37. Eficiencia de absorción de P fertilizante por paja del cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*). **95**
- Fig. 38. Absorción de P total por bulbo del cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*). **97**
- Fig. 39. Absorción de P fertilizante por bulbo del cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*). **98**
- Fig. 40. Eficiencia de absorción de P fertilizante por bulbo del cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*). **98**

Índice de Tablas

Tabla 1. Producción nacional de fertilizantes 1997–2002 (Mg).	9
Tabla 2. Consumo nacional aparente de fertilizantes (10^3 Mg ³).	9
Tabla 3. Importaciones de fertilizantes en México (10^3 Mg ³).	10
Tabla 4. Precio de fertilizante al agricultor (\$ Mg ⁻¹).	10
Tabla 5. Concentración usual de macro y microelementos en plantas superiores.	11
Tabla 6. Enfermedades y agentes causales controlados por <i>Trichoderma</i> spp.	26
Tabla 7. Características del suelo experimental utilizado.	39
Tabla 8. Origen y capacidad de colonización de los aislados de <i>Trichoderma</i> utilizadas en los experimentos.	40

Resumen

El incremento en los costos de producción agrícola por la aplicación de fertilizantes, se ha vuelto de vital importancia, el generar tecnologías enfocadas a incrementar la eficiencia de absorción de nutrimentos. El hongo *Trichoderma* spp. es un microorganismo común que habita la rizósfera es ampliamente utilizado como agente de biocontrol para reducir la incidencia de enfermedades en cultivos de importancia agrícola. Por otro lado, estudios recientes han demostrado que cepas de *Trichoderma* spp. incrementan el crecimiento de las plantas y la capacidad de absorción de N y P, y ciertos microelementos en las plantas inoculadas, lo cual se ve reflejado en un rendimiento mayor.

Derivado del aislamiento y caracterización de aislados de *Trichoderma* spp. de los principales sistemas de producción de maíz del estado de Guanajuato se seleccionaron los aislados con mayor capacidad de colonización de cada sitio muestreado para su evaluación en invernadero y posteriormente en campo.

Se realizaron cuatro experimentos independientes cuyo objetivo principal fue: 1). Evaluar el efecto de 5 aislados seleccionadas de *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N y P (0, 50, 100 y 120 %) de la dosis de 280 y 240 mg N kg⁻¹ suelo y 80 mg P₂O₅ kg⁻¹ suelo para los cultivos de maíz y ajo.

En términos generales para el Exp. 1: ¹⁵N-Maíz/*Trichoderma*, los resultados obtenidos muestran que la producción de raíz máxima se observó con los aislados CM28, CM35 y CM44 con la dosis de fertilización N 140 mg N kg⁻¹. El rendimiento de grano máximo fue observado en los tratamientos CM28 y CM35 + 140 mg N kg⁻¹. Integrando la absorción de N proveniente del fertilizante N en paja y grano se pudo observar que el tratamiento CM35 + 140 mg N kg⁻¹ presentó la eficiencia de N mayor (76%).

En el caso del Exp. 2: ^{15}N -Ajo/*Trichoderma*, la producción de raíz mayor se observó para la dosis de 120 mg N kg^{-1} , similar tendencia fue observada para la variable rendimiento de bulbo. El valor máximo observado se presentó en el tratamiento CM44 + 240 mg N kg^{-1} .

En relación al Exp. 3: P-Maíz/*Trichoderma*, el aislado CM28 presentó los valores mayores de peso seco de raíz, paja y biomasa.

En el Exp. 4: P-Ajo/*Trichoderma*, se vio un efecto negativo cuando no se fertilizó y se aplicaron las diferentes aislados de *Trichoderma*. En tanto que la eficiencia de P total (paja + bulbo) máxima fue observada en los tratamientos CM12 y CM28 + 40 mg P kg^{-1} .

Este trabajo demuestra el beneficio que trae consigo la inoculación de agentes microbianos como *Trichoderma* spp. el cual según los resultados generados puede reducir el consumo de fertilizantes nitrogenados y fosforados hasta en un 50%, en función del aislado y las condiciones climáticas trayendo como consecuencia no solo el beneficio para el agricultor sino también para el medio ambiente. Estas prácticas por lo tanto efficientarian la absorción de los elementos nutritivos aportados artificialmente al suelo. Las aislados de la región nos ofrecen la ventaja de que es el ambiente al que están adaptadas por lo cual no esperaríamos mucha diferencia al aplicarlas en campo, ya que el factor clima se vería reducido por ser cepas autóctonas de la región. Además de no poner en riesgo el equilibrio ecológico al tratar de introducir un microorganismo de otra región que competiría con los organismos nativos.

I. INTRODUCCIÓN

Dentro de los cultivos de cereales y hortalizas, el maíz y el ajo representan a dos de mayor importancia tanto económica como social en Guanajuato y México. Nuestro país es una de las naciones productoras de maíz mas importantes (18×10^6 Mg año⁻¹) con una superficie de 8×10^6 ha, así como también es un gran consumidor de esta gramínea. El estado de Guanajuato participa con el 3.1 % de la producción nacional superado por los estados de Jalisco, Veracruz, Puebla, Chiapas, entre otros, esta producción equivale a $\$23 \times 10^9$ (SAGARPA, 2005). Por otro lado, el cultivo de ajo ha cobrado gran importancia por sus propiedades curativas y culinarias. Las exportaciones mundiales de ajo fresco en el año 2000 fueron de USD $\$416 \times 10^6$ equivalentes a 757×10^3 Mg, de las cuales México contribuyó con el 2.3 %, principalmente exportado a los EE.UU (FAO, 2004). En el año 2003, el cultivo de ajo generó recursos económicos por $\$341 \times 10^9$ con una producción de 45×10^3 Mg, de las cuales Guanajuato aportó el 23 % de la producción (SAGARPA, 2005). Los sistemas de producción de maíz son muy variados, aunque los sistemas tecnificados aportan una alta proporción de la producción nacional, caso contrario es el cultivo de ajo, cuyo principal origen de la producción lo representan sistemas de producción altamente tecnificados (uso de agroquímicos, cultivares mejorados y sistemas de irrigación tecnificados).

Después de los problemas fitosanitarios y disponibilidad de agua, para lograr una producción adecuada de estos y otros cultivos, la fertilización representa el principal factor limitante. Esta problemática se ha magnificado debido, al déficit de abasto de fertilizantes nacionales, a la importación de los mismos, y por otro lado al uso inadecuado de los programas de fertilización que

conducen a la baja eficiencia en la absorción de nutrimentos (<50 %) (Peña-Cabriales y Grajeda-Cabrera, 1997), trayendo como consecuencia un aumento en los costos de producción (SAGARPA, 2005) y un incremento en el impacto ambiental derivado de las pérdidas nutrimentales que contaminan al suelo, agua y atmósfera (Lewis, 1986).

Una alternativa es realizar una agricultura de transición, la cual permita el uso de menores cantidades de fertilizantes y plaguicidas. El uso de inoculantes microbianos en la producción agrícola –agentes de biocontrol, absorción P por micorrizas, promotores del crecimiento y resistencia, etc.- ha sido ampliamente documentado (Harman, 2000). Sin embargo, derivado del incremento en los costos de producción agrícola por la aplicación de fertilizantes, se ha vuelto de vital importancia, el generar tecnologías enfocadas a incrementar la eficiencia de absorción de nutrimentos.

El hongo *Trichoderma* spp. es un microorganismo común que habita en la rizósfera, ampliamente utilizado como agente de biocontrol para reducir la incidencia de enfermedades en cultivos de importancia agrícola. En la última década se ha tenido gran interés en la nutrición vegetal mediada por *Trichoderma*, derivado de que algunos estudios donde la aplicación de este microorganismo incrementa el vigor y la biomasa de las plantas, además de reducir la dosis de fertilización de los cultivos (Windham *et al.*, 1986; Howell, 2003). Por otro lado, otros estudios han demostrado que cepas de *Trichoderma* spp. incrementan el crecimiento de las plantas y la capacidad de absorción de N y P, y ciertos microelementos en las plantas inoculadas, lo cual se ve reflejado en un rendimiento mayor (Altomare *et al.*, 1999). Otra importancia de este hongo radica en su capacidad para controlar diversas enfermedades de

los cultivos, así como ayudarlos a enfrentar condiciones de estrés, causados por condiciones bióticas y/o abióticas (Howell, 2003).

II. JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo se enfocó a generar información que demuestra que un efecto positivo de la inoculación de diferentes aislados de *Trichoderma* spp. a las plantas de maíz y ajo aumentan la capacidad de absorción de nutrientes como nitrógeno (N) y fósforo (P) permitiendo disminuir las dosis de fertilización N y P sin generar estrés. Para el caso del N se utilizó la técnica isotópica de ^{15}N , para cuantificar el porcentaje del N en la planta proveniente del fertilizante N. En el caso del P se utilizó el método de la diferencia en base a un control no-fertilizado y no-inoculado para determinar cuantitativamente la absorción del P por la planta tanto del fertilizante como del suelo.

Además de las características de mejoramiento en la absorción nutricional, se evaluó el comportamiento que presentan los aislados de *Trichoderma* spp. para colonizar las plantas de maíz y ajo, además, de otras variables biológicas (raíz, paja, grano y/o bulbo, y biomasa), información que permitirá sustentar y generar una recomendación tecnológica sobre la inoculación al suelo con *Trichoderma* spp. que se traduzca en un beneficio para los agricultores y para los ecosistemas.

III. Objetivo general

- Evaluar la absorción de N y P en plantas de maíz y ajo fertilizadas con diferentes dosis de N y P e inoculadas con aislados de hongos del género *Trichoderma* spp. bajo condiciones de invernadero.

IV. Objetivos específicos

- Cuantificar la absorción de N y P en plantas de maíz y ajo fertilizadas con diferentes dosis de N y P (0, 50, 100 y 120 %) de las dosis recomendadas para el cultivo de maíz NPK (280–80–0) y para el cultivo de ajo NPK (240–80–0), e inoculadas con aislados de hongos del género *Trichoderma* spp. (CM7, CM12, CM28, CM35 y CM44) por medio de la técnica isotópica de ¹⁵N y P total.
- Cuantificar la colonización del hongo *Trichoderma* en plantas de maíz y ajo inoculadas con aislados de hongos del género *Trichoderma* spp. (CM7, CM12, CM28, CM35 y CM44) y fertilizadas con diferentes dosis de N y P (0, 50, 100 y 120 %) de las dosis recomendadas para el cultivo de maíz NPK (280–80–0) y para el cultivo de ajo NPK (240–80–0).
- Cuantificar la producción de biomasa en plantas de maíz (raíz, paja y grano) y ajo (raíz, paja, y bulbo) fertilizadas con diferentes dosis de N y P (0, 50, 100 y 120 %) de las dosis recomendadas para el cultivo de maíz NPK (280–80–0) y para el cultivo de ajo

NPK (240–80–0), e inoculadas con aislados de hongos del género *Trichoderma* spp. (CM7, CM12, CM28, CM35 y CM44).

- Cuantificar la eficiencia de absorción de N y P en plantas de maíz y ajo fertilizadas con diferentes dosis de N y P (0, 50, 100 y 120 %) de las dosis recomendadas para el cultivo de maíz NPK (280–80–0) y para el cultivo de ajo NPK (240–80–0), e inoculadas con aislados de hongos del género *Trichoderma* spp. (CM7, CM12, CM28, CM35 y CM44) por medio de la técnica isotópica de ^{15}N y P total.

V. Hipótesis

- Ho: El aprovechamiento de los nutrimentos N y P es incrementada con la asociación rizosférica del hongo *Trichoderma* spp. en los cultivos de maíz (*Zea mays*) y ajo (*Allium sativum*).
- Ha: La asociación rizosférica del hongo *Trichoderma* spp. en los cultivos de maíz (*Zea mays*) y ajo (*Allium sativum*) no incrementa el aprovechamiento de los nutrimentos N y P.

VI. ANTECEDENTES

VI. 1. Importancia de los cultivos de maíz y ajo

VI. 1.1. Cultivo de maíz (*Zea mays* L.)

El cultivo de maíz (*Zea mays* L.) es una gramínea cuyo origen data de 5000 años antes de nuestra era en América tropical (cueva de la porra, Tamaulipas y valle de Tehuacán, Puebla) (Figuroa *et al.*, 1997).

La importancia del grano radica en que forma parte importante de la dieta de una gran población a nivel mundial, y ser un grano para la alimentación animal. En el año 2001, la producción mundial de maíz alcanzó los 880×10^6 Mg en comparación con las 570×10^6 Mg de trigo o las 400×10^6 Mg de arroz. Los EE.UU. es el mayor productor de maíz con aproximadamente el 45 % de la producción total mundial (FAO, 2004). A nivel nacional, el maíz constituye la base de la alimentación de los mexicanos por tradición y su composición nutrimental (base a materia seca): 77 % de almidón, 2 % de azúcar, 9 % de proteínas, 5 % de aceite, 5 % de pentosas y 2 % de cenizas (sales de Ca, Mg, P, Al, Fe, Na, K y Cl) (Jugenheimer, 1981). En México, el grano de maíz es uno de los cultivos que mas divisas genera $\$20 \times 10^9$, a pesar de no ser un cultivo muy rentable. La superficie dedicada a esta gramínea oscila en 8×10^6 ha sembradas anualmente en dos ciclos de producción con un rendimiento promedio de 2.326 Mg ha^{-1} a un precio que oscila en $\$1651.38 \text{ Mg}^{-1}$ (SAGARPA, 2005).

En los EE.UU., el 85 % de la producción de maíz se destina a la alimentación del ganado (Jugenheimer, 1981). Se estima que en el mercado se encuentran de 5-10 mil productos derivados del maíz, y aun en nuestros días se siguen descubriendo nuevos usos industriales y clínicos por ejemplo, las

barbas del maíz que tienen propiedades diuréticas eficaces y de acción muy segura (RIVA, 2004).

VI. 1.2. Cultivo de ajo (*Allium sativum* L.)

La planta apomíctico obligada de ajo (*Allium sativum* L.) es una *liliaceae* que se cultiva principalmente en zonas de clima templado y seco para obtener bulbos aromatizantes y medicinales (INFOAGRO, 2004); cuyo origen data del año 3000 AC en la región siberiana de Kirguiz en Asia central, a finales del siglo XV, los españoles introdujeron el ajo en el continente americano (AJODIRECTO, 2004).

Este cultivo ha venido a tomar importancia por sus propiedades anticancerígenas y culinarias que se le atribuyen. En el año 2003, se sembraron 5,451 ha, siendo la producción promedio de 8.289 Mg ha⁻¹, las cuales generaron recursos económicos por \$342x10⁶ a un valor promedio en el mercado de \$7,634.02 (SAGARPA, 2005).

Los sistemas de producción de maíz son muy variados, aunque los sistemas tecnificados aportan una alta proporción de la producción nacional, caso contrario es el cultivo de ajo, cuyo principal origen de la producción lo representan sistemas de producción altamente tecnificados (uso de agroquímicos, cultivares mejorados y sistemas de irrigación tecnificados).

Después de los problemas fitosanitarios y disponibilidad de agua, para lograr una producción adecuada de estos y otros cultivos, la fertilización representa el principal factor limitante. Esta problemática se ha magnificado debido por un lado, al déficit de abasto de fertilizantes nacionales y como consecuencia a la importación de los mismos, y por otro al uso inadecuado de

los programas de fertilización que conducen a la baja eficiencia en la absorción de nutrimentos (<50 %) (Peña Cabriales y Grajeda Cabrera, 1997) Esta problemática ha generado un aumento en los costos de producción (SAGARPA, 2005) y un incremento en el impacto ambiental derivado de las pérdidas nutrimentales que contaminan al suelo, agua y atmósfera (Lewis, 1986).

VI. 2. Fertilizantes

En México, el uso de fertilizantes se inició a principios del siglo antepasado y la producción de los mismos se inició en 1915. La zona agrícola de “El Bajío” que comprende a parte de los estados de Guanajuato, Querétaro y Michoacán (c.a. 500×10^3 ha) (Peña *et al.*, 2001), es considerado como una de las zonas más productoras, tanto por la diversidad de especies que se cultivan como por la superficie destinada a esta labor. En esta zona, se concentra el 4.73 % de la superficie nacional cultivada, la cual contribuye con un 6.16 % del ingreso agrícola. En esta zona se consume el 15 % de los fertilizantes N del país (Peña *et al.*, 2001).

En los últimos años, la producción nacional de fertilizantes (Tabla 1) desde el año 1997 ha presentado una tendencia a la baja, debido entre otras razones al cierre de varias plantas productoras principalmente de urea y nitrato de amonio.

Tabla 1. Producción nacional de fertilizantes 1997–2002 (Mg).

Productos	1997	1998	1999	2000	2001	2002
Fertilizantes nitrogenados	2 333 867	1 901 547	1 261 766	542 296	484 513	387 109
Sulfato de amonio	889 616	725 016	589 068	444 669	484 513	387 109
Nitrato de amonio	402 506	368 729	330 271	90 725	Nd	Nd
Urea	1 041 745	807 802	342 427	6 902	Nd	Nd
Fertilizantes fosfatados	847 460	901 192	917 480	963 432	774 892	253 712
Superfosfatados	Nd	Nd	Nd	414 226	334 368	242 268
Superfosfato triple	270 846	273 141	248 305	Nd	Nd	Nd
Fórmulas complejas	576 614	628 051	669 175	549 206	549 206	11 444

Nd=No determinado; año 2002 son cifras preliminares; Fuente INEGI, 2002.

La problemática anterior ha sido resuelta parcialmente por los agricultores con capacidad económica a través de la compra de fertilizantes de importación de productoras transnacionales en operación en México. Esta observación se infiere, ya que los cultivos agrícolas no han disminuido a pesar del cierre de las plantas productoras de fertilizantes y el país sigue consumiendo la misma cantidad promedio de los mismos (Tabla 2).

Tabla 2. Consumo nacional aparente de fertilizantes (10^3 Mg³).

Productos	1980	1985	1990	1995	2000
Urea	643	1 397	946	1 275	1235
Sulfato de amonio	1 069	1595	1 699	1235	1435
Nitrato de amonio	168	170	281	244	111
Amoniaco anhidro	Nd	Nd	Nd	346	225
Fosfato diamonico	295	276	232	361	235
Fosfato monoamonico	Nd	Nd	Nd	38	106
Superfosfato triple	109	382	235	315	85
Superfosfato simple	275	314	235	155	75

Nd=no determinado; Fuente: FERTIMEX, comisión nacional del petróleo gas y petroquímica, fabricantes de fertilizantes, 2002.

En los años 80`s, la cantidad de fertilizantes que se importaban era mínima, esta capacidad disminuyó, pero se incrementó sobre todo en el año 1995, época del “boom” de las importaciones, ya para el año 2000 nuestra producción se hizo dependiente de las importaciones de los mismos o de los insumos externos (Tabla 3).

Tabla 3. Importaciones de fertilizantes en México (10^3 Mg^3).

Fertilizante	1980	1985	1990	1995	2000
Urea	241	38	95	9	1 242
Sulfato de amonio	0	0	0	18	17
Nitrato de amonio	5	60	1	2	47
Fosfato diamonico	209	186	0	35	86
Fosfato monoamonico	0	0	0	63	300
Superfosfatos	0	148	1	6	2

Fuente: Secretaría de economía, 2002.

Adicionalmente, la quiebra de las plantas productoras de fertilizantes en el país se ha incrementado de una manera rápida, sumado a que en el período 1995-2000 los precios de los fertilizantes aumentaron en promedio un 50 % (Tabla 4).

Tabla 4. Precio de fertilizante al agricultor ($\$ \text{Mg}^{-1}$).

Productos	1980	1985	1990	1995	2000
Nitrogenados					
Amoniaco anhidro	3.00	23.35	380.25	1489.00	3458.00
Nitrato de amonio	2.64	24.45	391.70	1188.00	1946.00
Sulfato de amonio	1.53	12.85	250.00	742.00	1258.00
Urea	3.31	32.30	461.00	1343.00	2049.00
Fosfatados					
Superfosfato simple	1.46	12.50	254.00	750.00	1426.00
Superfosfato triple	3.89	37.60	553.75	1490.00	2367.00
Fosfato diamónico	4.91	55.00	689.27	1744.00	2865.00

Fuente: FERTIMEX, delegaciones estatales de SAGAR, 2002.

VI. 3. Nutrición mineral de las plantas

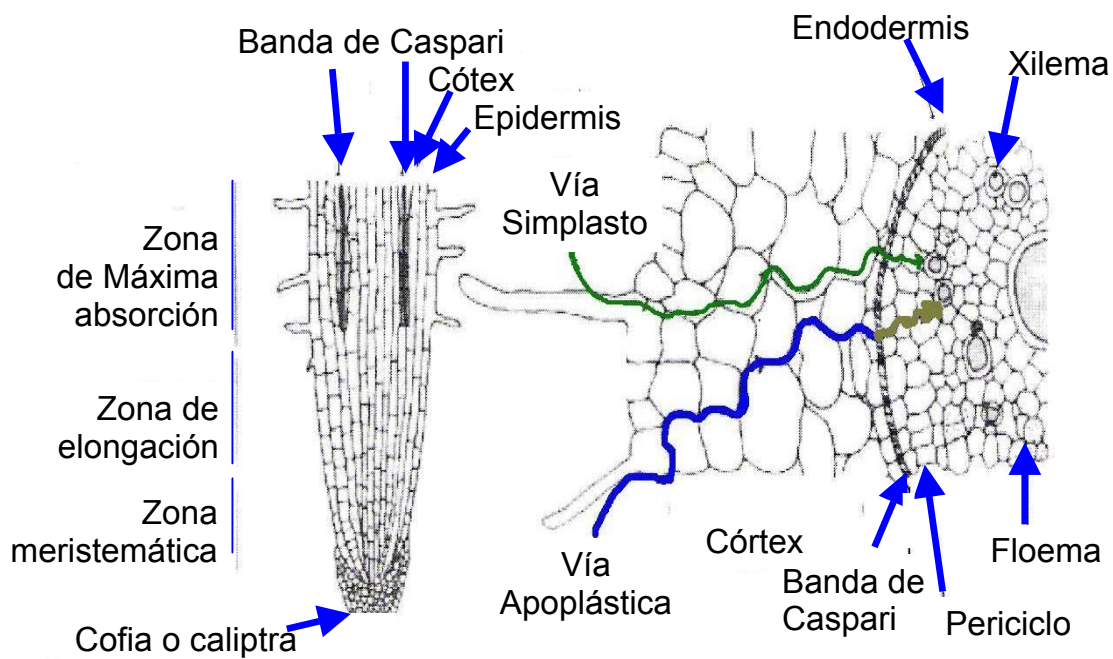
Tres de los principales elementos que componen a la planta (C, H y O), son tomados principalmente del agua y aire; pero esto no es suficiente para que la planta se pueda desarrollar completamente, lo cual es complementado con otros elementos que en la planta no llegan a formar mas del 3-10 % del peso seco total. Además de los mencionados la planta necesita N, P, S, Ca, K, Mg, Fe, Zn, Mn, Cl, Cu, B, Ni, y Mo, que son tomados de la solución del suelo (Tabla 5) (Samperio, 1997; Ray, 1975).

Tabla 5. Concentración usual de macro y microelementos en plantas superiores.

Macroelementos	Por 100 g de materia seca (g)	Microelementos	ppm por 100 g de materia seca
Carbono	45.00	Cloro	100.00
Oxígeno	45.00	Hierro	100.00
Hidrógeno	6.00	Manganeso	50.00
Nitrógeno	1.50	Boro	20.00
Potasio	1.00	Zinc	20.00
Calcio	0.50	Sodio	10.00
Fósforo	0.20	Cobre	6.00
Magnesio	0.20	Níquel	3.00
Azufre	0.10	Molibdeno	0.10
Silicio	0.10		

Nota: los datos aquí mostrados pueden variar según la especie de planta; Altieri, 1999.

Los elementos químicos se encuentran en el suelo en forma de sales, para que la planta pueda asimilarlos estos tienen que estar en forma soluble, debido a que las membranas celulares son semipermeables. La raíz cuenta con zonas de absorción de nutrimentos y agua, y esta se puede llevar a cabo por dos vías; la vía simplasto y la vía apoplasto (Ray, 1975). En la primera vía, los iones son incorporados a través de los pelos radicales u otras células de la epidermis y transportados célula a célula, la cual se lleva principalmente por los plasmodesmos (microtubos de 20 a 60 nm de diámetro), hasta llegar al xilema; en la segunda vía se considera un transporte extracelular de los iones hasta la endodermis, donde la existencia de una banda impermeable en el apoplasto, banda de Caspari, obliga el paso a través del plasmalema, una vez en el periciclo, los iones pueden seguir hasta los vasos conductores del xilema (Fig. 1) (Estevez *et al.*, 2001; Salisbury & Ross, 1992).



Fuente: Estevez et al., 2001.

Fig. 1. Vías apoplasto y simplasto de la nutrición en la plantas.

La existencia de micorrizas confiere a estas plantas ciertas ventajas, ya que la micorriza puede tener la función de extensión radicular para la planta, así como las endomicorrizas pueden funcionar como canales mas directos de comunicación del exterior con el interior de la planta, ya que estos hongos presentan mas afinidad con los iones que se deben absorber (Hernández *et al.*, 2001). Las plantas inoculadas con micorrizas presentan un micelio externo que se extiende a mayor distancia que los pelos radicales y se estima que 1 cm de raíz colonizada contiene entre 80-3000 cm de micelio extraradical. Estas plantas micorrizadas transfieren al hongo entre 6-12 % del C fijado en comparación con las no colonizadas. Esto representa un notable aumento del C disponible para la actividad microbiana del suelo (Hernández *et al.*, 2001).

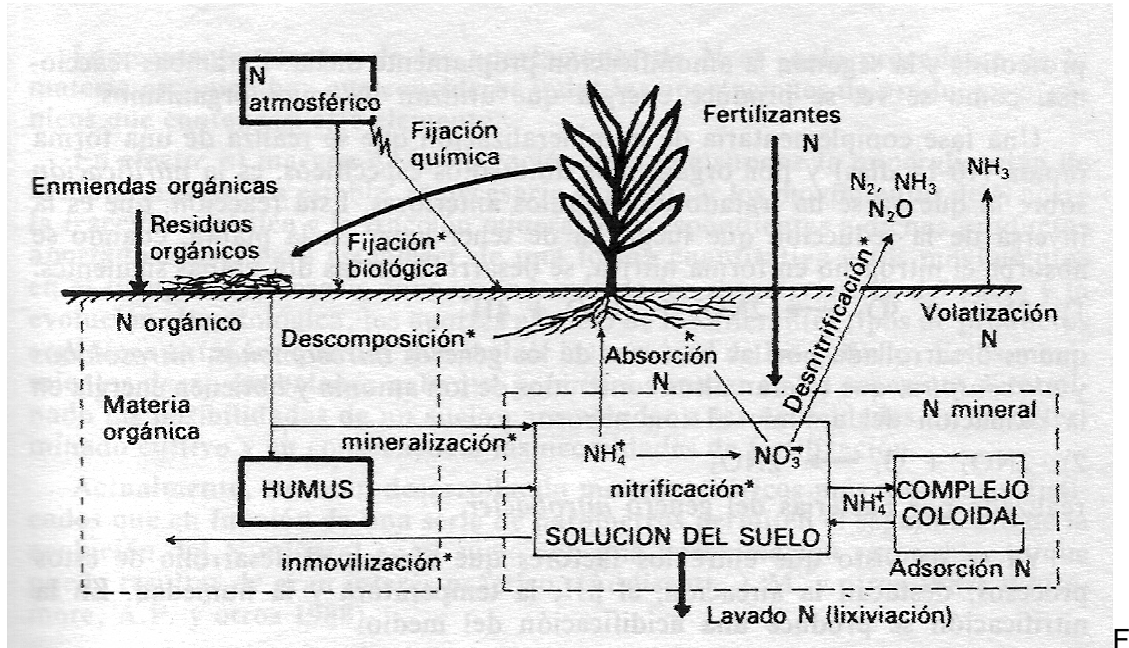
VI. 3.1. Nitrógeno (N)

No obstante que el N es el elemento más abundante en la naturaleza (78 % de la atmósfera como N_2), solo representa el cuarto en la materia viva. Este es un elemento no metálico del grupo “V-a” de la tabla periódica, siendo un gas incoloro, inodoro e insípido. El N incrementa la absorción de otros minerales, esto debido a que el N se convierte en bloques estructurales de crecimiento de la planta denominados aminoácidos, los cuales producen protoplasma en las plantas que promueve células mas fuertes, las cuales al desarrollarse por ejemplo en el sistema radicular tienden a explorar mas superficie del suelo teniendo un acceso mayor a otros nutrimentos para la planta (Salisbury & Ross, 1992).

VI. 3.1.1. Ciclo del N

Las plantas no poseen maquinaria enzimática para reducir enlaces triples como en el N_2 atmosférico. Solo pueden absorber el N en forma mineral, NO_3^- o NH_4^+ , del suelo. Estas formas de N asimilable para las plantas pueden provenir de diversas fuentes como la lluvia, que puede contener pequeñas cantidades de iones NO_3^- (procedentes de la oxidación del N_2 por O_2 u ozono, ayudado por rayos ultravioleta o relámpagos) y NH_4^+ (procedentes de la combustión industrial, incendios y/o actividad volcánica). La materia orgánica en descomposición en el suelo posee N no disponible para las plantas, pero los procesos de descomposición bacteriana de amonificación (NH_4^+) y nitrificación (NO_3^-) pueden transformarlo a formas asimilables. A su vez por el proceso de desnitrificación, este N orgánico de la materia en descomposición también se

puede liberar a la atmósfera en forma de N_2 . Aunque el proceso de fijación biológica de N_2 es el responsable del 90 % del N obtenido de la atmósfera para los seres vivos, siendo este el principal punto de regulación del ciclo del N (Fig. 2) (Salisbury & Ross, 1992).



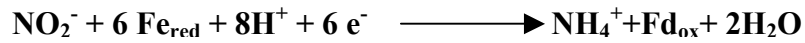
Fuente: Domínguez, 1979.

Fig. 2. Esquema simplificado del sistema dinámico N en suelo-planta.

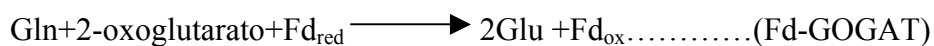
VI. 3.1.2. Asimilación de N por las plantas

El N es absorbido por las plantas a través de dos formas como iones nitrato (NO_3^-) y como iones amonio (NH_4^+), siendo el ión NO_3^- la forma más comúnmente absorbida por las raíces de las plantas. El proceso mediante el cual el NO_3^- es absorbido se describe a continuación: La absorción por la raíz es un proceso de transporte activo y tiene un costo energético. Las plantas pueden reducir el NO_3^- absorbido por la raíz y convertirlo en NH_4^+ mediante la combinación de la nitrato reductasa (NR) y la nitrito reductasa (NiR).

La NR reduce el NO_3^- a nitrito (NO_2^-) y la NiR reduce el NO_2^- a NH_4^+ con la siguiente estequiometría:



La NR es un homodímero cuyos monómeros contienen: un grupo FAD, un grupo hemo y un complejo de Mo. El NO_2^- es altamente tóxico y debe ser rápidamente reducido por la NiR con electrones donados por la ferredoxina (Fe_{red}). En tejidos fotosintéticos, la Fe_{red} proviene del transporte electrónico fotosintético mientras que en tejidos no fotosintéticos proviene de la vía oxidativa de las pentosas fosfato (UAM, 2004; Salisbury & Ross, 1992). En cuanto al proceso de asimilación del NH_4^+ , este proceso ocurre como se describe a continuación: El N sea cual fuese su forma original es reducido antes o después en NH_4^+ . El NH_4^+ obtenido por la fijación de N_2 , reducción de NO_3^- , fotorespiración o catabolismo de las proteínas es altamente tóxico y debe ser incorporado en forma de aminoácidos, la metabolización del amonio se lleva a cabo fundamentalmente por dos enzimas, la Glutamina sintasa (GS) y la Glutamato sintasa (GOGAT-Glutamina:2-Oxoglutarato amino transferasa).



Fi

nalmente, las reacciones de transaminación incorporan el N en el metabolismo vegetal. Las transaminasas transfieren los grupos amino del glutamato a otros

azúcares para llevar a cabo la síntesis de los aminoácidos aminados. El transporte del N a otros órganos se realiza principalmente en forma de glutamina y asparagina (UAM, 2004; Salisbury & Ross, 1992).

La deficiencia de N en plantas se manifiesta con un color de las hojas verde claro, o en algunos casos presentan clorosis, esto sobre todo en hojas maduras, ya que en hojas jóvenes esta deficiencia es menos sintomática. En plantas como maíz, los tallos exhiben una coloración purpúrea debido a la acumulación de antocianinas generando una relación vástago-raíz baja, ya que predomina el crecimiento radicular sobre el foliar, el crecimiento es raquítico y de llegar a la producción esta sería mínima.

VI. 3.1.3. Transformaciones y pérdidas de N en el sistema suelo-planta

En la naturaleza ocurren diferentes procesos de transformación de la materia. Desde el punto de vista ambiental, la implementación inadecuada de los programas de fertilización N se traducen en un impacto ambiental negativo a nivel suelo, agua y atmósfera. En el caso del N existen diversos procesos que hacen que los compuestos N se ubiquen en tiempo y espacio fuera del sistema suelo y estos no son aprovechados por las plantas. A través del proceso denominado mineralización, los compuestos orgánicos en el suelo son transformados para liberar el ión NH_4^+ , y C como CO_2 , el tiempo y la velocidad del proceso son afectados por muchos factores, incluyendo la composición del sustrato, la temperatura del suelo, el contenido de humedad y el pH. Una vez que estos compuestos se encuentran en la solución del suelo o adsorbidos a

las arcillas, estos iones se encuentran sometidos a pérdidas fuera del sistema suelo-planta, algunos de los procesos más importantes son (Acevedo, 2000):

1). La volatilización de amoníaco, generalmente esta pérdida se presenta en aplicaciones de urea o fertilizantes a base de urea, así como también aquellos fertilizantes que sean amoniacales en suelos con pH's elevados. Cuando la urea se hidroliza en el suelo se incrementa el pH, desplazando el equilibrio de NH_4^+ a NH_3^+ el cual se pierde como gas. Además del pH, otros factores que predisponen este tipo de pérdidas son la temperatura ($>18\text{ }^\circ\text{C}$), dosis de N, y velocidad del viento.

2). La lixiviación de nitratos, estas pérdidas se presentan por el lavado de NO_3^- por agua de percolación del suelo por niveles más bajos de la zona de aprovechamiento por las plantas. Esto se presenta cuando existen lluvias o riegos excesivos. Este tipo de pérdidas es más dañino en suelos arenosos, ya que estos facilitan el transporte de las moléculas al fondo del sistema.

3). La amonificación, proceso mediante el cual las macromoléculas que forman los tejidos y órganos de las plantas y animales son reducidos a aminoácidos por la acción de diversas enzimas proteolíticas, como peptonas y polipéptidos. Además de algunas bacterias cabe destacar que participan hongos, de los que resaltamos *Trichoderma koningi*, *Cephalotecium roseum* y *Aspergillus* spp. Este proceso no termina ya que los aminoácidos resultantes que no son adsorbidos por las arcillas o metabolizados, siguen teniendo transformaciones de reducción hasta llevarlos a compuestos más simples para el caso de N, formarían (amonificación), el cual es más fácilmente absorbido por las plantas. En su defecto seguir hasta transformarse en NO_3^- (nitrificación).

4). La nitrificación, proceso mediante el cual el NH_4^+ resultante de la mineralización del N orgánico y/o mineral aplicado al suelo en forma de fertilizante es oxidado en el suelo a formas NO_2^- y después a NO_3^- .

5). La desnitrificación, este proceso es de relevancia en condiciones de excesos hídricos prolongados en el suelo que generan anaerobiosis, lo cual promueve la reducción de los NO_3^- a NO_x^- ; y en casos extremos a N_2 . Esto se presenta sobre todo en suelos arcillosos donde la capacidad de campo es superior al 60 %.

VI. 3.2. Fósforo (P)

El P fue descubierto en 1669 por el alquimista Henning Brand de Hamburgo, el primer hombre conocido que descubre un elemento. Se le llamó P de Brand, para distinguirlos de otros materiales luminosos denominados también fósforo (Gauch, 1973). El P es un elemento no-metálico que pertenece a la familia del N (grupo "V-a" de la tabla periódica). Es un elemento esencial para las plantas y los animales, siendo el 12^{vo} en la capa terrestre.

VI. 3.2.1. Ciclo del P

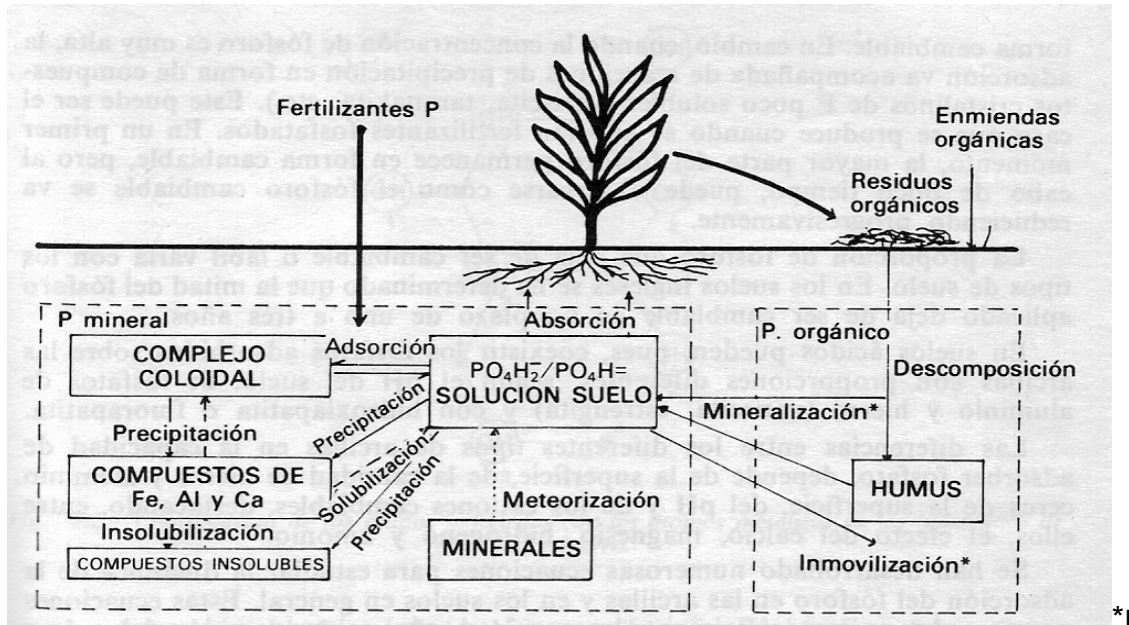
El P después del N es el elemento más limitante en los suelos. El contenido medio total de P de la litosfera es del 0.28 % expresado como P_2O_5 , pero muchos de los suelos superficiales contienen de 0.022 a 0.083 % de P. Este elemento no se encuentra libre en la naturaleza sino como rocas, minerales, plantas y animales. De todos los ciclos de los elementos, el ciclo del P es el que parece ser mas limitado, ya que este se encuentra en pequeñas

cantidades en la naturaleza. Se han encontrado depósitos naturales de los cuales se extrae de manera artificial para producir fertilizantes (Raven and Curtis, 1975).

El P es tomado del suelo por las plantas, el cual fue previamente transformado por bacterias a formas más asimilables; después se transforma al ser absorbido por las plantas o por los animales, y nuevamente por la descomposición final de su cuerpo, y sus excretas y la degradación de la materia orgánica, el P vuelve al suelo para ser nuevamente aprovechado. Una parte del P es arrastrado hacia el mar por los cauces de los ríos donde se forman sedimentos con altos contenidos del P, ahí es transformado por el plancton y reincorporado a las cadenas alimenticias, ya que de ahí son consumidos por los peces, los cuales son consumidos por aves; sus heces son ricas en P y estas son depositadas en islas y tierra firme, reincorporándolo al ciclo. (Fig. 3) (Dekker 1999; Raven and Curtis 1975).

El P que se encuentra en el suelo se agrupa principalmente en dos formas: 1). P orgánico y 2). P inorgánico. Como P orgánico se presenta en forma de fosfolípidos, ácidos nucleicos y fosfatos de inositol, como P de fosfolípidos nunca excede de 3 mg kg^{-1} , aunque en algunas excepciones se han encontrado valores de 34 mg kg^{-1} . El P de ácidos nucleicos puede alcanzar del 17 al 58 %. El P orgánico expresado en porcentaje del P total puede variar de 2.6 a 75 %. El P inorgánico se encuentra de diversas formas, las cuales son influenciadas por el pH. El ión H_2PO_4^- es favorecido por debajo del pH 7 y el ión divalente HPO_4^{2-} por encima del pH 7. Si el pH es muy alcalino, el P presente se encuentra como PO_4^{3-} , el cual no es asimilable por las plantas. Por el contrario, cuando los suelos son muy ácidos precipitan el P como fosfatos de

Fe y Al (por ejemplos, la estreñita $\text{Fe}(\text{OH})_2\text{H}_2\text{PO}_4$ y la variscita $\text{Al}(\text{OH})_2\text{H}_2\text{PO}_4$). En suelos alcalinos y calcáreos, el P se encuentra presente como apatita $\text{Fe}_2\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3$, hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Una pequeña fracción esta presente en la solución del suelo y se encuentra en equilibrio con el P adsorbido por los coloides (Domínguez, 1979; Gauch, 1973).



ndican los procesos biológicos; Fuente: Domínguez, 1979.

Fig. 3. Esquema simplificado del sistema dinámico P en suelo-planta.

VI. 3.2.2. Asimilación de P por las plantas

Las plantas absorben el P casi exclusivamente como iones PO_4^- inorgánico de la forma monovalente H_2PO_4^- , ya que este es más fácilmente absorbido que el ión HPO_4^{2-} . El P es absorbido, principalmente, por las raíces de las plantas en forma de ión ortofosfato, presente en concentraciones muy bajas (10^{-4} - 10^{-5} M) en la solución del suelo. En el interior de las células de la raíz y la savia del xilema, las concentraciones de P son de 100 a 1000 veces mayores que en la solución del suelo que rodea a la raíz, esto evidencia la actividad metabólica y la absorción de fosfatos es otra prueba de esa nutrición activa. Muchas formas

de P son transformadas a formas orgánicas una vez que están dentro de la raíz y después son transportadas por el xilema hacia el tallo y hojas (Salisbury & Ross, 1992).

VI. 3.2.3. Función del P en la planta

Los iones PO_4^- son capaces de recibir energía luminosa captada por la clorofila y transportarla a través de la planta en forma de adenosin difosfato (ADP) y adenosin trifosfato (ATP). Se sabe que el P está relacionado con un factor de crecimiento, ya que influye fuertemente en el desarrollo radicular. El P favorece la nodulación y la actividad de bacterias fijadoras de N_2 . Forma parte de los ácidos nucleicos, de los fosfolípidos de las coenzimas NAD y NADP y lo que es más fundamental forma parte del ATP. Además, la presencia del elemento es indispensable para la fecundación de las flores, aumenta el desarrollo del sistema radicular y aumenta la resistencia vegetal a las enfermedades; y regula los efectos derivados de la presencia de un exceso de N (Hernández *et al.*, 2001).

VI. 4. Interacción cultivo-microorganismo

El desarrollo de los cultivos en el campo está mediado por una serie interacciones entre factores tanto bióticos como abióticos (planta-ambiente-microorganismo). Las propiedades físico-químico-biológicas del suelo afectan directamente la sanidad y desarrollo de los cultivos *i.e.*, aireación, pH, contenido nutrimental, drenaje; capacidad de intercambio cationico etc.; así como la microflora y microfauna del mismo. En relación a este último punto se establecen competencias por fuentes de alimento, nichos, y dinámicas

depredador-presa (sin que ninguna predomine) para que ayuden a limitar las poblaciones de hongos, bacterias, nemátodos y parásitos que puedan estar causando enfermedades en las plantas (Altieri, 1999).

En ecosistemas naturales, las poblaciones microbianas tienden a disminuir al introducir sistemas de producción agrícola como lo demuestran algunos estudios en EE.UU, que indican que después de 58 años, el carbono (C) microbiano representó un 2.8 a 2.2 % del C total del suelo bajo cultivos anuales de trigo-barbecho, comparado con un 4.3 % bajo pastos (Collins et al., 1992). Similar información fue generada en un estudio realizado en Perú, que demostró que la diversidad biológica de la macroflora de los suelos cultivados intensivamente o suelos de bosques secundarios se perdió en aproximadamente un 35 a 50 % de unidades taxonómicas comparados con suelos de bosques primarios (Altieri, 1999).

Estos datos indican la importancia del manejo del suelo sobre la biota del mismo, en este sentido se pueden establecer tres tipos de interacciones que influyen directamente con diferente magnitud en la nutrición vegetal sobre todo en elementos como N y P, que son limitantes de la producción agrícola: 1). variedad y/o cultivo-fuente de nutrimento; 2). microorganismo-cultivo; y 3). microorganismo-cultivo-nutrimento, enmarcados en un sistema complejo suelo.

Al respecto de la interacción variedad y/o cultivo-fuente de nutrimento, se han realizados estudios en el cultivo de chile evaluando dos niveles de fertilización: uno deficiente y una limitada de P, cuantificando la eficiencia en términos de rendimiento, peso seco raíz y el tiempo en que el P es absorbido; se encontró que los genotipos de las plantas tienen influencia en la absorción

de este elemento, ya que dependerá de la variedad la capacidad para localizar y absorber el P (Barriaga *et al.*, 1998).

En relación a la fuente fertilizante, (Mayerling y Ramírez, 2000) demostraron que este factor influye en la absorción del P, para ello probaron el efecto de dos fuentes de P (roca fosfórica y superfosfato) en siete líneas de maíz, y evaluaron las modificaciones (longitud, volumen, diámetro y superficie) a nivel radicular y la cantidad de P absorbida por la planta. Los materiales evaluados presentaron diferencias estadísticas significativas para absorber P en ambas fuentes de fertilizantes, las cuales estaban directamente relacionadas con las características del crecimiento radicular. También se han realizado estudios de interacción planta-planta-fertilizante por ejemplo lupino-maíz-superfosfato en la que se observó un mayor crecimiento al asociar estas plantas, ya que se incrementó la disponibilidad del P; debido a la capacidad del lupino para tomar el P que requiere del suelo y dejar una fracción de P disponible que puede ser asimilada por una asociación de cultivos.

Con respecto a la interacción planta-microorganismo, se han realizado numerosos trabajos (principalmente con bacterias) debido a la manejabilidad de las bacterias en términos de rápido crecimiento. Cabe mencionar que en plantas inoculadas con bacterias se tiene que evaluar la capacidad de estas para asociarse y desarrollarse en la rizósfera (Villacieros *et al.*, 2003). A continuación se ilustran algunos ejemplos de la influencia que tienen las bacterias sobre la inducción a sistemas de resistencia a enfermedades en plantas. En algunos de los trabajos mencionados por (Zavaleta, 2000), se hace referencia a la utilización de bacterias para la reducción de enfermedades, como el caso de la aplicación de *Bacillus subtilis* para la reducción de *Fusarium*

oxysporum en plantas de sandía; también la reducción de *Rhizoctonia solani* en papa; por otra parte, también se ha demostrado por ejemplo con el filtrado donde creció *Helminthosporium tritici-repentis* se redujo el desarrollo final de la roya en 40 % y se obtuvo un incremento en la producción de grano de cebada de 1 Mg ha⁻¹.

En ese mismo tipo de interacción con el uso de hongos, los estudios son mas recientes. Cabe mencionar que el inocular un agente de control biológico se modifica la estructura de las comunidades del suelo y la rizósfera (Kozdrój *et al.*, 2004). Algunos trabajos por ejemplo con el hongo micorrícico *Glomus* sp. en ajo, han demostrado que se logra retardar el inicio de la pudrición blanca (inducida por *Sclerotium cepivorum*) obteniendo una reducción significativa de la enfermedad, asimismo, la producción del bulbo se pudo incrementar hasta un 22 % (Zavaleta, 2000). Dentro de estas interacciones se han venido explorando en múltiples trabajos, las cualidades del hongo *Trichoderma* spp. como agente de control biológico para algunas enfermedades y su efecto en la mejora del aprovechamiento de los fertilizantes.

VI. 5. *Trichoderma*

VI. 5.1. Taxonomía y ciclo de vida

La etapa sexual cuando está presente se encuentra bajo los hongos Ascomycetes en el género *Hipocrea*. La taxonomía tradicional está basada en diferencias morfológicas, principalmente en el aparato de esporulación asexual, en la actualidad, se están empleando técnicas moleculares para la identificación y clasificación de los organismos. Consecuentemente, el taxa se ha agrupado de 9 a 33 especies (Esposito y Dasilva, 1998).

La mayoría de las cepas de *Trichoderma* no poseen etapa sexual por los que se reproducen solo por esporas asexuales; el organismo crece y se ramifica desarrollando hifas típicas. La esporulación asexual ocurre en conidias unicelulares, usualmente de color verde liberados en grandes cantidades. También pueden formarse clamidiosporas de resistencia; son unicelulares pero pueden fusionarse entre dos o más (Howell, 2003).

VI. 5.2. Importancia del género *Trichoderma*

Desde el reconocimiento de su potencial como agente de control biológico de enfermedades en 1930 (Howell, 2003), gran cantidad de trabajos se ha ido agregando a la lista de enfermedades controladas por el hongo *Trihoderma* (Rudresh *et al.*, 2005; Estevez *et al.*, 2001; Mar *et al.*, 2000; Camprubí y Estaun ., 1995; Baker, 1989; De Oliveira *et al.*, 1984; Sivan *et al.*, 1983), en la tabla 6 pueden observarse algunas de las enfermedades que controla *Trichoderma*.

Tabla 6. Enfermedades y agentes causales controlados por *Trichoderma* spp.

Hongos controlados por <i>Trichoderma</i>	Enfermedad	Cultivo
<i>Armillaria</i> spp	Pudrición de raíces	Frutales
<i>Botrytis cinerea</i>	Moho gris	Amplio rango de cultivos: papa, fresa, frijol, mora, flores y causa pudriciones post cosecha
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Antracnosis	Amplio rango de cultivos: arveja, papa, tomate fresa y causa pudriciones post cosecha
<i>Cylindrocladium scoparium</i>	Volcamiento	Pino
<i>Fusarium oxysporum</i>	Marchitamientos vasculares	Banana, arveja, maíz, clavel, Tomate de arbol entre otros.
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Carbón de las raíces	Maíz, frijol, melón, ajonjolí.
<i>Phytophthora infestans</i>	Gota	Papa, pepino de agua.
<i>Phytophthora</i> spp.	Pudrición.	Tabaco, flores, frutales, etc.
<i>Pythium</i> spp.	Pudrición algodonosa volcamiento.	Amplio rango de cultivos
<i>Rhizoctonia solani</i>	Pudrición algodonosa volcamiento.	Zanahoria, tomate, lechuga, repollo, café, papa, cebolla etc.
<i>Sclerotinia sclerotium</i>	Pudrición algodonosa volcamiento.	Habichuela, lechuga, repollo, café, ajo, pimienton, arveja, etc.
<i>Rosellinia necatrix</i>	Pudrición blanda de raíces	Aguacate, manzano.

*Fuente: Adaptado de Herrera-Estrella y Carsolio, 1998; Chet and Inbar, 1994.

El uso de este hongo, además de que permite ahorros económicos por la menor cantidad y frecuencia en la aplicación de fungicidas, se tiene un beneficio ecológico, ya que se reduce también la contaminación, al disminuir la aplicación de fungicidas a los cultivos. En trabajos más recientes se ha optado por explorar otras propiedades que pueden brindar este tipo de hongos, ya que muchas veces el controlar solamente la enfermedad no es muy rentable para los productores, por ello se empezó a investigar su capacidad para promover el crecimiento en las plantas esto debido a un mejor aprovechamiento de los fertilizantes (Bae y Guy , 2005; Rudresh *et al.*, 2005; Zayed and Abdel, 2005; Windham *et al.*, 1986; Harman, 2000; Celar, 2003; Yedidia *et al.*, 2001; Mar *et*

al., 2000; Camprubí y Estaun, 1995; Kleifeld and Chet, 1992; Baker, 1989; Chang *et al.*, 1986).

VI. 5.3. *Trichoderma* como promotor del crecimiento

Chang *et al.* (1985), probaron el potencial de *Trichoderma harzianum* para inducir el crecimiento de varios cultivos hortícolas y florales, observaron que los pepinos tratados con este hongo germinaron dos días antes que los no tratados. En plantas de crisantemo encontraron que las plantas tratadas tenían mayor número de botones que las no tratadas. Además encontraron que los datos son consistentes para inoculaciones de 10^5 unidades formadoras de colonias (UFC) g^{-1} suelo, aplicados en una suspensión conidial o en una mezcla pet most y grano. Además observaron una diferencia significativa en algunos ensayos utilizando semillas de tomate, pepino y calabaza.

En un trabajo realizado por (Windham, 1986), quién inoculó semillas de tomate y tabaco con cepas de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningii*, buscando diferenciar si la promoción del crecimiento se debía a un efecto directo de las cepas o a un efecto indirecto al eliminar patógenos para las plantas. Encontraron que la emergencia en plantas inoculadas de tomate y tabaco había aumentado. Además después de 8 semanas, las plantas habían incrementado su peso de 213–275 y 259–318 % más con respecto al testigo. Además de esto no se encontraron diferencias cualitativas y cuantitativas en las poblaciones de los suelos tratados y los controles. La información anterior indica que las diferencias observadas se deben a un factor de regulación de crecimiento que incrementa la germinación así como el peso de tallos y hojas.

Al respecto, (Baker, 1989), mencionan que existen diferentes mecanismos a través de los cuales se genera la promoción del crecimiento en las plantas: 1). Modificación o alteración de la microflora de la raíz; 2). Producción de sustancias estimuladoras del crecimiento (hormonas o factores de crecimiento); 3). Producción de vitaminas, 4). Estimulación para tomar nutrimentos y 5). Disminución de sustancias inhibitorias del crecimiento de las plantas. Asimismo, mencionan dos razones principales: 1). La disminución de microorganismos de los llamados patógenos menores que son parásitos menores, los cuales consumen agua o nutrimentos dejando a la planta sin disponibilidad de estos, y 2). producción de algún tipo de toxina. Con la aplicación de *Trichoderma* estos parásitos menores son disminuidos y en el mejor de los casos eliminados.

(Kleifeld and Chet, 1992), evaluaron tres formas de inoculación de *Trichoderma harzianum*, como suspensión conidial, pregerminado en un sustrato, y como recubrimiento de la semilla; en términos del crecimiento de plantas de rábano, pepino, fríjol, tomate y calabacita. En cuanto a colonización rizosférica, determinaron que se asoció mejor a rábano llegando a un 90 %. El pepino fue el que menor colonización presentó llegando solo al 35 % de colonización de raíz; en el segundo mejor de los tratamientos *Trichoderma harzianum* logró un incremento del 26 % con el tratamiento de conidias y un 43 % con el tratamiento pregerminado en sustrato. Así, ellos determinaron que el incremento del crecimiento de las plantas depende de la capacidad del hongo a la sobrevivencia y desarrollo en la rizósfera.

Lo anterior también ha sido demostrado en otros estudios con el uso por ejemplo de micorrizas y *Trichoderma*. (Camprubí and Estuan, 1995), probaron

el aumento de crecimiento de mandarina (*Citrus reshni*) inoculado con cepas de *Glomus intraradices* y *Trichoderma aureoviride*, los resultados demostraron que la asociación con este tipo de hongos afecta la colonización rizosférica, además de las poblaciones microbianas del suelo, así como las actividades esterasa, trealasa, fosfatasa y quitinasa. Por otra parte, los datos de la evaluación de los inóculos en tres sustratos mostraron que cuando la inoculación se realiza solo con *T. aureoviride* no se presentó un efecto sobre el crecimiento de *C. reshni*; aunque cuando se realizó una co-inoculación con *T. aureoviride* y *G. intraradices*, se observó un incremento significativo del crecimiento en dos sustratos sobre todo aquellos que contienen mucha materia orgánica, asimismo, se observó que la inoculación con *T. aureoviride* no afectó la colonización micorrícica de la raíz.

Mar *et al.*, (2000), probaron la interacción de diversos microorganismos con la idea de incrementar el crecimiento de las plantas de maíz. Se evaluaron micorrizas arbusculares (AM), como fitoestimulador se utilizó *Azospirillum* y como agentes de control biológico se utilizaron a *Pseudomonas* y *Trichoderma*. En este estudio se encontró que la colonización con micorrizas eliminó el posible efecto positivo causado por *Trichoderma* en el crecimiento de las plantas. También se observó un incremento en la actividad esterasa y quitinasa cuando se co-inoculó *Trichoderma* con *G. mosseae*., aunque la actividad trealasa disminuyó cuando se co-inoculó *Trichoderma* y *G. deserticola*.

Estevez *et al.* (2002), determinaron que los agentes de biocontrol *Bacillus subtilis* GBO3 y *T. harzianum* (T-22) indujeron la reducción de la severidad de la pudrición de raíz de frijol producida por el hongo *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, en asociación con *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*. Además

observaron que la aplicación en la semilla de *Bacillus subtilis* GBO3 y T-22 incrementaron significativamente la biomasa de las plantas, así como el decremento de la severidad de la enfermedad bajo condiciones de invernadero.

Asimismo, se han realizado estudios enfocados al papel de los microorganismos en la absorción nutrimental. (Wu *et al.*, 2005), observaron que la absorción de N por hongos saprofiticos como *Trichoderma* y *Penicillium*, de la materia orgánica (MO) en descomposición sobre todo de los complejos proteína-taninos, y glucosaminas estuvo mediada por los mismos, así para que las ectomicorrizas hicieran uso del N que contiene la MO deben esperar a que los micro-hongos tomen este nutrimento y lo transformen a una forma disponible para los hongos micorrícicos, llevándose a cabo una combinación de interacciones entre hongo-materia orgánica y hongo-micorriza. Los autores sugieren que la velocidad de difusión del amonio es suficientemente alta (cuando no hay limitantes de agua) para que sea tomada por el hongo ectomicorrícico.

Los anteriores resultados demuestran la función de los consorcios microbianos sobre la nutrición vegetal. En este sentido, (Rudresh *et al.*, 2005), evaluaron un consorcio de microorganismos inoculados en plantas de garbanzo para aumentar el aprovechamiento de nutrimentos principalmente N y P. Este consorcio incluía una cepa bacteriana fijadora de nitrógeno (*Rhizobium*), una cepa bacteriana solubilizadora de fósforo y un hongo para control biológico (*Trichoderma*). Con la mezcla de estos tres organismos se logró incrementar la germinación, la absorción de nutrimentos, la altura de las plantas, el número de ramas, la nodulación, la producción de grano y la masa total de la planta. Además, encontraron que la inoculación de estos microorganismos no inhibió

significativamente la población presente. Estos resultados indican efectos acumulativos que tuvieron los diferentes inóculos aplicados al sistema. También se observó que las plantas tuvieron un mayor suplemento de N y P en la cosecha, asimismo, la producción de sustancias promotoras de crecimiento se incrementó. Estos resultados demostraron que si hay funcionalidad de la co-inoculación ya que se observó una mayor eficiencia en la fijación de nitrógeno en las plantas inoculadas con *Rhizobium*, se encontró mayor cantidad de P en plantas que fueron inoculados con bacterias solubilizadoras de P y hubo una supresión efectiva de las enfermedades promovida por el hongo *Trichoderma* spp.

(Elmholt and Labouriau, 2005) quienes analizaron y compararon la biodiversidad de diversos campos donde se practicaba una agricultura orgánica y una agricultura tecnificada encontrando que esta última contaba con una menor diversidad en cuanto a hongos de los géneros *Trichoderma* spp., *Penicillium* spp., y *Gliocladium roseum*, siendo *Trichoderma* spp mas representativo en el campo tecnificado.

VI. 5.4. *Trichoderma* asociado a la absorción de nutrimentos

Yedidia *et al.* (2001), evaluaron la respuesta del crecimiento en plantas de calabaza tanto en suelo como en condiciones de cultivo hidropónico inoculado con una cepa de *Trichoderma harzianum* (T-213). Se observó un incremento en peso del 80 % vs. el control sin inocular, asimismo, se cuantificó un incremento del 90 y 30 % en la concentración de P y Fe, respectivamente, en plantas las plantas inoculadas. Además, se encontró un aumento significativo a los 5 días después de la inoculación, en las concentraciones de Cu, Fe, Zn, Mg y Na. En el cultivo axénico, se encontró una mayor cantidad de biomasa, además se comprobó el efecto benéfico en el crecimiento de raíz por asociación con el hongo *Trichoderma*.

Harman, (2000), reporta uno de los estudios mas completos que se han realizado con la cepa de *Trichoderma* T-22, mutante generada en laboratorio para aumentar sus cualidades como control biológico, así como su capacidad de asociación rizosférica. De los resultados obtenidos en el cultivo de maíz fertilizado con diferentes dosis de N destaca que después de cuatro semanas no se observaron diferencias significativas en términos de biomasa; aunque al final del ciclo se observaron diferencias significativas en las dosis de 80 y 160 kg N ha⁻¹ vs. la dosis máxima de 240 kg N ha⁻¹ cuando el maíz fue inoculado con la cepa T-22 vs. el control sin inocular.

Singh and Satyawati, (2002), evaluaron como el proceso de composteo enriquecido con inoculantes fúngicos como *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus niger* y *Azotobacter chroococcum* incrementan significativamente las cantidades de N, P y K, en el producto final del composteo en comparación con el tratamiento sin inocular. Posteriormente, se evaluó en el producto final el

efecto del vermicomposteo, lo cual generó características más favorables como una mayor reducción en el contenido de ligninas, por efecto de lignolisis, así como menor cantidad de celulosas por celulolisis.

La capacidad para que un microorganismo lleve a cabo una actividad, como ya fue mencionada, esta determinada en parte por su capacidad competitiva por nutrientes con otros microorganismos, al respecto, (Celar, 2003), estudió esta capacidad entre los hongos de control biológico (*T. longibrachiatum*, *T. harzianum*, *T. viride* y *T. koningii*) contra los agentes patógenos (*Fusarium solanis*, *F. sambusinum* y *F. moniliforme*), así como *Sclerotinia sclerotium* y *Rhizoctonia solanis*. Los resultados de este trabajo demostraron que el patógeno *Fusarium* asimila más rápidamente las fuentes de amonio (NH_4^+) y nitrato (NO_3^-) que el agente de control biológico *Trichoderma* en sus especies estudiadas.

Zayed and Abdel, (2005) estudiaron la capacidad de mineralización de *Aspergillus niger* y *Trichoderma viride* inoculadas en la paja de maíz enriquecidas con roca fosfórica con o sin estiércol de corral, utilizando como indicador plantas de judía en macetas. Se encontró que la máxima cantidad de P soluble (1000 mg kg^{-1}) fue producida en las compostas inoculadas con *A. niger* + *T. viride* con o sin estiércol de corral, además, se observó que las plantas de judía fertilizadas con la composta inoculada con *A. niger* + *T. viride* con estiércol, fueron las plantas que tomaron la mayor cantidad de P (295 mg kg^{-1}).

VI. 5.5. Otros usos de *Trichoderma*

Dentro de los usos del hongo *Trichoderma*, además de los ya mencionados, pueden resaltarse otros como el caso industrial donde este género de hongos es utilizado para la producción de enzimas extracelulares (celulasas) que degradan polisacáridos complejos. En la industria alimenticia se utilizan como complemento del alimento para aves, para ayudarlas a la degradación de las hemicelulosas de la cebada y otros cereales. *Trichoderma* puede ser fuente de genes, ya que las sustancias que estos producen están codificadas por genes, y muchas de estas sirven para el control biológico, así como algunas que presentan transformación de nutrientes para hacerlos disponibles para las plantas (Harman, 2000).

Otra capacidad metabólica importante es la referente a la biorremediación, algunas cepas de *Trichoderma* tienen la capacidad de degradar compuestos organoclorados, clorofenoles y otros insecticidas como DDT, endosulfán, pentacloronitrobenzeno, herbicidas como trifluralin y glifosfato (Esposito and Dasilva, 1998). También posee enzimas tales como celulasas, hemicelulasas y xylanases que ayudan a la degradación inicial del material vegetal y por último enzimas de mayor especialización que simplifican las moléculas complejas de los pesticidas.

VI. 6. Métodos para cuantificar la eficiencia nutrimental

Estudios realizados para medir la eficiencia de asimilación de nutrientes han demostrado que no más del 50 % del elemento aplicado es aprovechado por el cultivo (Harmsen y Moraghan 1988 citados por Hardarson, 1990). Estos mismos autores mencionan dos métodos para determinar la absorción de

nutrimentos derivados del fertilizante (el efecto de la forma y lugar de aplicación, el tiempo y la fuente química utilizada):

1). El método clásico o convencional. Cuantifica el efecto al aumentar la dosis de aplicación de fertilizantes sobre el rendimiento de las cosechas.

2). El método basado en la absorción del nutrimento. El cual tiene las siguientes variantes:

1). Método de la diferencia. Es un método indirecto en el que la absorción de nutrimentos por las plantas de un tratamiento control se sustrae de los tratamientos evaluados. Este método, supone que todas las transformaciones de nutrimentos son iguales, tanto en las parcelas fertilizadas como en las no fertilizadas.

2) Método isotópico. Permite estimar la absorción de nutrimentos de los fertilizantes aplicados. Algunos trabajos de fertilización con el isótopo ^{15}N para fertilizantes nitrogenados y ^{32}P o ^{33}P para fertilizantes fosfatados indican, que estos tienen una alta confiabilidad en los resultados y por ello han sido utilizados en forma extensiva (Zapata, 1990).

VI. 6.1. Técnicas isotópicas de ^{15}N

El muestreo directo para evaluar la absorción nutrimental por la aplicación de fertilizantes, sólo puede realizarse con el uso de técnicas isotópicas, donde estudios con ^{15}N y ^{32}P han sido utilizados en forma extensiva, por su alta confiabilidad en sus resultados (Zapata, 2002).

Para el caso de los fertilizantes N se tiene el isótopo estable ^{15}N , con una abundancia natural que varía de 0.36 a 0.37 % átomos de ^{15}N con promedio de 0.366 % y se detecta mediante espectrometría de masas y espectrometría de emisión (Cabrera y Kissel, 1989; Preston, 1993). El uso del isótopo de ^{15}N como un trazador para determinar la eficiencia de recuperación del N se incrementó rápidamente a partir de la década de los 60's, especialmente en los países desarrollados (Axmman y Zapata, 1990).

La técnica isotópica de ^{15}N mide el consumo de N por una planta que ha recibido el fertilizante marcado con ^{15}N sin discriminar entre los isótopos ^{14}N y ^{15}N ; debe contarse con una distribución uniforme del enriquecimiento de ^{15}N con el ^{14}N existente en el suelo; esto indica que el ^{15}N aplicado al suelo está en el mismo estado químico y en la misma localización que el ^{14}N del suelo y que cualquier proceso de transformación que ocurra (difusión, fijación, volatilización, lixiviación, inmovilización o nitrificación) afectará de la misma manera al ^{15}N aplicado y al ^{14}N nativo del suelo (Murphy *et al.*, 2003).

VI. 6.2. Evaluación de la absorción de fertilizantes

La eficiencia de un fertilizante depende de la dinámica del nutrimento en el sistema de producción, que implica procesos biológicos, físicos, químicos y fisicoquímicos influenciados por las condiciones edafoclimáticas (Etchevers, 1997; Hernández, 1997). Para la evaluación agronómica principalmente existen dos aspectos en la eficiencia que son: 1). La evaluación agronómica y 2). La eficiencia de recuperación.

La eficiencia de recuperación del fertilizante se evalúa como (Alvarez-Sánchez, 1996):

- 1) Efectividad inicial del nutriente en el suelo. Cuando se agrega un fertilizante conteniendo el nutrimento en estudio, en el suelo aumenta la reserva de éste y por consecuencia su disponibilidad.
- 2) Efectividad residual (reacción lenta). Cuando se adiciona al suelo un nutrimento en el fertilizante, que se ioniza al disolverse, se provoca una reacción de adsorción, donde los iones quedan retenidos en la superficie de las partículas sólidas, quedando el nutrimento disponible en función del tiempo.
- 3) Eficiencia de absorción. Definida por la capacidad de absorción del cultivo dado que éste extrae los nutrimentos disponibles en el suelo y está determinado por su morfología y tipo de raíz, además de las características genéticas y fisiológicas de cada especie.
- 4) Eficiencia de aplicación. Comprende la forma de aplicación y colocación del fertilizante en relación al cultivo, que garantice que éste será absorbido por la planta.

La evaluación de fertilizantes en campo está sujeta a la absorción del cultivo, la cual se reduce por la lixiviación, erosión, volatilización, adsorción y fijación en las partículas del suelo (Terman *et al.*, 1962), esto dificulta la determinación de las diferencias entre fertilizantes y la respuesta del cultivo, incrementando el uso de métodos de laboratorio y macetas en invernadero para evaluar nuevos fertilizantes.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se establecieron en un invernadero del Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN), Unidad Irapuato.

VII. 1. Generación de tratamientos y diseño experimental

Los tratamientos se generaron en un diseño factorial AxB: A; cinco aislados de *Trichoderma*: CM7, CM12, CM28, CM35 (alta capacidad de colonización) y CM44 (contraste con baja capacidad de colonización) y B; cuatro dosis de fertilización 50, 100 y 120 % para N y P; y 0 % (control); cada tratamiento fue instalado con 3 repeticiones, bajo un diseño completamente al azar. Además, se incluyeron los testigos absolutos (sin inoculación de *Trichoderma* spp. y sin aplicación de fertilizante N y P).

Para la fertilización N se utilizó sulfato de amonio (21 % N) marcado isotópicamente con 1 % átomos en exceso (a. e.) de ^{15}N y para la fertilización de P, se utilizó superfosfato simple (36 % P).

Los cuatro ensayos se instalaron como experimentos independientes para los cultivos de maíz y ajo: Para el caso de N; **exp. 1: ^{15}N -Maíz/*Trichoderma*** y **exp. 2: ^{15}N -Ajo/*Trichoderma*** y dos más para P; **exp. 3: P-Maíz/*Trichoderma*** y **exp. 4: P-Ajo/*Trichoderma***. Los exp. 1-2 consistieron en la aplicación de N variando su dosis en los porcentajes mencionados para cada cultivo, y permaneciendo constante la dosis de P (100 %), mientras que para el caso de P (exp. 3-4); los experimentos variaron las dosis de P en los porcentajes antes mencionados, permaneciendo constante la dosificación de N (100 %). En total se utilizaron 150 macetas para el experimento de maíz divididas en 75 para el

experimento de N (con fertilización P constante) y 75 para el experimento de P (con fertilización N constante); para el caso del ajo solo varió la capacidad de las macetas (UE).

Para el caso de los experimentos de maíz (exp. 1 y 3) se utilizaron UE con 10 kg de suelo, y para el caso del ajo (exp. 2 y 4) se utilizaron macetas con 5 kg de suelo. Se utilizó suelo tierra lama (franco arenoso) con las características que se muestran en la tabla 7.

Tabla 7. Características del suelo utilizado experimental.

Características del suelo			
Reacción del suelo:			
	pH agua (1:2)		8.2
Extracto de saturación:			
	pH extracto		7.7
	Conductividad Eléctrica (dS/m)		0.6
	Sodio intercambiable (%)		1.1
	Relación de adsorción de sodio		1.1
Fertilidad (mg/kg):			
	N-inorgánico		2.1
	P-Bray		21.4
	K		165
	Ca		3163
	Mg		238
	Na		43.5
	Fe		8.2
	Zn		2.8
	Mn		3.7
	Cu		6.8
	Al		0
Materia orgánica (%)			0.6

Los aislados de *Trichoderma* spp. utilizados en los experimentos fueron obtenidos en el Laboratorio de Ecología Microbiana del CINESTAV-IPN Unidad Irapuato; de diferentes zonas productoras de maíz del estado de Guanajuato. La selección se llevó a cabo teniendo en cuenta algunos parámetros como: colonización, sistema de riego (temporal o tecnificado), semilla utilizada (criolla

o mejorada) entre otros. El aislado C44 se seleccionó como un contraste, ya que es la que contaba con menor porcentaje de colonización (Tabla 8).

Tabla 8. Origen y capacidad de colonización de los aislados de *Trichoderma* spp. utilizados en los experimentos.

Aislado	Colonización (%)	Municipio	Localidad	Regimen de humedad	Tipo de semilla
CM7	100	Pénjamo	Pedregal	Riego	Híbrido
CM12	90	Pénjamo	Sn. Isidro	Temporal	Criollo
CM28	90	Irapuato	Comederito	Temporal	Criollo
CM35	80	Dolores Hidalgo	Cerrito de Gpe.	Riego	Criollo
CM44	30	San Felipe	Quemada 1	Temporal	Criollo

La semilla de maíz utilizada fue proporcionada por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP-Celaya), es una semilla híbrida denominada “H-222” y la semilla de ajo fue proporcionada por productores de la región de “El Bajío” cv “Tacázcuaro”.

Los experimentos 1, 3 y 4 fueron instalados el 23 de Agosto de 2004 y cosechados el 11 de Diciembre del mismo año, mientras que el experimento 2 debido a la baja germinación fue resembrado el 23 de Septiembre del mismo año y fue cosechada hasta el mes de Enero del 2005.

VII. 2. Suspensión conidial de *Trichoderma*

Para la preparación de la suspensión conidial de los aislados de *Trichoderma* spp. a evaluar se utilizó el procedimiento siguiente:

Se sembró una azada de los aislados de *Trichoderma* spp. seleccionados en placas con medio de crecimiento papa dextrosa agar (PDA). Posteriormente, se incubaron a temperatura ambiente (aproximadamente 24

°C) durante 10 días, después de los primeros 5 días, se aseguró que las cajas inoculadas recibieran bien la luz, ya que este es el factor que promueve la formación de conidias.

Cuando el crecimiento de los aislados de *Trichoderma* spp. en las cajas presentaron un color verde se tomó como indicativo de que los aislados habían madurado (conidiación); enseguida se procedió a cosechar las conidias. En la campana de flujo laminar se abrieron las cajas y se lavaron dos veces con 10 mL de agua destilada estéril, se agitaron y se pasó sobre el medio un triángulo de vidrio para forzar el desprendimiento de las conidias, sin desprender el micelio del medio. Esta suspensión se transfirió a un matraz conteniendo 100 mL de agua destilada estéril. Se tomó un volumen de 0.1 mL para determinar la concentración de la suspensión de las conidias en un hematocímetro (Cuadro 1). La suspensión se selló y se llevó a refrigeración a 4 °C, donde permaneció hasta ser utilizada.

VII. 3. Sustrato de salvado para *Trichoderma*

Para la preparación del sustrato para la inoculación con la suspensión conidial de los aislados de *Trichoderma* spp. se utilizó el procedimiento siguiente (Sivan *et al*, 1983):

El salvado, homogenizado se mezcla con 30 % de agua destilada estéril. Se colocaron de 1 a 2 kg de esta mezcla en bolsas de polipapel y se selló la bolsa con la menor cantidad de aire posible. Posteriormente, el salvado se esterilizó a 15 lb de presión durante 1 h repitiendo este proceso por tres días consecutivos. Una vez esterilizado el sustrato, se procedió a inocularlo con una suspensión de conidias a una concentración de 2×10^4 conidias g sustrato⁻¹ (Cuadro 1).

Periódicamente La bolsa se agitó manualmente para asegurar que el inóculo se incorporara uniformemente. Para la maduración de este sustrato se dejaron las bolsas aproximadamente 10 días a temperatura ambiente (24 °C).

Del producto final se aplicó una dosis de 25 g inóculo m⁻¹ de suelo, equivalente para el caso de maíz 4.25, y para el caso del ajo 3.3 g maceta⁻¹.

VII. 4. Muestreo

A los 130 días después de la emergencia (dde) se cosecharon los experimentos, para lo cual se saturó la UE con agua de la llave, pasado aproximadamente 2 h, se extrajo la planta completa, eliminando el suelo de la raíz con agua corriente. La parte aérea se cortó en la base del tallo, el material vegetal se pesó inmediatamente en una balanza semi-analítica de 250 g para determinar el rendimiento fresco de paja (hojas + tallo) y grano, y bulbo. Luego a la muestra colectada de paja (maíz y ajo) y bulbo se le hicieron cortes y se depositaron en bolsa de papel estraza para secarlas en un horno a 70 °C durante 72 h (UT 6200, HERAUS) y determinar el rendimiento de materia seca (RMS) de los órganos vegetales, una vez determinado el peso seco, las muestras se molieron y se tomó una submuestra de 1 g para el análisis de N y P total.

VII. 5. Tinción de raíz

Para la cuantificación de la colonización de raíz por los aislados de *Trichoderma* spp. se utilizó el siguiente procedimiento (Phillip and Hayman, 1970):

Las raíces colectadas se lavaron con agua de la llave, tratando de eliminar todo el suelo adherido a ella posible. Se cortaron las raíces por estratos de profundidad, uniformizándolos a 1 cm de longitud tratando de obtener la mayor cantidad de raíces por estrato. Posteriormente, los segmentos de raíz se decoloraron con KOH 10 %, y se esterilizaron a 10 lb durante 10 min. Una vez enfriadas, las raíces se lavaron nuevamente con agua destilada estéril y se enjuagaron con H₂O₂ 10 % por 3 min. (éste paso debe realizarse cuando las raíces son muy lignificadas). Enseguida se les agregó HCl 10 % y se agitaron durante 2 a 3 min.; se decantó el HCl, sin lavar. Se tiñeron con azul de tripano 0.05 % en acetoglicerol, se retiró el colorante y se adicionó acetoglicerol, se montaron 12 segmentos de raíz en portaobjetos, agregando 1 gota de acetoglicerol y se les colocó un cubreobjetos. Finalmente, se observó y cuantificó la colonización usando un microscopio compuesto a 40X; La cuantificación se realizó marcando como positivo aquel segmento de raíz colonizado y se le asignaba un valor de 1 y como negativo en el que no se observaban estructuras fúngicas asignándole un valor de 0.

VII. 5. Método Kjeldahl

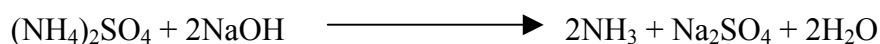
Este método se ha usado desde hace más de 90 años, en los cuales se ha ido modificando para resolver problemas específicos, habiéndose realizado gran cantidad de publicaciones al respecto. Este método se divide en tres etapas: 1). La digestión de la muestra para convertir el N de los compuestos nitrogenados en NH_4^+ ; 2). La destilación que es la extracción de N en el digerido; y 3). La cuantificación diferencial del N en el reaccionante (Axman *et al.*, 1990).

La determinación de N total se realizó por el método micro-Kjeldahl, el cual se basa en el principio de la digestión (Tecator, 1016^{MR}) del material vegetal molido (0.5 g) en ácido concentrado (5 mL de H_2SO_4 , MERCK^{MR}) más catalizadores (0.7 g de mezcla reactiva de selenio, MERCK^{MR}) a temperatura de 370 °C durante 35 min. para formar sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

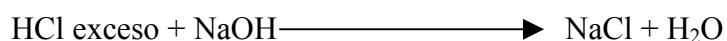
En el proceso de digestión el punto más importante es llevar todo el N que se encuentre en la muestra a sulfato de amonio. Y para ello se lleva a cabo la siguiente reacción química:



Posteriormente, se llevó a cabo la destilación (Tecator, 1002^{MR}) de los digeridos diluidos (20 mL H_2O desionizada) por medio de vapor en medio alcalino (30 mL NaOH 35 % p/v, MERCK^{MR}), el destilado (NH_3^+) se recuperó en un medio ácido (20 mL HCl 0.1 M, MERCK^{MR}) con indicador mixto (0.3 mL) rojo de metilo (MERCK^{MR})-azul de metileno (MERCK^{MR}) formando cloruro de amonio (NH_4Cl).



La cuantificación estequiométrica del HCl no reaccionante (Brinkman/Brand digital, 50 mL^{MR}) y diferencialmente el N total se realizó con NaOH 0.1 M, MERCK^{MR} (Axmann *et al.*, 1990). La muestra se acidificó para evitar pérdidas de N por volatilización.



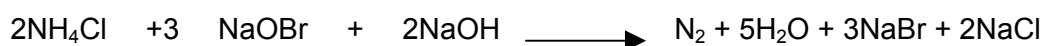
La muestra se concentró a 1 mg N mL⁻¹; para la cuantificación de la relación isotópica ¹⁵N/¹⁴N. Se utilizó como material de referencia interno (MRI) hojas de maíz con un contenido de % N total de 1.52±0.02.

VII. 6. Relación isotópica ¹⁵N/¹⁴N por oxidación de Rittemberg

Una vez determinado el N total, la muestra se acidificó con HCl 0.1 M, MERCK^{MR} y se concentró a 1 µg N µL⁻¹ con una temperatura promedio de 250 °C (Lab-line, 60300) para la determinación de la relación isotópica ¹⁵N/¹⁴N (Axmann *et al.*, 1990) por medio de espectrometría de emisión óptica (Axmann y Zapata, 1990). Se utilizó el mismo MRI con una relación isotópica de 0.602±0.003 % ¹⁵N a.e.

La cuantificación de la relación isotópica ¹⁵N/¹⁴N se realizó en un espectrómetro de emisión óptica (FAN, NOI-6e), cuyo principio de medición se basa en que al aplicar una alta frecuencia al N₂ generado del NH₄Cl (25 µL muestra) por oxidación Rittemberg con Hipobromito de Sodio 0.07 M (13 µL),

las moléculas absorben diferentes cantidades de energía y al desexcitarse emiten radiación electromagnética de diferentes longitudes de onda y los valores son proporcionales al tipo de molécula y cantidad de átomos, determinándose así el espectro de la relación $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ en % ^{15}N a.e. (Axmann y Zapata, 1990):



Una vez cuantificado el N total y la relación isotópica $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ se procedió a estimar el N en la planta proveniente del fertilizante (Nddf).

VII. 7. Cuantificación de P

El contenido de P total (Pt) en el material vegetal fue determinado en los diferentes órganos mediante la formación del complejo cromógeno amarillo de vanadio-molibdato (Zapata, 2002), la absorbancia de luz se realizó por espectrofotometría (Beckman, Mod. DU650) a 420 nm de longitud de onda (Peña *et al.*, 2000; Zapata, 2002).

Para la cuantificación de Pt se utilizó el procedimiento siguiente (Peña *et al.*, 2000):

De las muestras vegetales secas y molidas se pesó aproximadamente 1 g tomando el peso con tres cifras significativas, en tubos Kjeldahl, al cual se le agregó una solución de ácido nítrico y ácido perclórico 5:1 v/v (10 mL). Previamente, el material a utilizar se descontaminó con una solución de KH_2PO_4 2 % durante 24 h. Después con una solución de HCl 6 M y con agua destilada (si no tiene ^{32}P se obvia el tratamiento con KH_2PO_4). Esta solución se

calentó a 100 °C para facilitar la digestión dejando evaporar hasta sequedad, con el P precipitado en forma de sales se les adicionaron 10 mL de agua desionizada y 5 mL de una solución vanadio-molibdato, y después se completó el volumen con agua destilada hasta llegar al aforo 25 mL. Las muestras se dejaron reposar por 20 min., transcurrido este tiempo se realizaron las mediciones de cada muestra en un espectrofotómetro a 415 nm de longitud de onda.

Se realizó una curva de calibración de concentraciones de P conocidas para determinar las concentraciones de las muestras problema (Fig. 4 y 5) con el procedimiento antes descrito, con los datos de absorbancia se realizó el cálculo de la ecuación de regresión entre absorbancia vs. la concentración de P. El coeficiente de regresión se utilizó para el cálculo de las concentraciones de P en los análisis de las muestras experimentales.

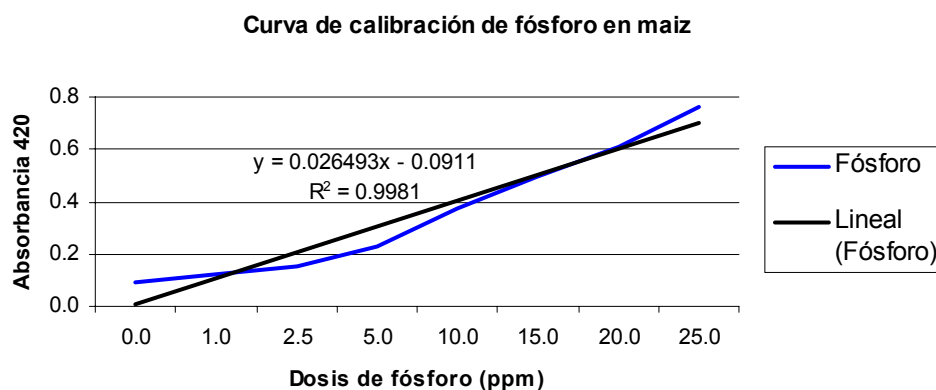


Fig. 4. Curva de calibración de P (ppm: partes por millón o $\mu\text{g mL}^{-1}$) para las muestras de maíz.

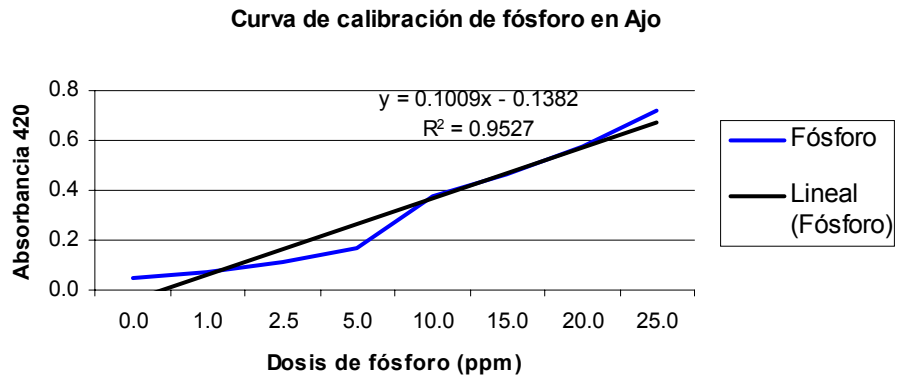


Fig. 5. Curva de calibración de P (ppm: partes por millón o $\mu\text{g mL}^{-1}$) para las muestras de ajo.

VII. 7. Variables en estudio

Todas las variables cuantificadas se realizaron de acuerdo a (Hardarson y Danso, 1990):

VII. 7.1. Biológicas

Las siguientes variables se determinaron en la biomasa vegetal obtenida en los diferentes órganos de los cultivos de maíz y ajo para los diferentes tratamientos:

VII. 7.1.1. Biomasa seca (BS)

Esta variable (mg planta^{-1}) se determinó en cada uno de los tratamientos evaluados en base al procedimiento descrito en el proceso de muestreo.

VII. 7.2. Nutrimientales

Las siguientes variables se cuantificaron en la biomasa vegetal obtenida en los diferentes órganos de los cultivos de maíz y ajo para los diferentes tratamientos como paso previo a la determinación de la relación isotópica $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ y la eficiencia de absorción de P proveniente del fertilizante:

VII. 7.2.1. N total (Nt)

Esta variable (%) se determinó por el método micro-Kjeldahl en la biomasa vegetal, según la estandarización del Organismo Internacional de Energía Atómica (Axmann *et al.*, 1990).

VII. 7.2.2. P total (Pt)

Esta variable (%) se determinó por el método vanadio-molibdato en la

biomasa vegetal, según (Peña *et al.*, 2000).

Nota: Las variables que a continuación se describen para el caso del N también aplican para P, excepto el ^{15}N y Nddf que fueron calculados por el método de la diferencia.

VII. 7.2.1.1. Rendimiento de nitrógeno total (RNT)

Esta variable (mg N planta^{-1}) se calculó multiplicando el porcentaje de N total por el rendimiento de biomasa seca de cada uno de los órganos vegetales muestreados en los cultivos de maíz y ajo.

VII. 7.3. Isotópicas

Las siguientes variables se cuantificaron en la biomasa vegetal obtenida en los diferentes órganos de los cultivos de maíz y ajo para los diferentes tratamientos donde se marcó con ^{15}N :

VII. 7.3.1. ^{15}N Nitrógeno a.e. (^{15}N)

Esta variable (% ^{15}N a.e.) se determinó por medio del espectrómetro de emisión en el N_2 generado por la oxidación Rittenberg del NH_4Cl obtenido del digerido de la biomasa vegetal (Axmann y Zapata, 1990).

VII. 7.3.2. N derivado del fertilizante (Nddf)

Esta variable (%) se calculó dividiendo el % ^{15}N a.e. obtenido en cada uno de los órganos de los tratamientos evaluados entre el % $^{15}\text{N}_2$ a.e. que se aplicó (1% ^{15}N a.e.).

VII. 7.3.3. Rendimiento de N fertilizante (RNF)

Esta variable (mg N planta^{-1}) se calculó multiplicando el porcentaje de nitrógeno derivado del fertilizante ^{15}N por el nitrógeno total en la biomasa vegetal.

VII. 7.3.4. Eficiencia de absorción del fertilizante N (EFN)

Esta variable (%) se calculó dividiendo el rendimiento del nitrógeno fertilizante entre la dosis de fertilizante N.

VII. 8. Análisis estadístico de la información

Una vez concluido el trabajo experimental, se organizaron los datos obtenidos de las diferentes variables cuantificadas y se procedió a efectuar un análisis de varianza de acuerdo al diseño experimental utilizado. A las variables que mostraron en el análisis de varianza una probabilidad $P > F \leq 0.00$ se les practicó una prueba de separación de medias por medio de la prueba de la Diferencia Mínima Significativa (DMS) con un nivel de probabilidad de $p \leq 0.05$ (Olivares, Statnl, 1993).

VIII RESULTADOS

VIII. 1. Inóculos de *Trichoderma*

En el cuadro 1 se pueden observar los resultados obtenidos para la preparación de los preinóculos con las diferentes cepas, podemos destacar que el aislado CM44, produjo la mayor cantidad de conidias contrario a lo esperado ya que fue la cepa utilizada como contraste, con el porcentaje de colonización menor vs. los otros aislados evaluados. Mientras que el aislado CM35 presentó la cantidad menor de conidias, por lo que se requirió mayor cantidad de la suspensión conidial para lograr la concentración necesaria para inocular en el sustrato.

Cuadro 1. Concentración de la suspensión conidial y preparación de preinóculos de *Trichoderma* spp.

Aislado	Corteo	Cuadrante					Promedio cuadrantes	Conidias/mL 10^6	mL necesarios	Volumen aforo
		1	2	3	4	5				
CM7	1	195	196	197	209	191	197.2	0.98	10.14	139.86
	2	200	189	195	207	193				
CM12	1	242	255	236	281	254	250.7	1.25	7.98	142.02
	2	240	262	229	238	270				
CM28	1	145	157	188	166	181	152.8	0.76	13.09	136.91
	2	160	145	122	126	138				
CM35	1	150	157	146	156	146	148.7	0.74	13.45	136.55
	2	137	145	150	158	142				
CM44	1	416	334	382	331	313	354.4	1.77	5.64	144.36
	2	324	385	401	316	342				

VIII. 2. Exp. 1: ^{15}N -Maíz/*Trichoderma*

VIII. 2.1. Variables biológicas

Los datos de materia seca (raíz, paja: hoja y tallo, grano y la biomasa total) del exp. 1: ^{15}N -Maíz/*Trichoderma* se presentan en el cuadro 2 y fig. 6. Los análisis estadísticos de estas variables mostraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para el factor aislado de *Trichoderma* spp. así como en los niveles de fertilización N.

En términos generales, se observó que las plantas de maíz inoculadas con el aislado CM12 presentaron la cantidad de biomasa radicular menor, asimismo, se pudo observar que la fertilización N a 120 % produjo la ganancia de peso mayor (Fig. 6), estos datos indican la presencia de una asociación parasítica en vez de una asociación saprofitica. En todos los tratamientos donde no se fertilizó con N se obtuvieron ganancias inferiores similares de peso de raíz vs. el contraste. La planta de maíz inoculada con el aislado CM44 obtuvo la mayor ganancia en peso con un comportamiento muy similar al contraste, superando solo el rendimiento de raíz en la dosis de 140 mg N aplicados. La importancia del crecimiento de la raíz implica directamente una mayor capacidad de exploración de nutrimentos e indirectamente una mayor absorción de los mismos.

Cuadro 2. Producción de materia seca raíz, paja: hoja y tallo, grano y la biomasa total del exp. 1: ¹⁵N-Maíz/*Trichoderma*.

Aislado	Dosis N (mg)	Peso Seco Raíz (g)	Peso Seco Paja (g)	Peso Seco Grano (g)	Peso Seco Biomasa Total (g)				
CM7	0	9.29 ±	2.25	7.72 ±	1.42	1.17 ±	0.00	24.05 ±	3.32
	140	22.36 ±	0.03	14.63 ±	0.47	21.20 ±	3.31	71.61 ±	3.79
	280	35.51 ±	7.97	31.60 ±	18.22	19.52 ±	7.94	102.94 ±	27.42
	336	42.75 ±	2.70	22.73 ±	2.45	19.96 ±	1.61	110.50 ±	4.91
CM12	0	10.83 ±	4.16	13.59 ±	4.79	0.46 ±	0.00	38.06 ±	13.31
	140	15.43 ±	7.06	14.90 ±	4.90	18.98 ±	0.23	64.81 ±	18.95
	280	19.22 ±	6.42	17.00 ±	1.96	17.47 ±	2.74	65.30 ±	12.65
	336	40.80 ±	1.29	18.31 ±	0.57	14.23 ±	5.84	89.77 ±	0.50
CM28	0	8.97 ±	2.01	7.16 ±	1.41	6.91 ±	4.60	25.68 ±	7.25
	140	32.99 ±	9.71	18.61 ±	6.02	21.33 ±	3.79	89.97 ±	17.80
	280	31.36 ±	2.90	15.71 ±	2.47	12.96 ±	7.38	76.28 ±	7.00
	336	37.24 ±	1.01	22.69 ±	1.80	7.35 ±	6.05	82.80 ±	13.31
CM35	0	11.42 ±	7.59	11.44 ±	2.40	4.36 ±	0.00	32.63 ±	13.77
	140	28.97 ±	6.38	14.40 ±	2.07	25.80 ±	0.00	76.10 ±	18.44
	280	18.47 ±	4.74	14.83 ±	2.17	22.23 ±	0.13	67.28 ±	8.06
	336	24.56 ±	3.66	16.36 ±	1.12	21.69 ±	1.79	77.82 ±	3.96
CM44	0	6.06 ±	3.08	6.61 ±	2.75	8.74 ±	0.00	21.91 ±	2.25
	140	38.78 ±	8.31	21.87 ±	8.50	16.70 ±	6.77	93.71 ±	21.37
	280	41.24 ±	6.43	24.11 ±	6.44	20.72 ±	2.60	104.74 ±	17.99
	336	35.28 ±	1.40	25.23 ±	6.22	13.12 ±	0.35	91.49 ±	9.15
Cts.	0	23.82 ±	0.00	25.57 ±	0.12	5.38 ±	0.00	61.94 ±	0.12
	140	28.62 ±	7.05	15.57 ±	1.25	21.58 ±	2.73	75.63 ±	4.74
	280	40.88 ±	4.09	22.64 ±	2.36	11.92 ±	0.00	84.89 ±	6.44
	336	38.40 ±	6.88	22.16 ±	0.49	0.00 ±	0.00	81.49 ±	3.25
	CV (%)	18.15		30.00		26.12		20.29	
Aislado (A)	F	2.86		3.04		8.34		2.08	
	P>F	0.02		0.02		0.00		0.08	
Dosis fertilizante (B)	F	9.61		11.35		69.89		52.66	
	P>F	0.00		0.00		0.00		0.00	
AXB	F	7.75		3.04		4.77		2.59	
	P>F	0.00		0.00		0.00		0.01	
DMS (p≤0.05)	A	1.08		4.33		2.97		10.71	
	B	0.88		3.54		2.43		9.59	
	AxB	2.16		8.66		5.94		23.49	

Nota: la biomasa total incluye el peso del olote y las brácteas.

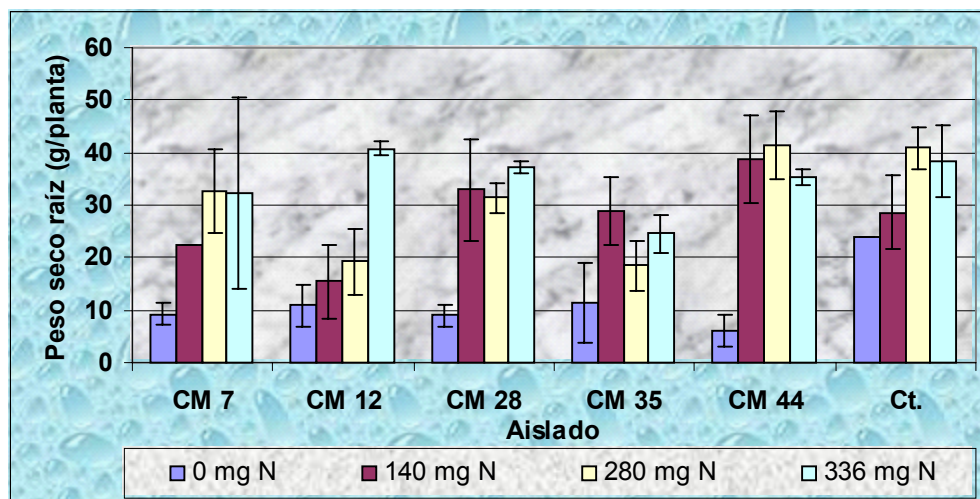


Fig. 6. Producción de raíz por el cultivo de maíz inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 1: ¹⁵N-Maíz/*Trichoderma*).

Los datos de peso seco de paja de maíz (tallos y hojas) son presentados en la Fig. 7. Los datos de esta variable mostraron diferencia estadística significativa ($p \leq 0.05$) para el factor aislado de *Trichoderma* spp. así como en los niveles de fertilización N.

En términos generales, la inoculación a base de *Trichoderma* favoreció un aumento de la producción de paja de maíz en comparación con el tratamiento sin inocular. En los tratamientos con el aislado CM44 + fertilizante N se obtuvo la mayor producción de paja vs. el tratamiento sin fertilizar, el cual presentó valores muy inferiores incluso con el contraste. Por otro lado, el aislado CM7 solo se asoció bien en las dosis de fertilización N de 280 mg N, aunque los datos presentaron una desviación estándar muy alta; asimismo, la producción de paja de maíz con el aislado CM35 presentó los valores más estables para todas las dosis de N aplicadas pero menores a lo observado en el control, solo la dosis del 50 % de N presentó un comportamiento estable en términos de producción de paja. Es importante destacar que los aislados CM12 y CM35 fueron los que mayor efecto presentaron sobre la variable producción de paja aun sin la aplicación de fertilizante N.

La importancia de estos resultados radica en la potencialidad del uso de inoculantes a base de *Trichoderma* para la producción de forraje de maíz, debido a la importancia, en muchas regiones con producción pecuaria, de la utilización de la paja del maíz tanto para forraje de animales, así como para incorporar al suelo como abono o mejorador del mismo.

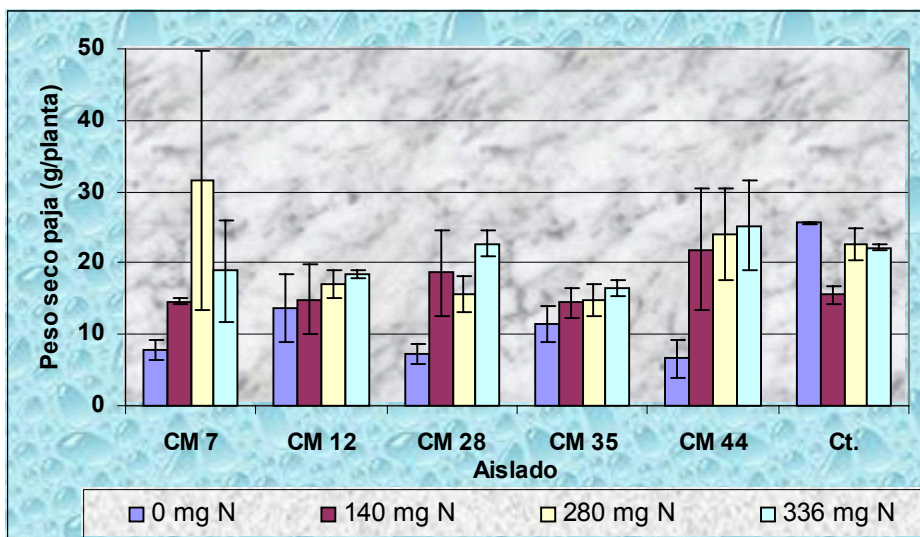


Fig. 7. Producción de paja por el cultivo de maíz inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 1: 15N-Maíz/*Trichoderma*).

En relación a la producción de grano, los datos obtenidos de esta variable son mostrados en la fig 8., donde se observa que los aislados CM7, CM12, CM28 y CM35 presentaron como tendencia un efecto mayor sobre la producción de grano en la dosis de 140 mg N, equivalente al 50 % de la dosis N recomendada para el cultivo de maíz, pero solo el aislado CM35 fue superior al testigo. Fue importante observar que siempre que se inoculó con *Trichoderma* spp. sin la aplicación de fertilizante N, los inoculantes ejercieron un efecto negativo en términos de producción de grano, asimismo, se observó que a dosis N mayores a 140 mg N, el rendimiento de grano disminuyó en todos los tratamientos inoculados. Por otro lado, el control fertilizado con 336 mg N tuvo el menor rendimiento de grano, similares resultados se observaron para la dosis de 280 mg N. Por otra parte, en los tratamientos inoculados con el aislado CM44 se pudo observar un incremento en el rendimiento de grano en función del incremento de la dosis de fertilización N, similar a lo observado con

los demás aislados de *Trichoderma* spp. En los tratamientos con la dosis de 336 mg N se obtuvo el rendimiento de grano menor.

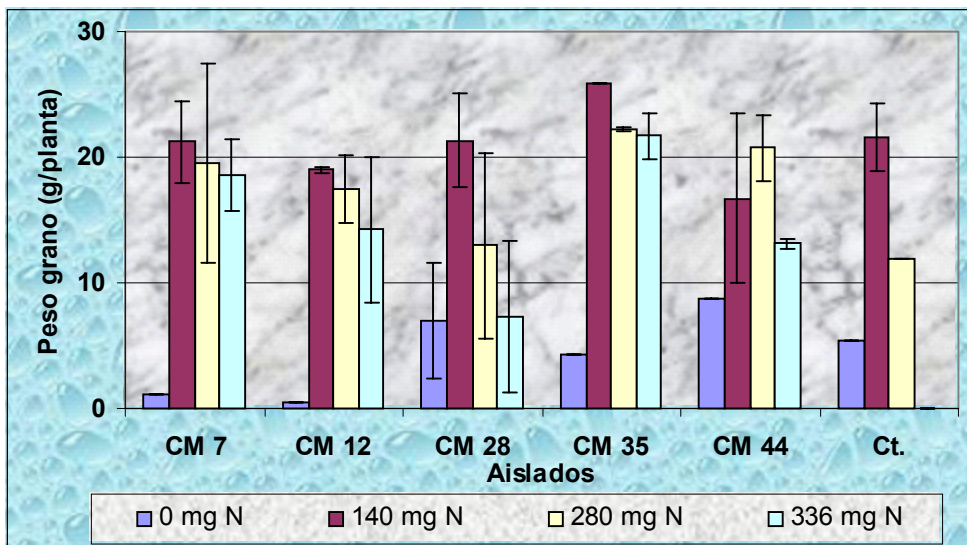
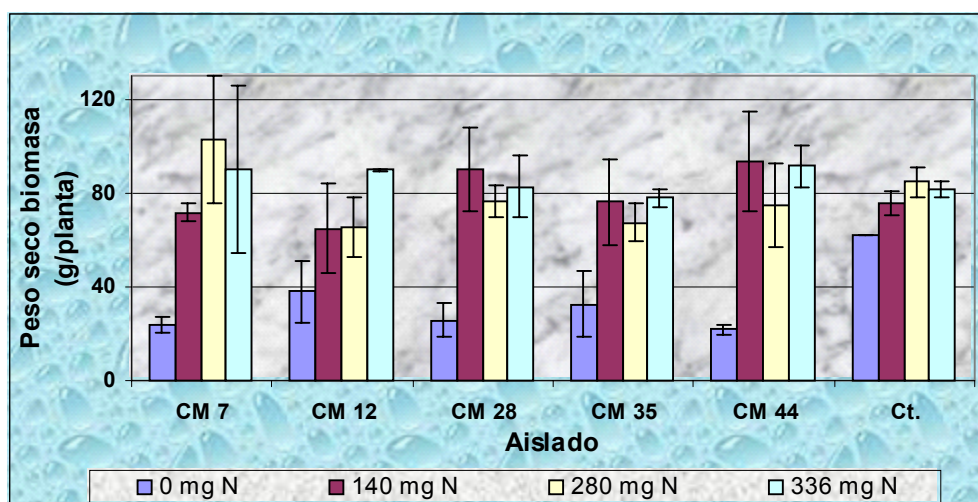


Fig. 8. Producción de grano por el cultivo de maíz inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 1: 15N-Maíz/*Trichoderma*).

En el análisis de la biomasa total (Fig. 9) se pudo apreciar que los aislados CM7 y la CM28 son las que tuvieron un mayor efecto sobre el rendimiento total (biomasa mayor). Analizando los datos de paja y grano se puede observar que los aislados que ofrecen mas ventajas al agricultor son: el aislado CM35 que aunque su efecto sobre el rendimiento de paja es menor, tiene un efecto mayor en términos de rendimiento de grano vs. el resto de los tratamientos. Por otro lado, el aislado CM28 muestra ser un buen inóculo ya que a dosis N menores, tiene un efecto positivo sobre el rendimiento solo superado por el aislado CM35.



*Biomasa: paja, mazorca y raíz.

Fig. 9. Producción de biomasa por el cultivo de maíz inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 1: ¹⁵N-Maíz/*Trichoderma*).

Las rizósfera y endorizósfera de las plantas es muy compleja, en ella suelen asociarse grupos de microorganismos variables (bacterias, hongos, etc.), entre los hongos que pueden asociarse a las plantas se encuentran los que forman arbusculos o vesículas, además, de los que forman una asociación endorizosférica como *Trichoderma* spp. sin presentar estructuras reconocibles a simple vista o en observaciones al microscopio. En los experimentos realizados todas las raíces presentaban colonización cercana al 100 %. Este dato indica que probablemente se presentaron asociaciones microbianas que tuvieron un efecto sobre las variables estudiadas. En este sentido se encontraron arbusculos en las raíces teñidas para la cuantificación de *Trichoderma* spp. (Fig. 10).

Como ya fue mencionado en cuanto a producción, los tratamientos aislado de *Trichoderma* spp. + 140 mg N tuvieron un efecto mayor sobre el rendimiento. Asimismo, en los tratamientos sin inocular + fertilizante N fueron los que presentaron un porcentaje de colonización con respecto a los

tratamientos con los aislados de *Trichoderma* spp. con mayor efecto sobre las variables en estudio: aislados CM28 y CM 35, las cuales presentaron porcentajes de arbusculos menores sobre todo en las dosis de 140 mg N. Esta observación se puede interpretar como que los aislados de *Trichoderma* spp. evaluados tienen mayor capacidad de competencia con los hongos nativos del suelo, por lo tanto, a una colonización mayor, estos impiden que se establezcan en las raíces otros hongos del suelo, en este experimento identificados como arbusculos. También, destaca que la presencia de N influyó en los niveles de colonización sobre todo en plantas que probablemente estuvieron sometidas a un estrés nutrimental (50 % N de la dosis N recomendada), las cuales presentaron una colonización por *Trichoderma* spp. mayor, ya que la presencia de arbusculos fúngicos fue inferior, en tanto que en los tratamientos que no fueron inoculados presentaron una colonización por arbusculos fúngicos mayor por lo que se infiere que la presencia del hongo *Trichoderma* spp. fue menor. Estas asociaciones pueden favorecer a otros hongos. Por otra parte, también se observó, en todos los casos, que en el tratamiento control sin fertilizar la colonización con las cepas de *Trichoderma* spp. fue disminuida por el aumento de la colonización de arbusculos fúngicos.

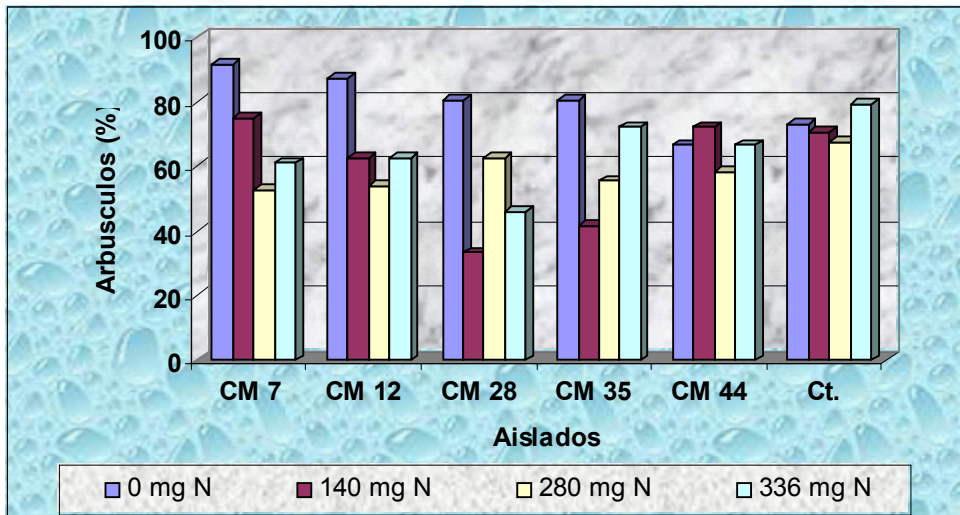


Fig. 10. Colonización por arbusculos fúngicos de raíces del cultivo de maíz inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 1: ¹⁵N-Maíz/*Trichoderma*).

VIII. 2.2. Variables nitrógeno (Nt) e isotópicas

En el cuadro 3 y fig. 6 se presentan los datos de absorción de N total y N derivado del fertilizante en paja de la planta de maíz. No se observaron diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) para la variable N derivado del fertilizante para los factores aislado de *Trichoderma* spp., así como en su interacción con el factor dosis de N, sin embargo, se observó un efecto estadístico significativo para el factor dosis de fertilización N. Se observó que la planta de maíz inoculada con el aislado CM35 obtuvo el % N derivado del fertilizante mayor con la dosis de 140 mg N, correspondiente al 50 % de la dosis N recomendada para este cultivo.

Cuadro 3. Rendimiento de N total y N fertilizante en paja de maíz del exp. 1: ^{15}N -Maíz/*Trichoderma*.

Aislado	Dosis N (mg)	% Nddf Paja		RNT Paja		RNF Paja		%EUF Paja	
CM7	0	0.00 ±	0.00	151.55 ±	4.47	4.46 ±	0.25	0.00 ±	0.00
	140	20.90 ±	0.20	118.04 ±	19.62	24.70 ±	4.34	17.64 ±	3.10
	280	22.70 ±	12.05	162.36 ±	30.86	34.97 ±	11.98	12.49 ±	4.28
	336	26.97 ±	3.86	87.66 ±	10.37	22.80 ±	0.55	6.78 ±	0.16
CM12	0	0.00 ±	0.00	147.60 ±	13.21	3.39 ±	0.47	0.00 ±	0.00
	140	24.80 ±	0.00	128.25 ±	17.50	31.80 ±	4.34	22.72 ±	3.10
	280	18.35 ±	8.65	139.00 ±	6.65	31.23 ±	4.50	11.15 ±	1.61
	336	22.85 ±	1.35	110.37 ±	19.62	25.40 ±	5.99	7.56 ±	1.78
CM28	0	0.00 ±	0.00	86.72 ±	43.95	0.55 ±	0.38	0.00 ±	0.00
	140	17.57 ±	7.34	91.09 ±	21.21	15.23 ±	2.66	10.88 ±	1.90
	280	22.20 ±	0.00	136.45 ±	40.78	30.29 ±	9.05	10.82 ±	3.23
	336	31.50 ±	7.40	201.25 ±	25.21	62.16 ±	7.11	18.50 ±	2.11
CM35	0	0.00 ±	0.00	189.06 ±	40.23	2.71 ±	1.69	0.00 ±	0.00
	140	26.55 ±	0.65	108.33 ±	12.78	28.37 ±	3.00	20.26 ±	2.14
	280	25.47 ±	2.49	167.41 ±	29.93	43.63 ±	4.72	15.58 ±	1.69
	336	34.50 ±	0.87	193.56 ±	21.00	66.45 ±	8.64	19.78 ±	2.57
CM44	0	0.00 ±	0.00	95.49 ±	47.17	1.20 ±	0.24	0.00 ±	0.00
	140	22.40 ±	4.52	134.60 ±	8.68	30.02 ±	5.46	21.45 ±	3.90
	280	27.33 ±	12.06	171.69 ±	3.71	47.17 ±	21.44	16.85 ±	7.66
	336	24.75 ±	4.65	186.74 ±	8.65	50.76 ±	6.68	15.11 ±	1.99
Cis.	0	0.00 ±	0.00	121.99 ±	0.55	7.08 ±	0.03	0.00 ±	0.00
	140	24.30 ±	0.00	64.10 ±	6.69	15.58 ±	1.63	11.13 ±	1.16
	280	24.10 ±	0.00	107.57 ±	11.19	25.92 ±	2.70	9.26 ±	0.96
	336	21.15 ±	2.95	132.45 ±	26.36	26.45 ±	7.14	7.87 ±	2.12
Cepa (A)	CV (%)	23.600		16.610		26.240		24.260	
	F	1.827		9.740		12.555		11.925	
	P>F	0.125		0.000		0.000		0.000	
Dosis fertilizante (B)	F	146.292		15.127		138.374		149.134	
	P>F	0.000		0.000		0.000		0.000	
AXB	F	1.537		8.066		7.259		6.562	
	P>F	0.129		0.000		0.000		0.000	
DMS ($p \leq 0.05$)	A	Ns		18.256		5.507		2.125	
	B	2.930		14.906		4.496		1.735	
	AxB	Ns		36.512		11.138		4.250	

%Nddf: N derivado de fertilizante; RNT: Rendimiento de N total; RNF: Rendimiento de N fertilizante; %EUF: Eficiencia de uso de N fertilizante.

Los valores de la cantidad de N del fertilizante en paja cuantificada por la técnica del ^{15}N se presentan en la fig. 11. Los resultados que se obtuvieron en esta variable indican cual de los aislados de *Trichoderma* spp. evaluados incrementaron la absorción de N en paja, por ejemplo, el tratamiento con el aislado CM35 con 280 mg N muestra un efecto mayor en esta variable en tanto que el aislado CM28 presentó la absorción de N fertilizante pero con la dosis de 140 mg N. Todos los tratamientos con los aislados de *Trichoderma* spp. presentaron una absorción de N en paja mayor vs. el tratamiento control.

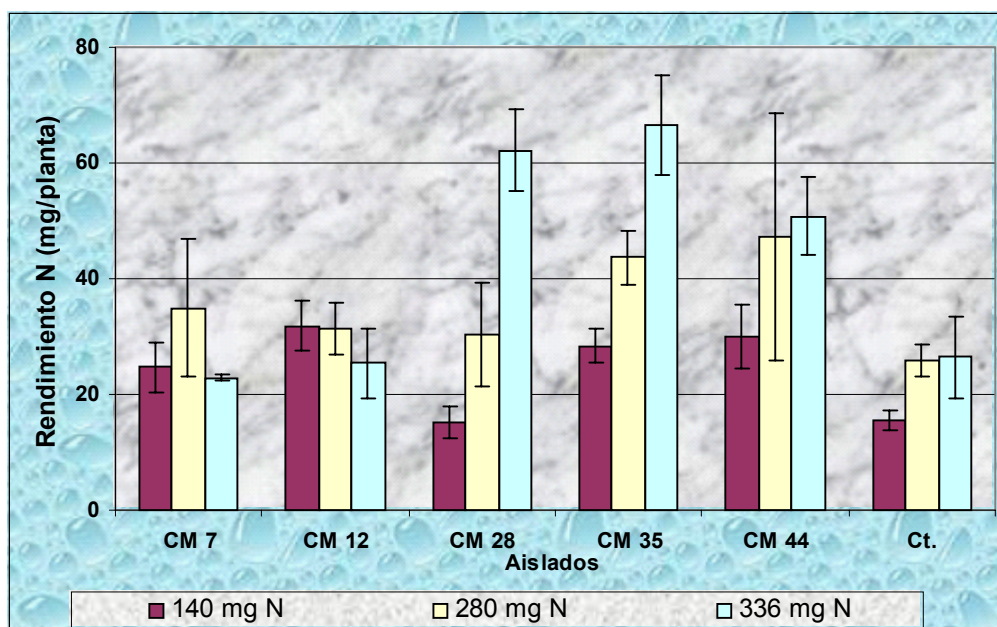


Fig. 11. Absorción de N fertilizante por paja del cultivo de maíz inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 1: ^{15}N -Maíz/*Trichoderma*).

Por otro lado, en términos de la cantidad de N fertilizante en paja de maíz en base a la dosis N aplicada se cuantificó la eficiencia de uso de N fertilizante (Fig. 12).

En las dosis de fertilizante N evaluadas se aplicaron cantidades crecientes de N fertilizante, esto permite observar cual aislado de *Trichoderma* spp. incrementó la absorción de N fertilizante en función de la dosis N aplicada, ya que un inoculante puede promover un incremento en la absorción de N fertilizante pero debido a una mayor disponibilidad de N fertilizante. A dosis de N fertilizante menores por ejemplo, 140 mg N, la planta absorbió cantidades de N fertilizante similares a las plantas fertilizadas con 280 mg N, por lo tanto, la eficiencia de uso de las primeras es mayor, este efecto se observó mas marcado en la paja de las plantas de maíz inoculado con el aislado CM12, el cual mostró una mayor eficiencia en aprovechamiento de N en las dosis de fertilización N bajas vs. dosis de fertilización N altas.

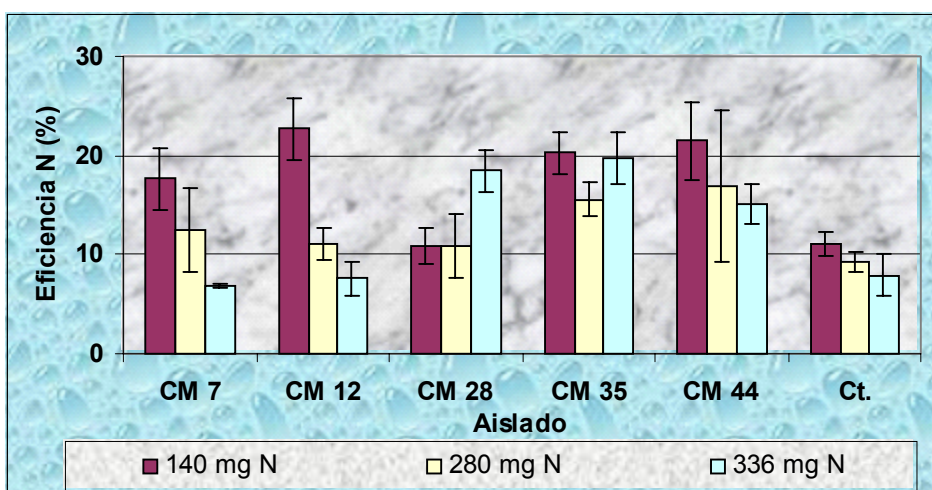


Fig. 12. Eficiencia de uso de N fertilizante en paja del cultivo de maíz inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 1: ¹⁵N-Maíz/*Trichoderma*).

En el cuadro 4 y fig. 13 se muestran los datos de N total y N fertilizante en grano de maíz. La cantidad de N fertilizante mayor se cuantificó en el tratamiento con el aislado CM35 con la dosis de 336 mg N, asimismo se observó con este aislado en la dosis de 140 mg N valores de N fertilizante

aceptables. Los tratamientos con los aislados CM12 y CM28 presentaron una desviación mayor con la dosis 280 mg N, pudiendo ser menor que el tratamiento control en todas las dosis de N evaluadas.

Cuadro 4. Rendimiento de N total y N fertilizante en grano de maíz del exp. 1: ¹⁵N-Maíz/*Trichoderma*.

	Aislado	Dosis N (mg)	% NddF Grano		RNT Grano		RNF Grano		%EUF Grano	
	CM7	0	0.00 ±	0.00	25.09 ±	0.00	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
		140	12.20 ±	0.40	303.85 ±	23.36	37.13 ±	4.01	26.52 ±	2.87
		280	10.10 ±	0.00	323.25 ±	146.85	32.65 ±	14.83	11.66 ±	5.30
		336	19.50 ±	4.60	357.87 ±	93.11	63.84 ±	19.89	19.00 ±	5.92
	CM12	0	0.00 ±	0.00	10.81 ±	0.00	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
		140	11.75 ±	0.65	290.10 ±	35.31	34.24 ±	6.05	24.46 ±	4.32
		280	15.35 ±	5.15	341.28 ±	26.98	32.96 ±	32.36	11.77 ±	11.56
		336	14.93 ±	0.52	252.44 ±	78.50	39.55 ±	14.69	11.77 ±	4.37
	CM28	0	0.00 ±	0.00	140.76 ±	76.24	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
		140	10.57 ±	1.85	311.04 ±	89.94	33.94 ±	16.08	24.24 ±	11.48
		280	17.73 ±	2.63	374.52 ±	88.61	64.89 ±	50.65	23.18 ±	18.09
		336	17.75 ±	5.65	254.47 ±	70.70	10.88 ±	10.17	3.24 ±	3.03
	CM35	0	0.00 ±	0.00	98.34 ±	0.00	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
		140	16.70 ±	0.00	468.17 ±	0.00	78.18 ±	0.00	55.85 ±	0.00
		280	19.20 ±	1.80	333.00 ±	45.97	63.38 ±	2.82	22.64 ±	1.01
		336	27.40 ±	5.48	426.50 ±	38.73	118.13 ±	34.38	35.16 ±	10.23
	CM44	0	0.00 ±	0.00	189.61 ±	0.00	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
		140	16.50 ±	0.70	266.82 ±	88.16	42.30 ±	11.63	30.21 ±	8.31
		280	26.55 ±	5.45	360.88 ±	23.17	82.53 ±	27.01	29.48 ±	9.65
		336	19.20 ±	0.80	278.26 ±	4.18	53.45 ±	2.99	15.91 ±	0.89
	Cts.	0	0.00 ±	0.00	102.97 ±	0.00	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
		140	11.60 ±	2.40	338.83 ±	52.86	40.15 ±	14.30	28.68 ±	10.21
		280	23.20 ±	0.00	212.36 ±	0.00	49.27 ±	0.00	17.60 ±	0.00
		336	13.80 ±	0.00	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
		CV (%)		24.000		25.380		25.370		24.840
Cepa (A)		F		6.029		9.167		28.859		26.216
		P>F		0.000		0.000		0.000		0.000
Dosis fertilizante (B)		F		152.275		47.678		132.774		179.813
		P>F		0.000		0.000		0.000		0.000
AXB		F		3.897		5.516		15.957		11.835
		P>F		0.000		0.000		0.000		0.000
DMS (p≤0.05)		A		2.491		52.293		10.081		4.355
		B		2.034		42.697		8.231		3.556
		AxB		4.983		104.586		20.163		8.710

%NddF: N derivado del fertilizante; RNT: Rendimiento de N total; RNF: Rendimiento de N fertilizante; %EUF: Eficiencia de uso de N fertilizante.

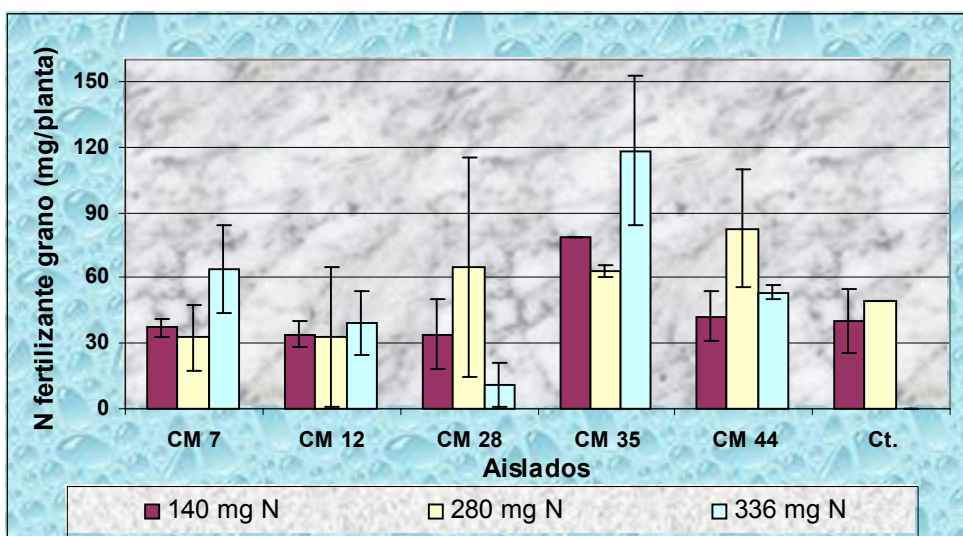


Fig. 13. Absorción de N fertilizante por grano del cultivo de maíz inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 1: ¹⁵N-Maíz/*Trichoderma*).

VIII. 3. Exp. 3: P-Maíz/*Trichoderma*

VIII. 3.1. Variables biológicas

En referencia al aprovechamiento de P en términos de producción de raíz (Fig. 14) por las plantas de maíz del exp. 3: P-Maíz/*Trichoderma*, el aislado CM7 tuvo un efecto parásito, ya que disminuyó la producción de raíz vs. el control sin inocular. Es importante mencionar que los datos de esta variable presentaron desviaciones estándar grandes, razón por la cual estadísticamente no se observaron diferencias significativas para los factores dosis de fertilización P y su interacción con el factor aislado de *Trichoderma* spp. Sin embargo, se observaron diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) para el factor aislado de *Trichoderma* spp. En los tratamientos inoculados con el aislado CM28 en niveles de fertilización P bajos, medios y altos se observaron claras diferencias en términos de producción de raíz, por otra parte, en cuanto a el aislado CM35 se observó que en niveles de P bajo (0 y 140 mg P) presentó

el crecimiento radicular mayor. Solo el aislado CM7 es el que presentó crecimiento radical menor que el contraste. La producción de raíz en los tratamientos inoculados con los aislados CM12 y CM44 presentaron un crecimiento similar al control, en algunos casos con una pequeña diferencia.

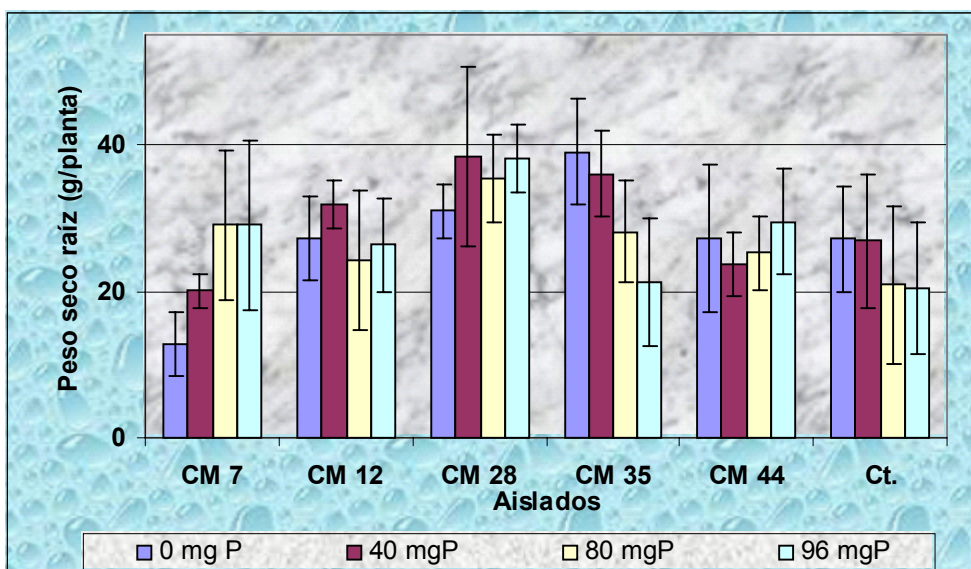


Fig. 14. Producción de raíz por el cultivo de maíz inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 3: P-Maíz/*Trichoderma*).

En relación a la producción de paja de maíz (Fig. 15), no se observó diferencia estadística significativa ($p \leq 0.05$) en cuanto al factor dosis de fertilización P, así como para la interacción aislado de *Trichoderma* spp.- fertilización P. Se incluyeron testigos absolutos, sin fertilizante P y sin inoculación de *Trichoderma* spp., para determinar el P que proviene del suelo y del fertilizante P, cabe mencionar que este método es aproximado, en comparación con el método isotópico, pero a diferencia del isótopo ^{15}N , el isótopo del P es radiactivo (^{32}P). Las diferencias estadísticas observadas fueron mínimas, sin embargo, los tratamientos inoculados con el aislado CM7 en bajas dosis de P presentaron un comportamiento de una producción de paja menor.

Las diferencias que se presentaron con el control fueron mínimas, sin embargo, la producción de paja en los tratamientos inoculados con los aislados CM28, CM35 y CM44 fueron mayores vs. el control. En base a la información obtenida se puede inferir que con la dosis de 40 mg P, la absorción máxima de P que puede ser aprovechada por la planta en asociación con los diferentes aislados de *Trichoderma* spp. en términos de producción de paja, solo los tratamientos inoculados con los aislados de *Trichoderma* spp. CM7 y CM12 son las que presentaron valores más próximos al control.

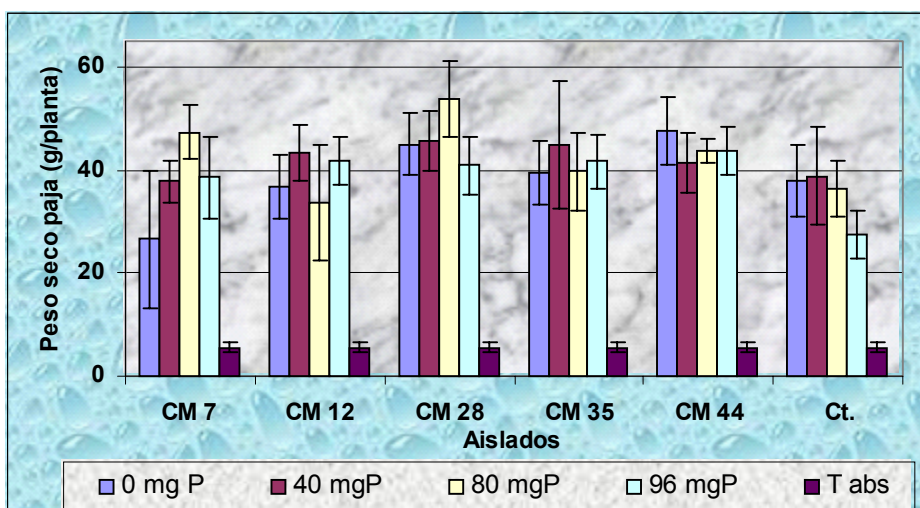
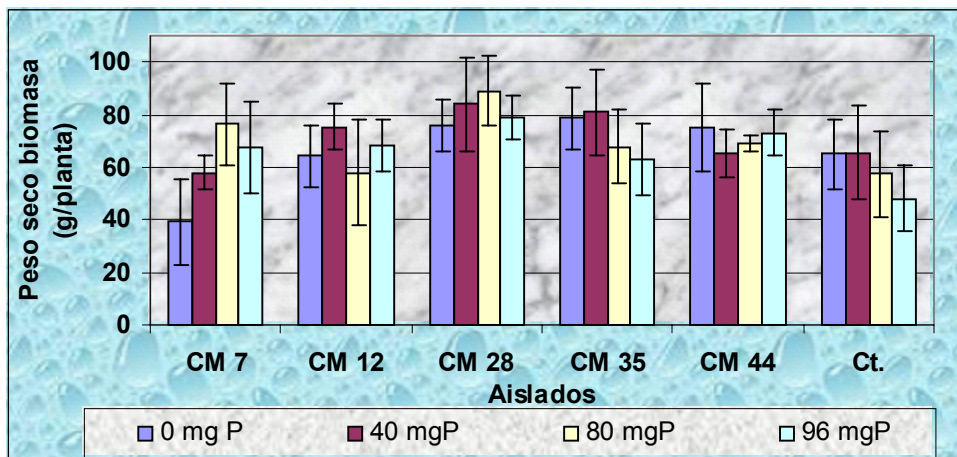


Fig. 15. Producción de paja por el cultivo de maíz inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 3: P-Maíz/*Trichoderma*).

En relación a la producción de biomasa total, paja y raíz (Fig. 16), se pudo observar que los tratamientos inoculados con los aislados de *Trichoderma* spp. CM12, CM28, CM35 y CM44, presentaron una producción de biomasa mayor vs. el control, aunque este último a dosis de fertilización P mayores (80 y 96 mg P) acumuló una biomasa menor. Por otro lado, el tratamiento aislado CM28 + 80 mg P, presentó una acumulación de biomasa mayor, aunque el aislado

CM35 presentó valores de biomasa similares con la dosis 40 mg P equivalente al 50 % de la dosis P recomendada para maíz en la región.



* Biomasa total: paja y raíz.

Fig. 16. Producción de biomasa por el cultivo de maíz inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 3: P-Maíz/*Trichoderma*).

VIII. 3.2. Variables fósforo (P)

En el cuadro 5 y fig. 17 se muestran los datos de P total y P fertilizante en la paja de maíz. Los datos de estas variables no mostraron diferencia estadística significativa en relación a la absorción de P total en todos los tratamientos.

Cuadro 5. Rendimiento de P total y P fertilizante en paja de maíz del exp. 3: P-Maíz/*Trichoderma*.

Aislado	Dosis P (mg)	RFT (mgP)	RPF (mg)	ERF (%)
CM7	0	20.58 ± 4.02	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	40	20.71 ± 3.08	14.80 ± 3.08	37.01 ± 7.70
	80	29.15 ± 6.99	23.24 ± 6.99	29.05 ± 8.73
	96	31.15 ± 13.58	25.24 ± 13.58	26.29 ± 14.15
CM12	0	25.40 ± 5.67	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	40	29.74 ± 1.83	23.83 ± 1.83	59.57 ± 4.58
	80	18.58 ± 11.24	12.67 ± 11.24	15.84 ± 14.05
	96	17.82 ± 1.95	11.91 ± 1.95	12.40 ± 2.03
CM28	0	24.03 ± 5.21	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	40	24.06 ± 5.90	18.15 ± 5.90	45.38 ± 14.74
	80	29.89 ± 10.40	23.98 ± 10.40	29.98 ± 13.00
	96	33.42 ± 2.92	27.51 ± 2.92	28.66 ± 3.04
CM35	0	27.87 ± 8.41	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	40	20.43 ± 3.19	14.52 ± 3.19	36.29 ± 7.99
	80	19.96 ± 0.81	14.05 ± 0.81	17.56 ± 1.02
	96	28.63 ± 5.46	22.72 ± 5.46	23.67 ± 5.69
CM44	0	31.57 ± 7.90	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	40	27.35 ± 2.89	21.44 ± 2.89	53.59 ± 7.22
	80	29.26 ± 4.99	23.35 ± 4.99	29.19 ± 6.23
	96	25.76 ± 8.13	19.85 ± 8.13	20.68 ± 8.46
Cts.	0	32.27 ± 10.20	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	40	35.49 ± 4.53	29.58 ± 4.53	73.94 ± 11.33
	80	28.90 ± 6.44	22.99 ± 6.44	28.74 ± 8.05
	96	24.17 ± 5.60	18.26 ± 5.60	19.02 ± 5.83
	CV (%)	24.210	30.390	29.350
Aislado (A)	F	1.430	1.789	3.061
	P>F	0.230	0.132	0.018
Dosis fertilizante (B)	F	0.151	0.045	148.865
	P>F	0.928	0.987	0.000
AxB	F	1.689	1.904	4.047
	P>F	0.086	0.046	0.000
DMS (p≤ 0.05)	A	Ns	Ns	5.974
	B	Ns	Ns	4.878
	AxB	Ns	10.413	11.947

RFT: Rendimiento P total; RPF: Rendimiento P fertilizante; %ERF: Eficiencia de uso P fertilizante.

En lo referente a la absorción de P total podemos observar en la fig. 17 que los tratamientos evaluados con los diferentes aislados de *Trichoderma* spp. con las dosis P de 0 y 40 mg P fueron menores comparados con el control, y las plantas de maíz inoculadas con el aislado CM12 fue las que presentaron una absorción de P total mayor, aunque en las dosis de fertilización P de 80 y 96 mg P sus índices de recuperación fueron inferiores al control sin inocular. Se observó un comportamiento de los aislados CM7 y CM28 de una absorción de P total mayor en altas dosis de fertilización P vs. el tratamiento sin inocular.

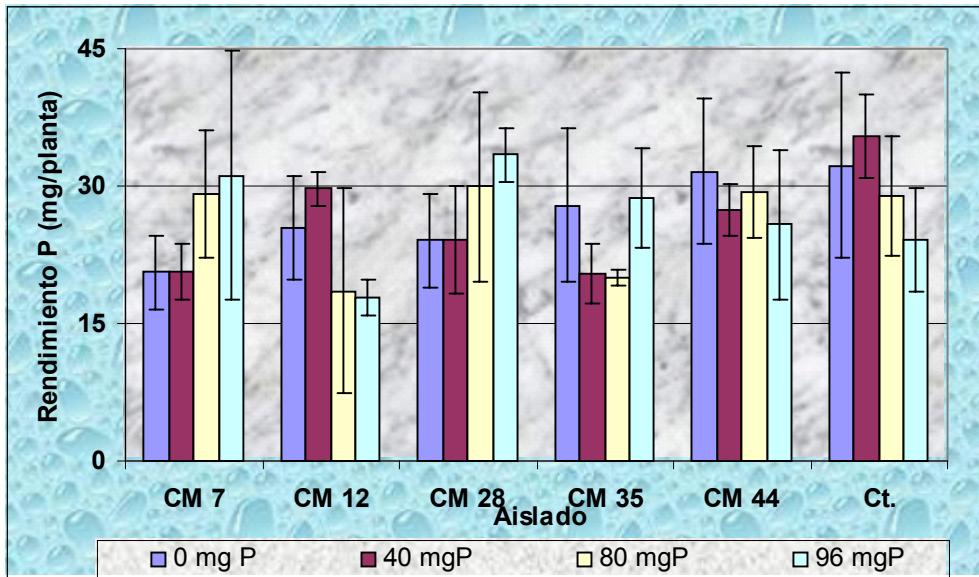


Fig. 17. Absorción de P total por paja del cultivo de maíz inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 3: P-Maíz/*Trichoderma*).

En la fig. 18 se muestran los valores de la cantidad de P fertilizante. En términos generales, se observaron valores de P fertilizante en la paja de maíz en los tratamientos inoculados con los aislados de *Trichoderma* spp. vs. los controles sin inocular, a excepción de los tratamientos inoculados con los aislados CM7 y CM28 con las dosis P de 80 y 96 mg P que corresponde a 100 y 120 % de la dosis P recomendada que presentaron una cantidad de P fertilizante ligeramente mayor vs. el control. Los tratamientos inoculados con el aislado CM44 presentaron los valores de P fertilizante más estables, y con la dosis P de 40 mg P presentaron una absorción P fertilizante mayor vs. la dosis de 80 mg P.

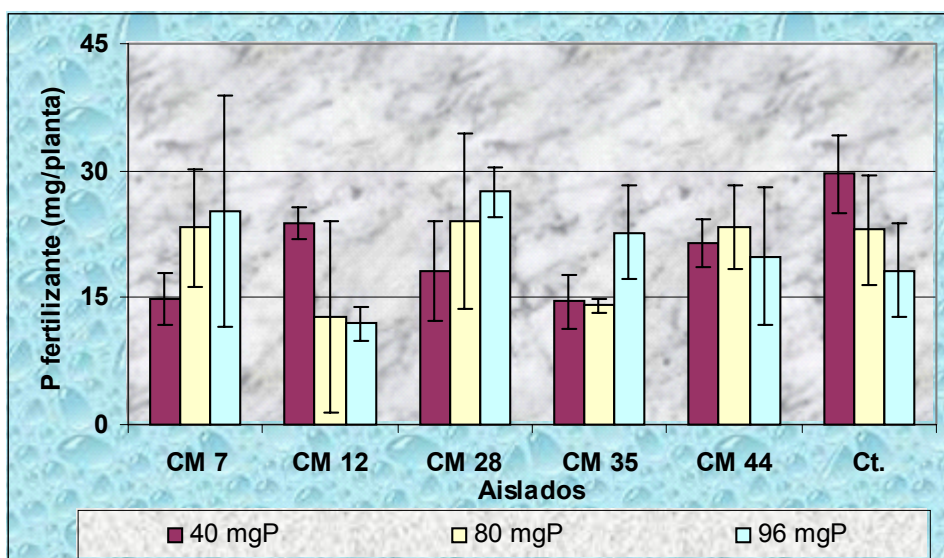


Fig. 18. Absorción de P fertilizante por paja del cultivo de maíz inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 3: P-Maíz/*Trichoderma*).

La eficiencia de P fertilizante determinada por el método de la diferencia se muestra en la fig. 19. Se observaron diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) para los tres factores de análisis (aislados de *Trichoderma* spp., dosis de fertilización P e interacción aislado-fertilización P). En términos generales, la eficiencia de P fertilizante fue baja, aunque los tratamientos inoculados fueron superiores al control sobresaliendo los tratamientos inoculados con los aislados CM12 y CM44. Es decir, los tratamientos inoculados presentaron un mejor aprovechamiento del P fertilizante, aunque fue interesante observar que el control sin inocular con la dosis de 40 mg P presentó el valor de eficiencia de P fertilizante mayor, incluso con dosis de P mayores.

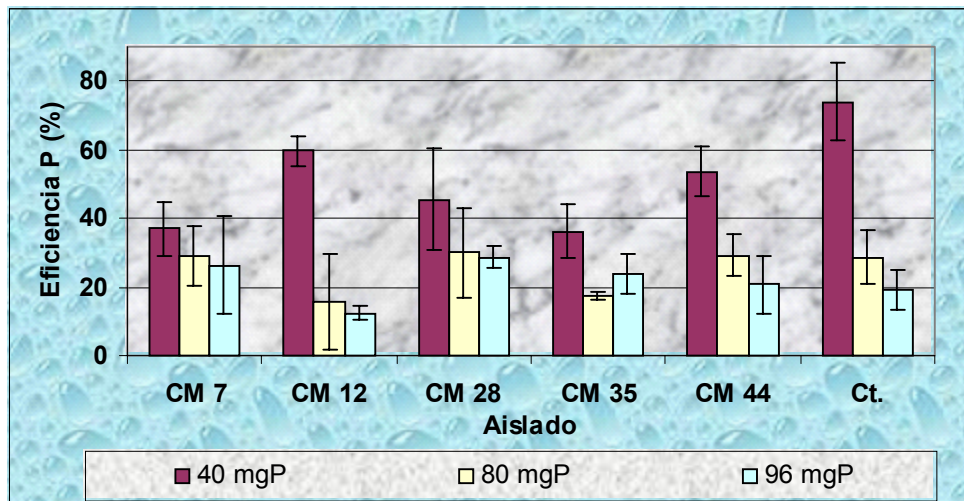


Fig. 19. Eficiencia de absorción de P fertilizante por el cultivo de maíz inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 3: P-Maíz/*Trichoderma*).

VIII. 4. Exp. 2: ¹⁵N-Ajo/*Trichoderma*

VIII. 4.1. Variables biológicas

En el cuadro 6 y fig. 20 se muestran los valores de raíz, paja, y bulbo, así como la biomasa total de la planta de ajo del exp. 2: ¹⁵N-Ajo/*Trichoderma*. Los valores de estas variables mostraron diferencia estadística significativa ($p \leq 0.05$) para los factores en estudio (aislado de *Trichoderma* spp., dosis de fertilización P y la interacción aislado-fertilización P).

Cuadro 6. Rendimiento de raíz, paja, bulbo y biomasa en el cultivo de ajo del exp. 2: ¹⁵N-Ajo/*Trichoderma*.

	Aislado	Dosis N (mg)	Peso Seco Raíz (g)		Peso Seco Paja (g)		Peso Seco Bulbo (g)		Peso Seco Biomasa Total (g)	
	CM7	0	4.19 ± 0.38	4.36 ± 0.19	10.55 ± 2.17	24.77 ± 1.31				
		120	7.88 ± 1.72	4.03 ± 0.08	14.69 ± 1.03	28.17 ± 0.98				
		240	5.48 ± 0.98	5.13 ± 0.52	14.17 ± 1.77	28.88 ± 2.13				
		288	9.49 ± 0.93	5.63 ± 1.29	4.23 ± 1.26	18.62 ± 0.60				
	CM12	0	4.93 ± 0.63	2.66 ± 0.49	8.35 ± 0.91	20.17 ± 2.28				
		120	9.40 ± 0.81	3.54 ± 0.64	19.96 ± 1.66	32.34 ± 2.49				
		240	5.37 ± 1.73	4.39 ± 0.18	18.68 ± 1.30	31.47 ± 2.13				
		288	6.99 ± 1.57	3.92 ± 0.89	25.46 ± 3.92	39.15 ± 4.43				
	CM28	0	6.75 ± 1.49	2.95 ± 0.39	8.39 ± 1.02	18.10 ± 2.75				
		120	5.76 ± 0.50	3.11 ± 0.71	8.16 ± 0.81	17.04 ± 1.39				
		240	9.11 ± 1.74	5.13 ± 0.53	16.08 ± 1.16	30.33 ± 2.87				
		288	7.65 ± 1.88	3.91 ± 0.56	12.23 ± 0.82	23.79 ± 1.98				
	CM35	0	2.66 ± 0.88	2.76 ± 0.16	8.23 ± 1.08	13.65 ± 1.50				
		120	8.75 ± 1.75	4.45 ± 0.41	14.65 ± 0.96	27.86 ± 0.69				
		240	6.02 ± 0.50	5.60 ± 0.57	14.70 ± 0.93	26.32 ± 0.95				
		288	9.36 ± 1.17	5.87 ± 0.44	19.83 ± 0.56	35.06 ± 1.93				
	CM44	0	10.11 ± 1.04	4.17 ± 0.54	9.92 ± 0.33	24.20 ± 1.72				
		120	6.14 ± 1.65	3.89 ± 0.44	11.25 ± 1.96	21.28 ± 0.57				
		240	8.38 ± 0.93	6.79 ± 0.46	13.68 ± 2.64	28.85 ± 1.90				
		288	7.19 ± 2.04	3.32 ± 0.65	17.69 ± 0.91	28.20 ± 2.56				
	Cts.	0	6.90 ± 2.11	3.20 ± 0.79	9.07 ± 1.29	19.17 ± 1.86				
		120	10.57 ± 0.96	3.58 ± 0.52	11.45 ± 1.00	25.60 ± 1.82				
		240	8.67 ± 0.48	5.12 ± 0.31	16.04 ± 1.14	29.83 ± 1.93				
		288	6.18 ± 1.09	3.17 ± 0.72	14.88 ± 2.35	24.24 ± 1.36				
		CV (%)	18.15	13.76	11.70	7.86				
Aislado (A)	F	2.86	9.09	33.45	22.73					
	P>F	0.02	0.00	0.00	0.00					
Dosis fertilizante (B)	F	9.61	40.82	69.61	75.66					
	P>F	0.00	0.00	0.00	0.00					
AXB	F	7.75	4.93	18.29	19.04					
	P>F	0.00	0.00	0.00	0.00					
DMS ($p \leq 0.05$)	A	1.08	0.47	1.29	1.66					
	B	0.88	0.39	1.05	1.36					
	AxB	2.16	0.95	2.58	3.32					

En la fig. 20 se muestran los valores de producción de raíz de ajo. Se puede observar que los tratamientos inoculados con los aislados CM7, CM12 y CM35 con 240 mg N, la producción de raíz fue baja en tanto que los tratamientos con 120 mg N presentaron una producción de raíz mayor. En términos de esta variable, destaca el aislado CM44, ya que la producción de

raíz máxima se obtuvo cuando no se aplicó N, siendo superior a los tratamientos con dosis N mayores. Algunos tratamientos disminuyeron la capacidad de crecimiento radical, ya que tuvieron un crecimiento de raíz inferior al testigo absoluto por ejemplo el tratamiento aislado CM35+0 mg N.

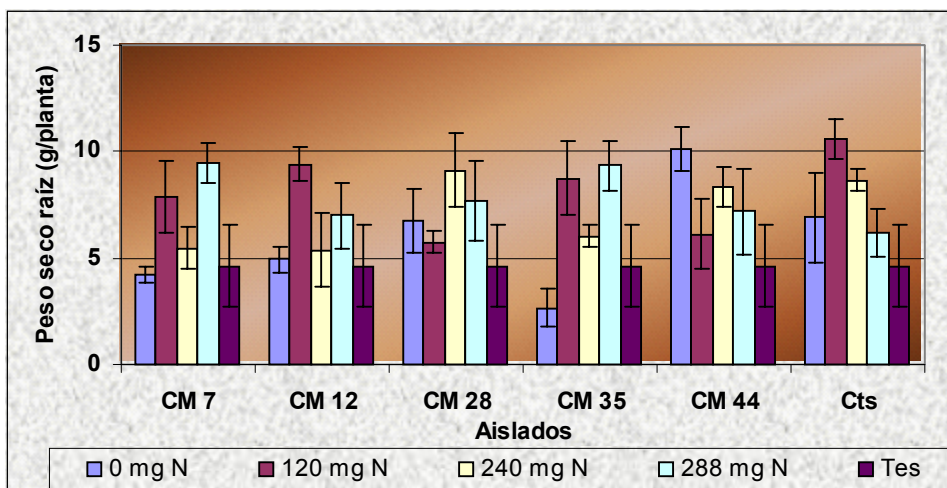


Fig. 20. Producción de raíz por el cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ^{15}N -Ajo/*Trichoderma*).

En relación a la producción de paja de ajo (Fig. 21), en términos generales, los aislados de *Trichoderma* spp. que ofrecen mas ventajas fueron CM7 y CM44. Destacando los tratamientos con los aislados CM44, CM35, CM7 y CM28 + 240 mg N (100 % de la dosis N recomendada para ajo en la región). Contrario a lo observado en el cultivo de maíz, los tratamientos inoculados con CM7 y CM44 pero no fertilizados presentaron una producción de paja mayor vs. control sin inocular.

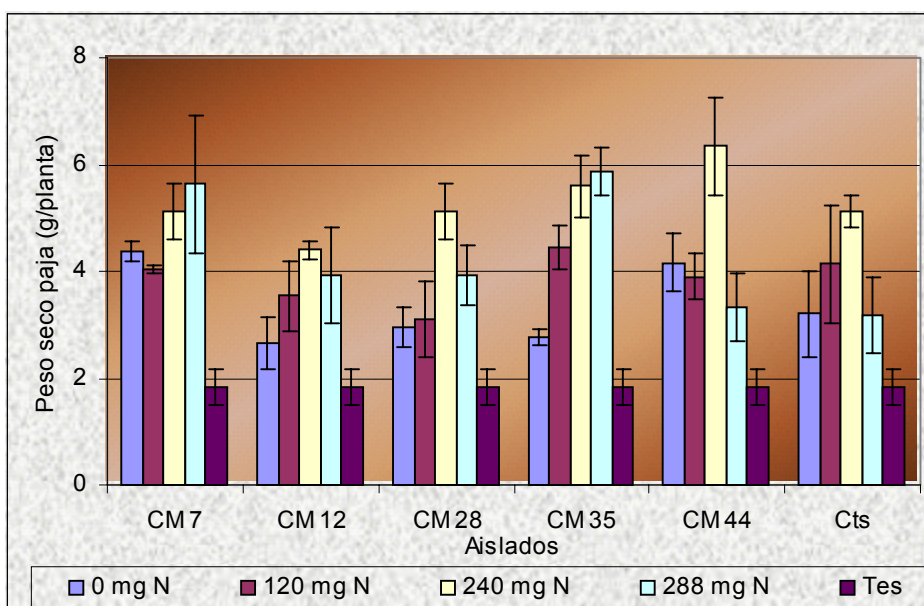


Fig. 21. Producción de paja por el cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ^{15}N -Ajo/*Trichoderma*).

En la fig. 22 se puede observar como la tendencia en los tratamientos inoculados a aumentar la producción de bulbo al incrementar la dosis de fertilización N, excepto para la dosis de 288 mg N, donde se aprecia un descenso en la producción de bulbo. Asimismo, se pudo observar que todos los tratamientos inoculados exceptuando el tratamiento inoculado con el aislado CM44 incrementaron la producción de bulbo en aproximadamente 50 % y en algunos casos en 100 % (CM12 y CM35 con la dosis de 288 mg N) vs. el tratamiento testigo (no inoculado y no fertilizado). Por otro lado, a dosis de fertilización N menores se observó que los aislados CM12 y CM35 presentaron ganancia de bulbo mayor, destacando el tratamiento con el aislado CM12 con mayor producción de bulbo, caso contrario con el aislado CM28 que presentó la producción de bulbo menor, aun en las dosis de fertilización de 120 y 240 mg N, con valores muy similares al testigo absoluto.

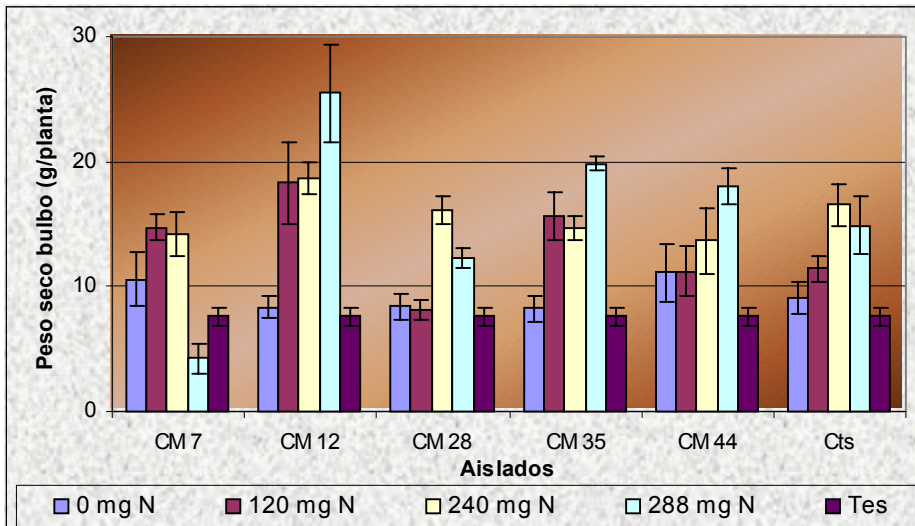


Fig. 22. Producción de bulbo por el cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ^{15}N -Ajo/*Trichoderma*).

Los datos de biomasa total del cultivo de ajo se presentan en la fig. 23, es importante remarcar que a diferencia del cultivo de maíz encontramos que en el caso de biomasa se presentó una relación entre producción de biomasa mayor y producción de bulbo mayor. En el caso del tratamiento inoculado con el aislado CM12 y fertilizado con 120 mg N, presentó valores de biomasa similares al tratamiento fertilizado con 240 mg N, similar comportamiento el aislado CM35. Cabe destacar que utilizando el aislado de *Trichoderma* spp. con una dosis de fertilizante de 120 mg N (50 % de la dosis N para ajo en la región), se obtienen ganancias en peso de biomasa iguales estadísticamente al tratamiento fertilizado con el 240 mg N.

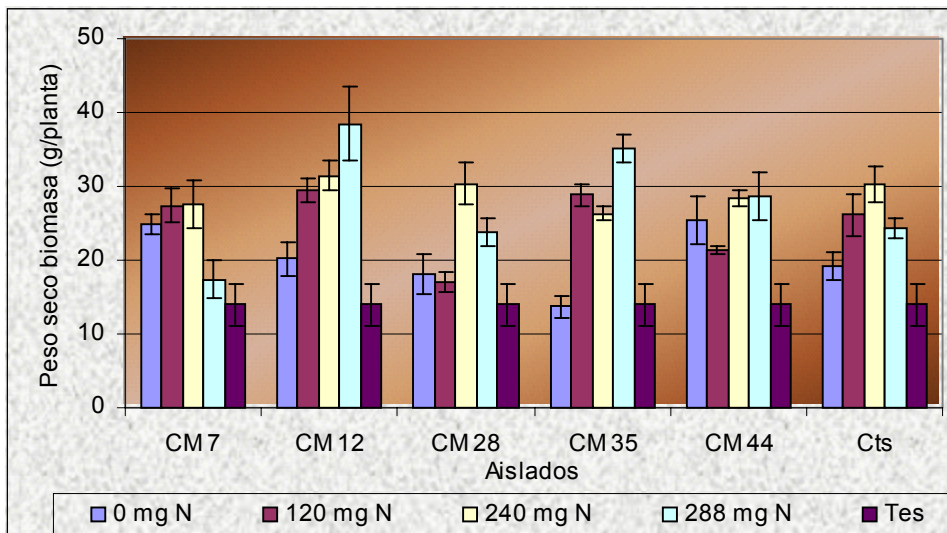


Fig. 23. Producción de biomasa por el cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ^{15}N -Ajo/*Trichoderma*).

En la fig. 24, se muestran los datos de colonización de las raíces de ajo por *Trichoderma* spp. En los diferentes tratamientos el aislado CM12 mostró una alta colonización sobre todo en la dosis de 120 mg N, en tanto que en la dosis de 240 mg. N., su colonización fue la menor en comparación a todos los otros tratamientos. Un caso similar se presentó con el aislado CM35 pero en la dosis de 120 mg N quizás esto se reflejó en el crecimiento y no tanto porque el aislado no tenga la capacidad de asociarse con la raíz de ajo para promover el crecimiento, ya que en la producción de biomasa total se observó que el aislado CM35 generó una alta producción. El testigo absoluto mostró baja colonización.

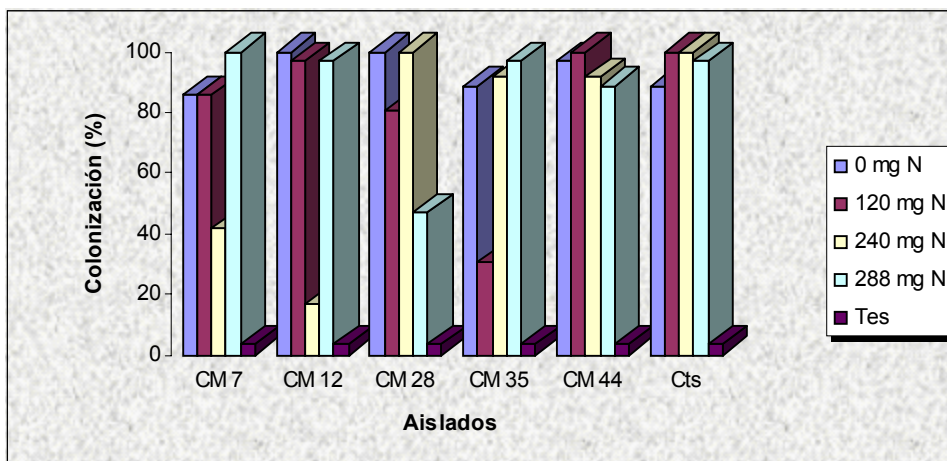


Fig. 24. Colonización de raíz del cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ^{15}N -ajo/*Trichoderma*).

VIII. 4.2. Variables nitrógeno (Nt) e isotópicas

En el cuadro 7 y fig. 25 se muestran los datos de N total y N fertilizante por la planta ajo. Las variables N total, N fertilizante y la eficiencia del uso del N fertilizante no presentaron diferencias estadísticas significativas para la interacción aislado de *Trichoderma* spp.-fertilización N.

Cuadro 7. Rendimiento de N total y N fertilizante en paja en el cultivo de ajo del exp. 2:
¹⁵N-Ajo/*Trichoderma*.

	Aislado	Dosis N (mg)	% NddF Paja	RNT Paja	RNF Paja	%EUF Paja
		0	0.00 ± 0.00	29.34 ± 4.77	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	CM7	120	24.37 ± 4.51	30.80 ± 7.79	7.67 ± 3.25	6.39 ± 2.71
		240	32.73 ± 2.95	45.74 ± 12.12	15.21 ± 5.33	6.34 ± 2.22
		288	41.00 ± 4.80	60.55 ± 17.12	25.33 ± 9.46	8.79 ± 3.29
		0	0.00 ± 0.00	18.89 ± 5.06	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	CM12	120	20.73 ± 2.46	23.97 ± 1.93	4.99 ± 0.90	4.15 ± 0.75
		240	33.63 ± 0.85	38.70 ± 11.85	13.04 ± 4.19	5.44 ± 1.75
		288	35.47 ± 1.85	37.25 ± 17.19	13.42 ± 6.96	4.66 ± 2.42
		0	0.00 ± 0.00	22.07 ± 4.62	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	CM28	120	25.40 ± 4.40	20.61 ± 5.22	5.08 ± 0.39	4.24 ± 0.32
		240	29.83 ± 0.35	57.31 ± 16.37	17.10 ± 4.89	7.13 ± 2.04
		288	49.03 ± 1.69	61.25 ± 14.20	29.89 ± 6.02	10.38 ± 2.09
		0	0.00 ± 0.00	15.65 ± 3.27	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	CM35	120	27.47 ± 8.20	33.08 ± 10.32	8.57 ± 0.63	7.14 ± 0.53
		240	39.40 ± 4.70	42.96 ± 5.93	16.75 ± 0.57	6.98 ± 0.24
		288	36.20 ± 2.93	63.90 ± 15.64	23.36 ± 6.96	8.11 ± 2.42
		0	0.00 ± 0.00	18.60 ± 0.78	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	CM44	120	20.90 ± 0.40	25.32 ± 4.32	5.28 ± 0.82	4.40 ± 0.68
		240	38.30 ± 0.00	41.94 ± 4.31	16.06 ± 1.65	6.69 ± 0.69
		288	52.77 ± 3.44	46.32 ± 5.94	24.31 ± 1.67	8.44 ± 0.58
		0	0.00 ± 0.00	26.32 ± 4.88	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	Cts.	120	17.63 ± 1.05	25.40 ± 4.07	4.50 ± 0.92	3.75 ± 0.76
		240	36.43 ± 8.05	44.65 ± 2.96	16.40 ± 4.46	6.84 ± 1.86
		288	43.77 ± 8.28	40.43 ± 4.13	17.90 ± 5.19	6.22 ± 1.80
		CV (%)	14.680	25.240	35.040	31.550
Aislado (A)		F	3.045	2.919	2.930	3.305
		P>F	0.018	0.022	0.022	0.012
Dosis fertilizante (B)		F	462.590	43.429	119.476	90.219
		P>F	0.000	0.000	0.000	0.000
AxB		F	4.399	1.615	1.634	1.661
		P>F	0.000	0.105	0.100	0.093
DMS (p<0.05)		A	3.042	7.498	3.178	1.254
		B	2.483	6.122	2.595	1.024
		AxB	6.083	Ns	Ns	Ns

%NddF: N derivado de fertilizante; RNT: Rendimiento de N total; RNF: Rendimiento de N fertilizante; %EUF: Eficiencia de uso de N fertilizante.

En la fig. 25 vemos como los tratamientos inoculados con los aislados CM7 y CM28 presentaron la cantidad de N mayor con las dosis de fertilización de 240 y 288 mg N. A dosis de N bajas se obtuvieron buenos resultados, los tratamientos inoculados con los aislados CM7 y CM35 obtuvieron mas N con la dosis de 120 mg N.

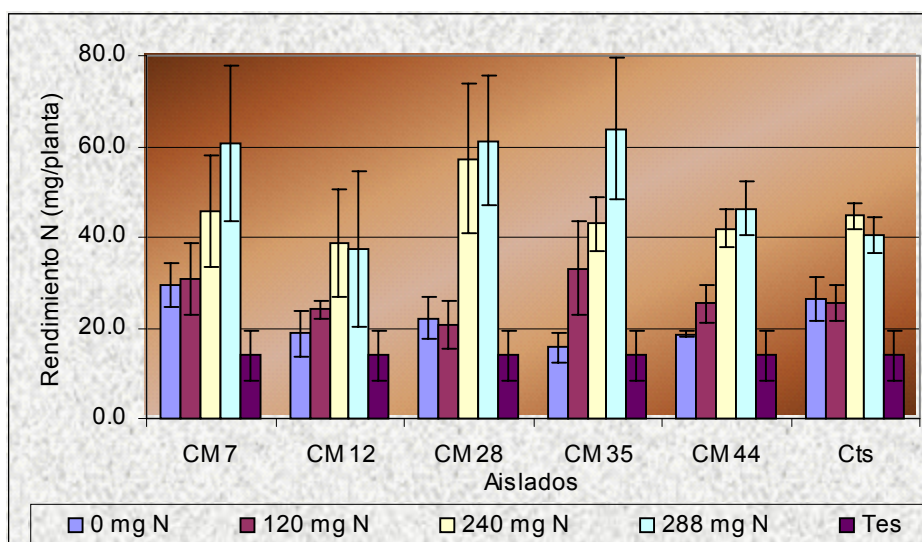


Fig. 25. Absorción de N total por paja del cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ^{15}N -Ajo/*Trichoderma*).

Para el caso de N fertilizante tenemos un comportamiento similar en todos los tratamientos (Fig. 26). El aprovechamiento de N aumentó conforme se aumenta la dosis de fertilizante N. Con la dosis de 120 mg N todos los tratamientos inoculados con los diferentes aislados incluyendo el contraste presentaron un comportamiento similar en términos de N fertilizante. En todos los tratamientos inoculados, la absorción de N fertilizante mayor se observó con la dosis de 288 mg N. El tratamiento inoculado con el aislado CM28 duplicó la absorción de N fertilizante vs. 120 mg N y el control sin inocular.

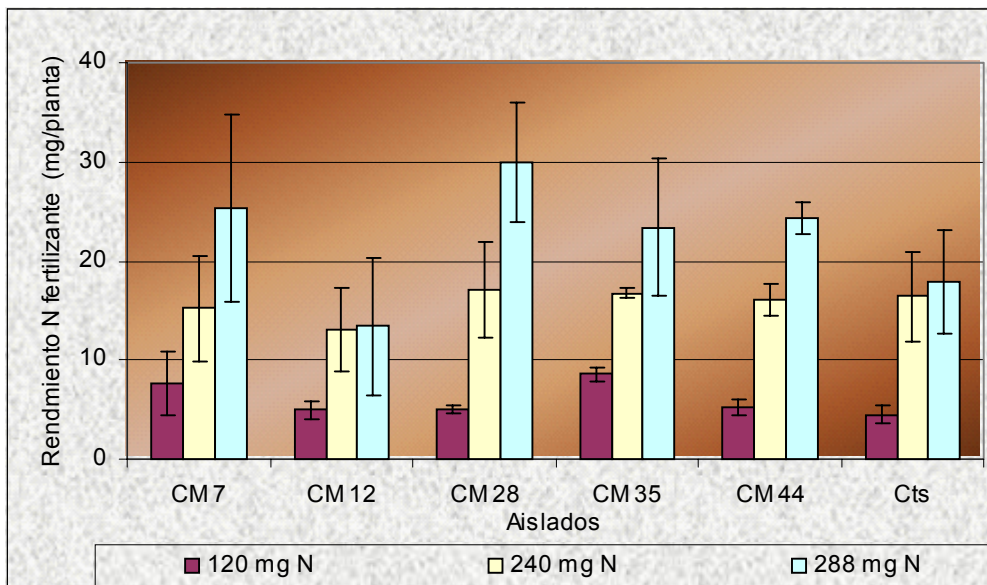


Fig. 26. Absorción de N fertilizante por paja del cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ¹⁵N-Ajo/*Trichoderma*).

Por otro lado, en términos de la eficiencia de uso de N fertilizante, los tratamientos inoculados con los aislados CM7 y CM35 son las que mayor cantidad de nitrógeno tuvieron en la dosis mas baja (120 mg N), el contraste fue el que menor asimilación del fertilizante tuvo en esta misma concentración (Fig. 27). El aislado CM12 presenta similitud en todos sus tratamientos lo cual nos indica que por mucho fertilizante que le aplicáramos no aumentaría mucho su asimilación. Siendo esta máxima a dosis de 240 mg N., (100% de la dosis recomendada), pero no muy grande comparándola con la correspondiente al 50 y al 120 % de la dosis recomendada.

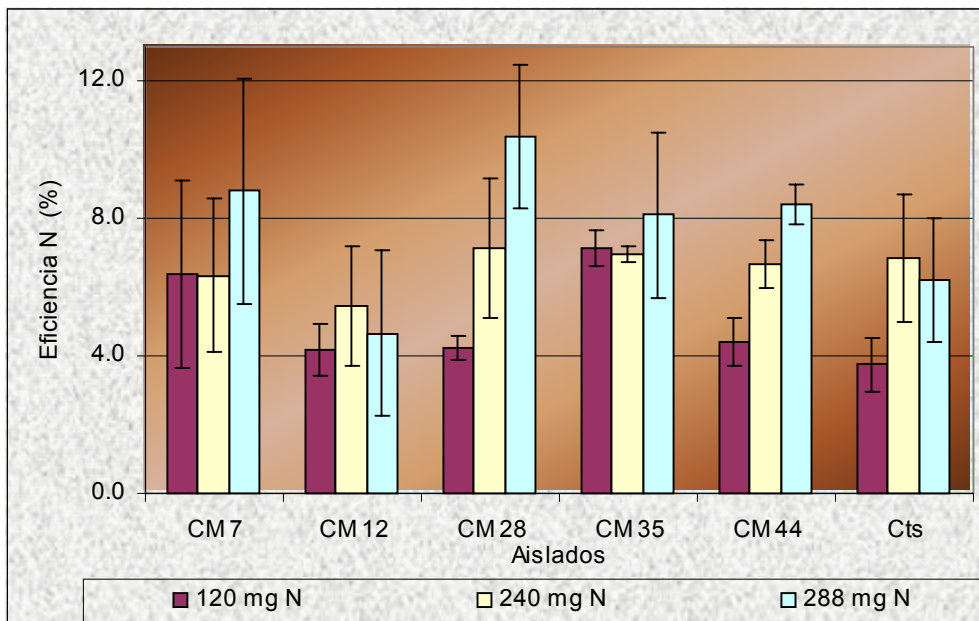


Fig. 27. Eficiencia de N fertilizante por paja del cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ^{15}N -Ajo/*Trichoderma*).

Con referencia al bulbo, podemos encontrar que en todos los tratamientos si se encontraron diferencias significativas tanto a nivel de aislado, dosis de fertilizante como la interacción aislado- dosis, los datos se concentran en el cuadro 8.

Cuadro 8. Rendimiento de N total y N fertilizante en bulbo del cultivo de ajo del exp. 2:
¹⁵N-Ajo/*Trichoderma*.

Aislado	Dosis N (mg)	% NddF Bulbo		RNT Bulbo		RNF Bulbo		%EUF Bulbo	
CM7	0	0.00 ±	0.00	103.49 ±	47.79	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
	120	26.93 ±	3.81	204.95 ±	4.58	55.27 ±	8.50	46.06 ±	7.09
	240	34.70 ±	6.00	193.80 ±	13.32	66.95 ±	9.63	27.90 ±	4.01
	288	40.80 ±	5.80	46.38 ±	13.43	18.46 ±	2.91	6.41 ±	1.01
CM12	0	0.00 ±	0.00	93.98 ±	3.94	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
	120	26.83 ±	1.65	275.79 ±	4.65	73.96 ±	3.35	61.63 ±	2.79
	240	34.13 ±	0.95	225.46 ±	23.74	76.89 ±	7.39	32.04 ±	3.08
	288	37.90 ±	2.76	421.11 ±	24.01	159.33 ±	9.76	55.32 ±	3.39
CM28	0	0.00 ±	0.00	131.68 ±	7.45	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
	120	13.23 ±	0.91	105.98 ±	22.93	13.94 ±	2.66	11.62 ±	2.22
	240	36.40 ±	6.73	250.98 ±	41.87	92.78 ±	31.63	38.66 ±	13.18
	288	48.40 ±	1.73	306.22 ±	39.86	147.79 ±	14.23	51.32 ±	4.94
CM35	0	0.00 ±	0.00	104.16 ±	8.39	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
	120	22.50 ±	3.70	262.48 ±	22.94	58.97 ±	9.91	49.14 ±	8.26
	240	32.50 ±	10.19	273.91 ±	25.66	87.85 ±	22.77	36.60 ±	9.49
	288	37.13 ±	1.07	356.10 ±	22.59	132.18 ±	7.78	45.89 ±	2.70
CM44	0	0.00 ±	0.00	166.13 ±	10.85	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
	120	31.20 ±	11.97	167.84 ±	11.38	51.58 ±	17.85	21.49 ±	7.44
	240	52.23 ±	1.45	365.93 ±	28.70	191.38 ±	20.06	66.45 ±	6.97
	288	0.00 ±	0.00	154.79 ±	20.51	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
Cts.	0	16.83 ±	2.36	122.85 ±	13.93	20.48 ±	1.01	17.06 ±	0.84
	120	36.90 ±	6.60	491.80 ±	42.19	179.67 ±	17.85	74.86 ±	7.44
	240	38.20 ±	1.97	196.71 ±	16.97	75.37 ±	10.28	26.17 ±	3.57
	288	0.00 ±	0.00	46.95 ±	11.31	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
	CV (%)	18.500		11.200		18.650		18.340	
Aislado (A)	F	1.516		40.066		18.580		14.791	
	P>F	0.202		0.000		0.000		0.000	
Dosis fertilizante (B)	F	294.826		164.699		358.271		241.220	
	P>F	0.000		0.000		0.000		0.000	
AXB	F	3.233		53.250		39.560		37.436	
	P>F	0.001		0.000		0.000		0.000	
DMS (p≤0.05)	A	Ns		19.819		9.838		4.398	
	B	3.064		16.182		8.033		3.591	
	AxB	7.504		39.638		19.676		8.795	

%NddF. N derivado de fertilizante; RNT: Rendimiento de N total; RNF: Rendimiento de N fertilizante; %EUF: Eficiencia de uso de N fertilizante.

Con referencia a la absorción de nitrógeno en el bulbo de ajo, se aprecia fig. 28. como los aislados CM44 y CM7 son las que presentan menor cantidad de nitrógeno en la planta; el contraste presenta un crecimiento que podríamos pensar que quizá hubo un error en la medición de este parámetro ya que es un crecimiento que no corresponde con los valores posteriores ni los inferiores de fertilización. Al tener los valores consecutivos de fertilización hay cierta tendencia a que el valor anterior o posterior no difiere mucho del anterior, veamos por ejemplo el caso del aislado CM28 en las dosis de 0 y 120 mg. N., la cantidad de nitrógeno contenida en el tratamiento de 240 mg. N., es similar al de 288 mg. N. Ahora bien comparando los tratamientos de los aislados que

mejor se comportaron son los aislados CM12 y CM35, con un nivel aceptable en dosis de 120 mg. N., aunque cabe mencionar que la dosis de 120 mg. N., es la que da mejores resultados en los aislados CM12, CM28, CM35 y CM44, siendo El aislado CM12 el que mas nitrógeno absorbió.

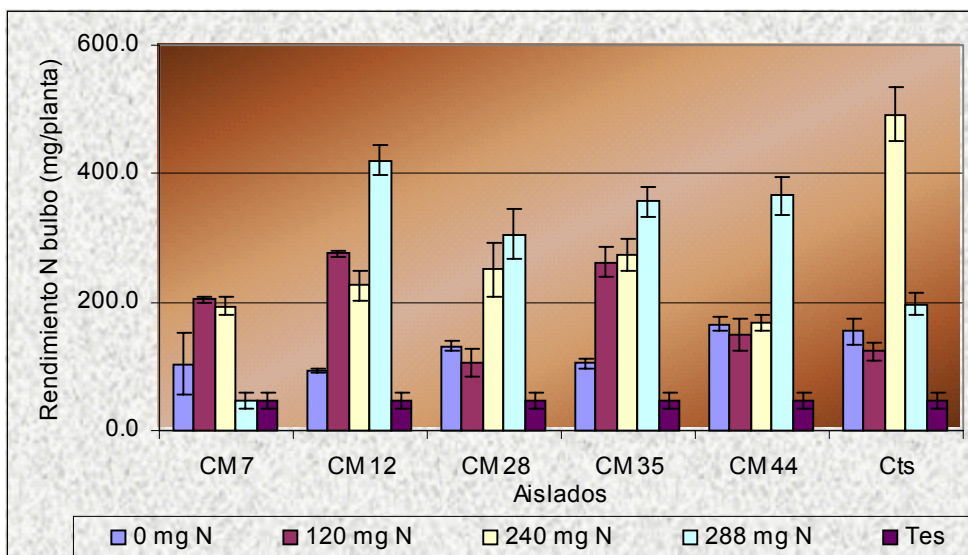


Fig. 28. Absorción de N total por el bulbo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ^{15}N -Ajo/*Trichoderma*).

El comportamiento del nitrógeno proveniente del fertilizante en el bulbo de ajo se resume en la fig. 29 que a diferencia del maíz aquí la cantidad de nitrógeno aumenta conforme se incrementa la aplicación de nitrógeno. La dosis de nitrógeno 288 mg. N., en la mayoría de los tratamientos fue donde la planta obtuvo la mejor absorción de nitrógeno proveniente del fertilizante. En el caso del aislado CM28 es el que obtuvo menor cantidad nitrógeno en la planta que es lo que no buscaríamos ya que necesitaríamos que las plantas absorbieran más nitrógeno del fertilizante en esta dosis de nitrógeno.

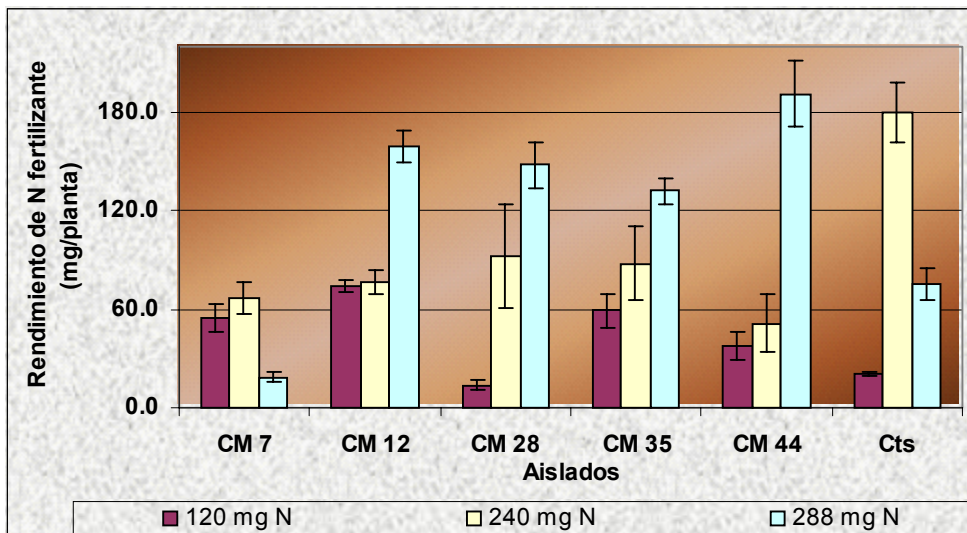


Fig. 29. Absorción de N fertilizante por bulbo del cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ^{15}N -Ajo/*Trichoderma*).

En referencia a que aislado es el que mejor se asocia a la planta de ajo para mejorar sus condiciones de absorción de fertilizantes nitrogenados. Vemos en la fig. 30 que los valores con un carácter más ligado a la realidad. Que aislado hace que absorba mejor el fertilizante tomando en cuenta la dosis aplicada. Vemos como los aislados CM12 y CM35 son los que mejor se asocian, ya que la dosis de 120 mg. N. son los que mayor absorción presentan en dosis menores al 100 %, el aislado CM44 supera la absorción pero con una dosis muy mayor de nitrógeno (288 mg. N.).

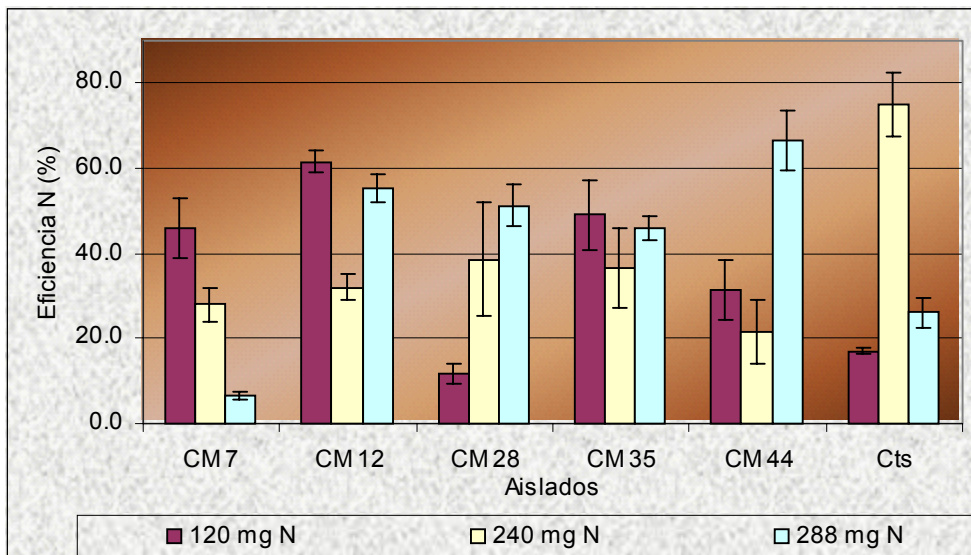


Fig. 30. Eficiencia de N fertilizante por paja del cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización N (exp. 2: ¹⁵N-Ajo/*Trichoderma*).

VIII. 5. Exp. 4: P-Ajo/*Trichoderma*

VIII. 5.1. Variables biológicas.

En el rendimiento de las plantas de ajo se vio cierta influencia positiva en las asociaciones de el hongo con la planta se muestran los valores en el cuadro 9. En este se concentran los datos de crecimiento de ajo; en el experimento de fósforo puede verse como en el caso de raíz no se encuentran diferencias significativas en el factor de dosis de fertilización.

Cuadro 9. Rendimiento de Raíz, paja, bulbo y biomasa total del exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*.

	Aislado	Dosis P (mg)	Peso Seco Raíz (g)		Peso Seco Paja (g)		Peso seco Bulbo (g)		Peso Seco Biomasa Total (g)	
	CM7	0	9.86 ±	1.71	7.12 ±	0.24	14.50 ±	0.84	31.48 ±	2.20
		40	9.45 ±	0.53	3.46 ±	0.81	10.46 ±	0.94	23.38 ±	0.71
		80	9.58 ±	0.88	3.82 ±	1.01	20.31 ±	1.53	33.71 ±	2.23
		96	8.76 ±	0.94	2.54 ±	0.50	14.41 ±	2.14	25.71 ±	3.56
	CM12	0	9.16 ±	1.81	3.76 ±	0.71	11.97 ±	2.65	24.89 ±	4.79
		40	8.84 ±	0.45	4.83 ±	0.70	13.72 ±	2.43	27.39 ±	3.22
		80	8.40 ±	1.54	3.91 ±	0.29	15.82 ±	1.43	28.13 ±	2.63
		96	9.77 ±	0.99	3.27 ±	1.19	8.01 ±	1.84	21.05 ±	0.33
	CM28	0	9.18 ±	2.32	5.74 ±	0.60	16.43 ±	1.86	31.36 ±	4.55
		40	8.69 ±	0.91	4.92 ±	0.55	9.13 ±	0.66	22.74 ±	0.62
		80	8.68 ±	1.62	6.03 ±	0.61	13.63 ±	2.37	28.35 ±	3.58
		96	10.23 ±	1.02	4.19 ±	0.34	5.77 ±	1.23	20.19 ±	0.52
	CM35	0	7.62 ±	1.25	3.06 ±	0.21	6.91 ±	1.19	17.59 ±	1.15
		40	8.74 ±	1.65	3.38 ±	1.26	15.13 ±	2.33	27.25 ±	1.04
		80	10.71 ±	0.43	4.97 ±	0.59	14.59 ±	3.62	30.28 ±	2.82
		96	5.25 ±	0.38	3.60 ±	0.60	7.95 ±	0.61	16.80 ±	0.10
	CM44	0	3.95 ±	0.70	3.45 ±	0.42	11.47 ±	0.96	18.87 ±	1.51
		40	5.87 ±	0.96	3.08 ±	0.34	14.49 ±	2.62	23.45 ±	1.69
		80	6.62 ±	1.06	2.75 ±	0.22	20.51 ±	2.05	29.87 ±	3.18
		96	6.25 ±	0.93	3.32 ±	0.22	13.88 ±	1.52	23.45 ±	1.88
	Cts.	0	9.36 ±	1.50	3.77 ±	0.43	15.33 ±	0.91	28.46 ±	1.77
		40	4.63 ±	1.20	3.45 ±	0.26	14.39 ±	2.05	22.47 ±	0.82
		80	4.69 ±	0.74	2.71 ±	0.23	11.99 ±	1.22	19.39 ±	1.73
		96	7.61 ±	0.66	2.84 ±	0.44	12.92 ±	1.69	23.37 ±	2.35
		CV (%)	14.92		15.51		14.12		9.63	
Aislado (A)	F	20.173		19.147		10.817		8.733		
	P>F	0.000		0.000		0.000		0.000		
Dosis fertilizante (B)	F	0.579		11.877		28.543		22.589		
	P>F	0.636		0.000		0.000		0.000		
AXB	F	5.396		7.676		9.319		10.038		
	P>F	0.000		0.000		0.000		0.000		
DMS (p≤0.05)	A	0.980		0.500		1.517		1.978		
	B	Ns		0.407		1.239		1.615		
	AxB	1.961		0.998		3.034		3.955		

Comparando el crecimiento de biomasa de raíz en la fig. 31 se puede observar el aumento de biomasa, vemos como los tratamientos pertenecientes al contraste y los del aislado CM44 son los que peor se comportaron. Los demás tratamientos tuvieron un comportamiento similar en todas sus dosis de nitrógeno lo cual nos indicaría que si hay una influencia que no esta muy

influida con mas fertilización y que de seguirle agregando fertilizante esperaríamos los mismos resultados.

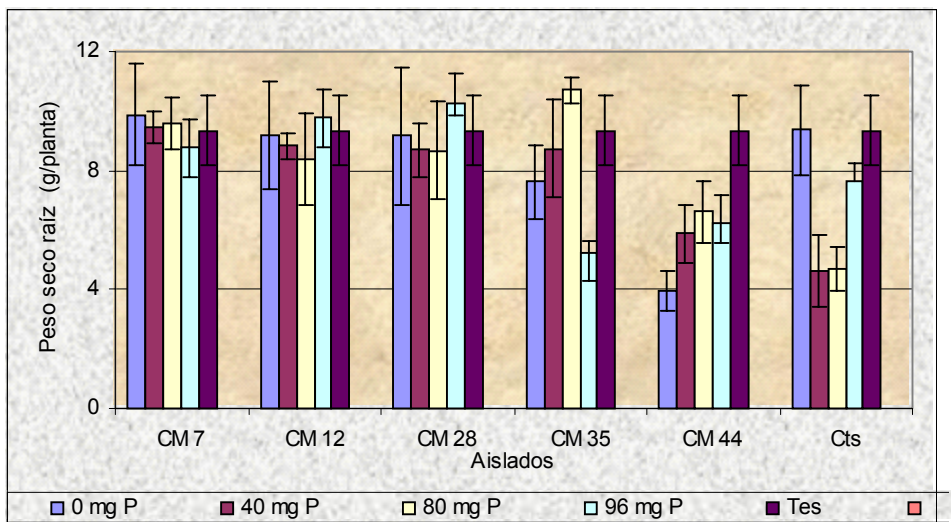


Fig. 31. Producción de raíz por el cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*).

Se estudiaron todas las variables en el desarrollo de las plantas, aunque también diversos tratamientos destacamos que aquí se utilizó un testigo absoluto al cual no se le agregó nada de fertilizante ni *Trichoderma*. fig. 32 se observa como este testigo crece por debajo de todos nuestros tratamientos incluso por las de cero fertilizante aunque inoculada con la el hongo *Trichoderma*. Los tratamientos con los aislados rebasan al contraste a excepción de los aislados CM44 y CM7, vemos como el aislado CM28 tiene el mejor comportamiento, ya que no hay mucha variación en las dosis de fósforo 0, 40 y 80 mg P. no así para el caso de la dosis de 96mg P. donde si se aprecia un descenso en la formación de biomasa.

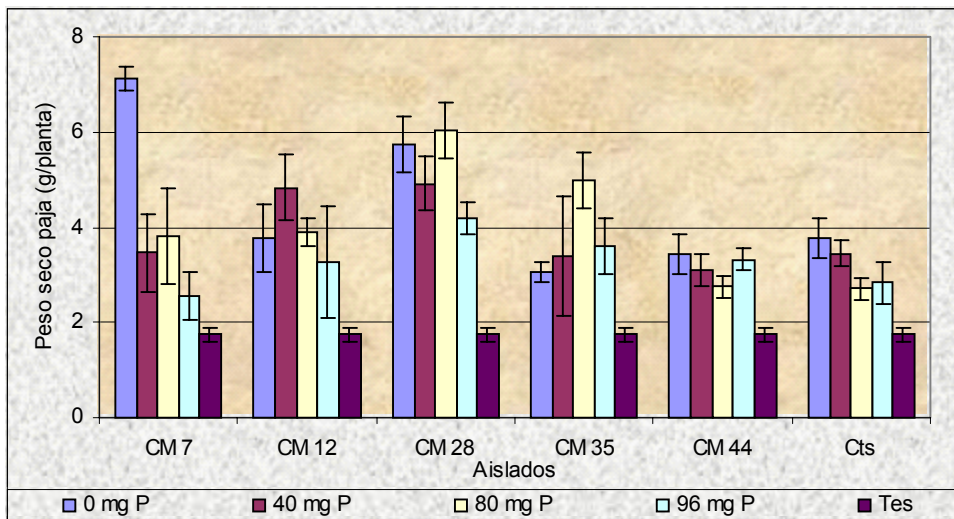


Fig. 32. Producción de paja por el cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*).

En la planta de ajo el bulbo es el producto comercial y de importancia para el agricultor, en esta parte de la planta él se da cuenta si en realidad un método de mejoramiento le sirve o no. En la fig. 33 presentamos el aumento de biomasa del bulbo, sus comportamientos no se pueden ver como estándares como en el caso de maíz que los aislados se comportaban de una manera similar, sino que aquí se presentan muchas diferencias por ejemplo el aislado CM28 presentó mucho mas aumento en el tratamiento en el cual no se le aplicó nitrógeno que en aquellos en los que se les aplicó. Ahora bien el aislado CM35 obtuvo buenos resultados cuando se fertilizó con 40 mg. P., siendo esto importante ya que es la aplicación menor de fertilizante que aplicamos. Los aislados CM7 y CM44, en dosis de 80 mg P. es donde se encontró mayor crecimiento.

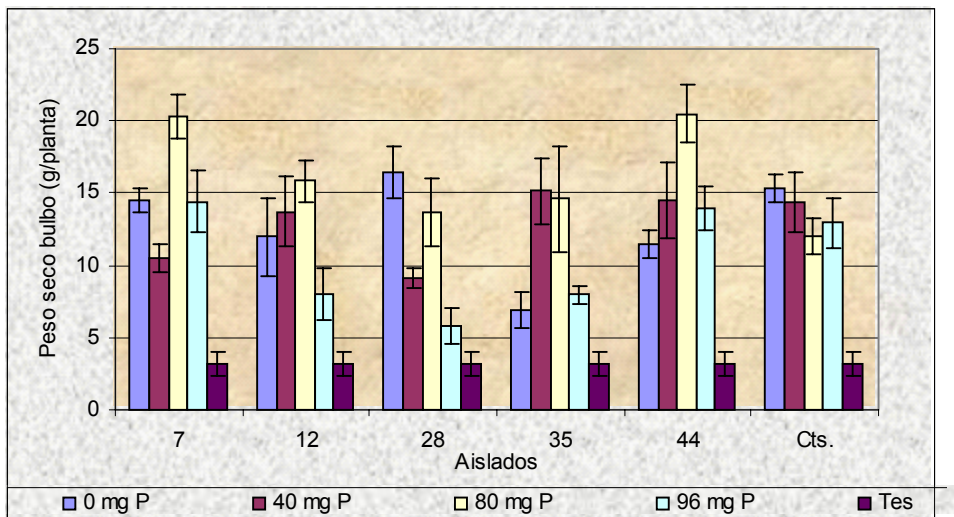


Fig. 33. Producción de bulbo por el cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*).

En un panorama general los aislados CM7 y CM28 son los que mejor se comportan, ya que a dosis bajas de fósforo tienden a comportarse de una mejor manera, para que la planta pueda adaptarse a este estrés de falta de este nutriente. Esto se puede ver en la fig. 32 en donde no se aplicó fósforo tiene mayor crecimiento el aislado CM12 es importante también observar este comportamiento, ya que aunque se aumente la cantidad de fósforo la planta ya no crece mas en tanto que a dosis de 96 mg P si hay un descenso en crecimiento. Lo que sugiere que a esta dosis la asociación se torna parásita o inhibidora o que el mismo elemento se estaría volviendo tóxico por el exceso.

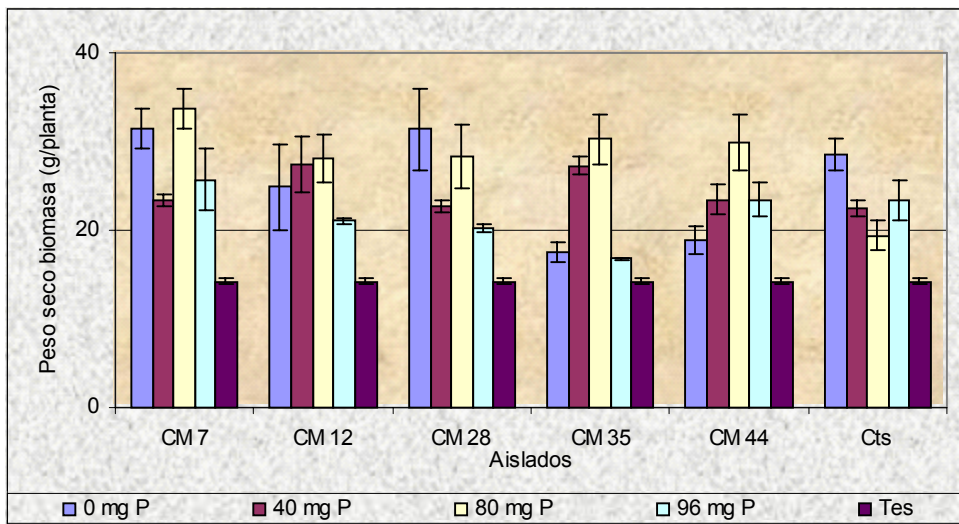


Fig. 34. Producción de biomasa total por el cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*).

VIII. 5.1. Variables fósforo.

Dentro de nuestro estudio de las interacciones *Trichoderma* y sus asociaciones con ajo pudimos determinar varios factores que nos permiten medir la eficacia de la absorción de fósforo (exp. 4 fósforo en ajo) los cuales pueden verse en el cuadro 10., el cual muestra los análisis estadísticos.

Cuadro 10. Rendimiento de P total y P fertilizante en paja de ajo del exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*.

	Aislado	Dosis N (mg)	RFT Paja (mgP)		RPF Paja (mg)		ERF Paja (%)	
	CM7	0	2.80 ±	0.57	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
		40	1.74 ±	0.25	1.70 ±	0.25	4.25 ±	0.61
		80	2.08 ±	0.21	2.04 ±	0.21	2.55 ±	0.26
		96	1.53 ±	0.46	1.49 ±	0.46	1.55 ±	0.48
	CM1	0	2.38 ±	0.55	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
		40	2.79 ±	0.61	2.75 ±	0.61	6.88 ±	1.53
		80	2.70 ±	0.91	2.66 ±	0.91	3.33 ±	1.13
		96	1.56 ±	0.65	1.52 ±	0.65	1.59 ±	0.68
	CM2	0	3.50 ±	0.71	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
		40	2.78 ±	0.60	2.74 ±	0.60	6.85 ±	1.50
		80	2.32 ±	0.23	2.28 ±	0.23	2.84 ±	0.28
		96	1.86 ±	0.15	1.81 ±	0.15	1.89 ±	0.15
	CM3	0	1.35 ±	0.40	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
		40	1.17 ±	0.81	1.13 ±	0.81	2.82 ±	2.02
		80	2.36 ±	0.96	2.32 ±	0.96	2.90 ±	1.21
		96	1.60 ±	0.58	1.56 ±	0.58	1.63 ±	0.60
	CM4	0	1.49 ±	0.32	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
		40	1.27 ±	0.41	1.23 ±	0.41	3.07 ±	1.02
		80	1.02 ±	0.30	0.98 ±	0.30	1.22 ±	0.37
		96	1.26 ±	0.77	1.22 ±	0.77	1.27 ±	0.81
	Cts.	0	1.57 ±	0.52	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
		40	1.53 ±	0.48	1.49 ±	0.48	3.71 ±	1.19
		80	1.04 ±	0.57	1.00 ±	0.57	1.25 ±	0.72
		96	1.62 ±	0.46	1.58 ±	0.46	1.65 ±	0.47
		CV (%)	29.740		30.210		33.400	
Aislado (A)		F	10.967		6.182		7.191	
		P>F	0.000		0.000		0.000	
Dosis fertilizante (B)		F	3.545		57.754		92.854	
		P>F	0.021		0.000		0.000	
AXB		F	2.141		2.354		3.510	
		P>F	0.023		0.013		0.001	
DMS (p≤ 0.05)		A	0.461		0.408		0.691	
		B	0.377		0.333		0.565	
		AxB	0.923		0.815		1.383	

RPT: Rendimiento P total; RPF: Rendimiento P fertilizante; %EPF: Eficiencia de P fertilizante.

El comportamiento del fósforo total en las muestras de paja de ajo fig 35, indicarían como los tratamientos con los aislados CM12 y CM28 son los que presentan mayor cantidad de fósforo en niveles de 0 y 40 mg. P., el contraste tiene una menor cantidad de fósforo que la mayoría de los tratamientos a excepción del aislado CM44 y en algunas dosis del aislado CM35.

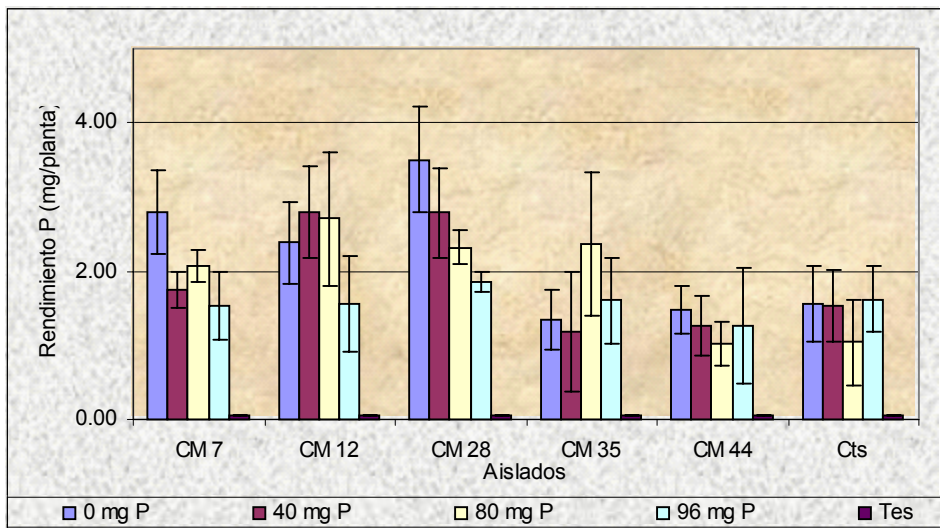


Fig. 35. Absorción de P total por el paja del cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-Maíz/*Trichoderma*).

Restando el fósforo que proviene del suelo y que obtuvimos como resultado de evaluar el fósforo contenido en una planta la cual no se fertilizo ni tampoco inoculo con *Trichoderma*, podemos obtener de una manera indirecta el fertilizante que proviene del fertilizante (fig. 36)., podemos observar como los tratamientos con los aislados CM12 y CM28 son los que presentan mayor cantidad de fósforo en la planta, sobre todo para la dosis de 40 mg. P. El aislado CM35 es bueno solo cuando se aplican dosis de 80 mg. P., ya que supera por casi el 100% de la cantidad de fósforo presente en la misma dosis del contraste. El aislado CM44 no presenta ninguna ventaja, además de funcionar como un parásito de las plantas, ya que tiene menor cantidad de fósforo que las plantas contraste.

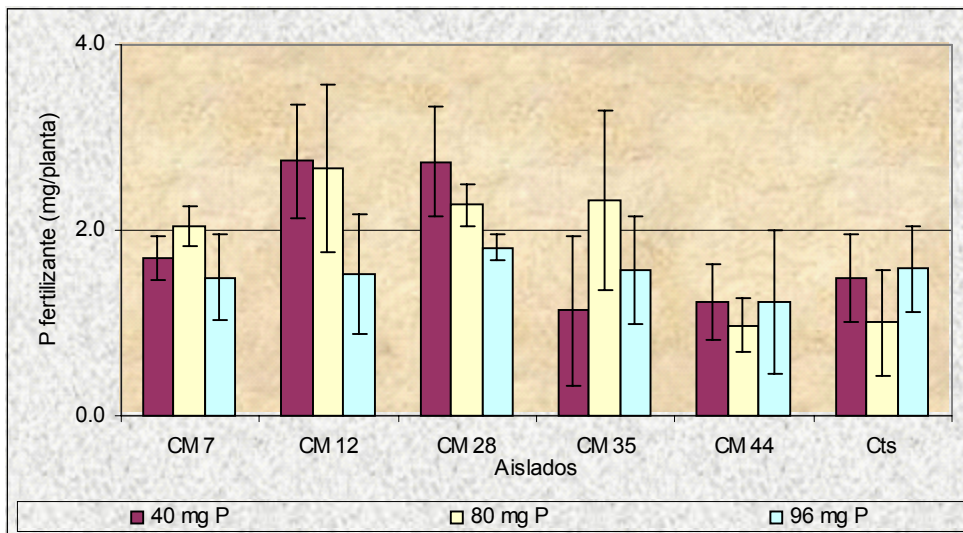


Fig. 36. Absorción de P fertilizante por paja del cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*).

En la mayoría de los tratamientos incluyendo el contraste la dosis de 40 mg. P. es donde se presenta la mayor eficiencia de recuperación de fósforo fig. 37, en los tratamientos con los aislados CM12 y CM28 la recuperación es del 7% en tanto que en el contraste a esta misma dosis es menor que el 4% lo que nos indica que la aplicación de estos dos aislados influyen positivamente en la toma de fósforo por la planta. Los aislados CM35 y CM44, no ofrecen muchas ventajas en comparación con el contraste incluso en algunos casos hay menor cantidad de fósforo en la planta.

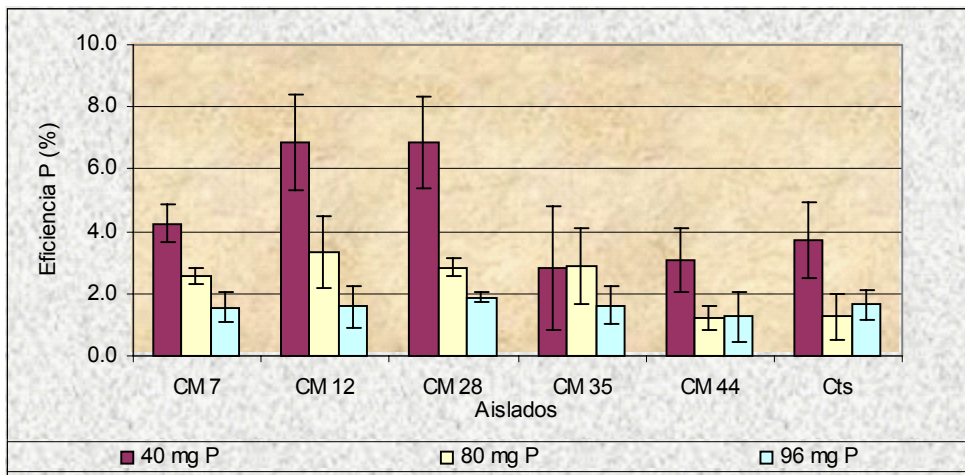


Fig. 37. Eficiencia de absorción de P fertilizante por paja en cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*).

En este trabajo se ha ido agrupando los diferentes datos que se fueron generando durante el desarrollo de experimento, los datos referentes a fósforo en bulbo se agrupan en el cuadro 11, incluyendo el análisis estadístico. En la recuperación de fertilizante las últimas dos columnas se encuentran diferencias significativas solo en la dosis de fertilización no así en lo referente a la inoculación con la cepa o en la interacción cepa dosis de fertilizante.

Cuadro 11. Rendimiento de P total y P fertilizante en bulbo de ajo del exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*.

Aislado	Dosis N (mg)	RFT Bulbo (mgP)		P Fer Bulbo (mg)		ERF Bulbo (%)	
CM17	0	2.33 ±	0.25	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
	40	1.50 ±	0.62	1.46 ±	0.62	3.65 ±	1.55
	80	1.91 ±	0.72	1.87 ±	0.72	2.34 ±	0.90
	96	1.19 ±	0.60	1.15 ±	0.60	1.20 ±	0.62
CM12	0	1.59 ±	0.19	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
	40	2.14 ±	0.17	2.10 ±	0.17	5.24 ±	0.42
	80	1.47 ±	0.13	1.43 ±	0.13	1.79 ±	0.16
	96	1.16 ±	0.65	1.12 ±	0.65	1.17 ±	0.67
CM28	0	2.71 ±	1.14	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
	40	1.86 ±	0.33	1.82 ±	0.33	4.56 ±	0.82
	80	2.08 ±	0.34	2.04 ±	0.34	2.55 ±	0.43
	96	2.08 ±	0.61	2.04 ±	0.61	2.13 ±	0.64
CM35	0	1.54 ±	0.20	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
	40	1.63 ±	0.93	1.58 ±	0.93	3.96 ±	2.33
	80	2.39 ±	0.87	2.35 ±	0.87	2.94 ±	1.08
	96	1.77 ±	0.49	1.73 ±	0.49	1.81 ±	0.51
CM44	0	1.56 ±	0.34	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
	40	1.47 ±	0.52	1.43 ±	0.52	3.58 ±	1.30
	80	1.43 ±	0.18	1.39 ±	0.18	1.74 ±	0.23
	96	1.75 ±	0.69	1.71 ±	0.69	1.78 ±	0.71
Cts.	0	2.59 ±	0.17	0.00 ±	0.00	0.00 ±	0.00
	40	1.95 ±	0.46	1.91 ±	0.46	4.77 ±	1.16
	80	1.92 ±	0.41	1.88 ±	0.41	2.35 ±	0.52
	96	1.92 ±	0.19	1.88 ±	0.19	1.96 ±	0.20
	CV (%)	29.400		30.760		32.010	
Aislado (A)	F	2.818		1.467		0.958	
	P>F	0.026		0.218		0.546	
Dosis fertilizante (B)	F	1.844		59.875		83.458	
	P>F	0.151		0.000		0.000	
AxB	F	1.320		1.084		0.883	
	P>F	0.227		0.396		0.587	
DMS (p≤0.05)	A	0.446		Ns		Ns	
	B	Ns		0.318		0.553	
	AxB	Ns		Ns		Ns	

RFT retención fósforo total; P Fer fósforo derivado del fertilizante; ERF eficiencia de reutilización de fertilizante.

En cuanto a la cantidad de fósforo total en la parte comercial de la planta de ajo que es el bulbo encontramos que el aislado CM28 influye de una manera muy positiva en el aprovechamiento de este macronutriente fig. 38, sobre todo cuando no se le aplica fertilizante. El aislado CM12 aumenta el contenido de nitrógeno total en la dosis de 40 mg. P., en este caso los aislados CM28 y CM35 en dosis de 80 mg. P., fueron mayores que el contraste en esta misma dosis.

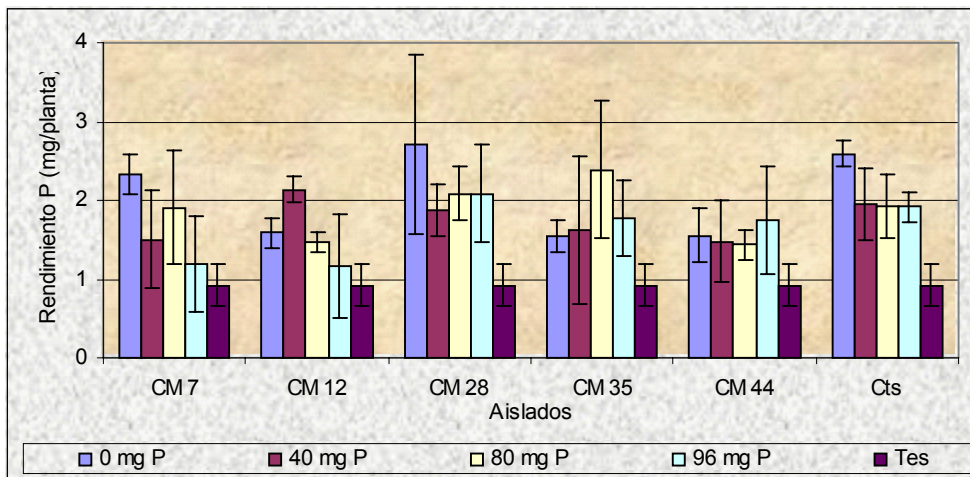


Fig. 38. Absorción de P total por bulbo del cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*).

El comportamiento del fósforo proveniente del fertilizante se representa en la fig. 39 en la cual se muestra al aislado CM12 en la dosis de menor fertilización es el tratamiento que mas fósforo capturo en esta dosis en tanto que la dosis de 80 mg. P., El aislado CM35 fue la que más fósforo obtuvo del fertilizante. Los aislados CM7 y CM44 fueron las que menor cantidad de fósforo asimilaron.

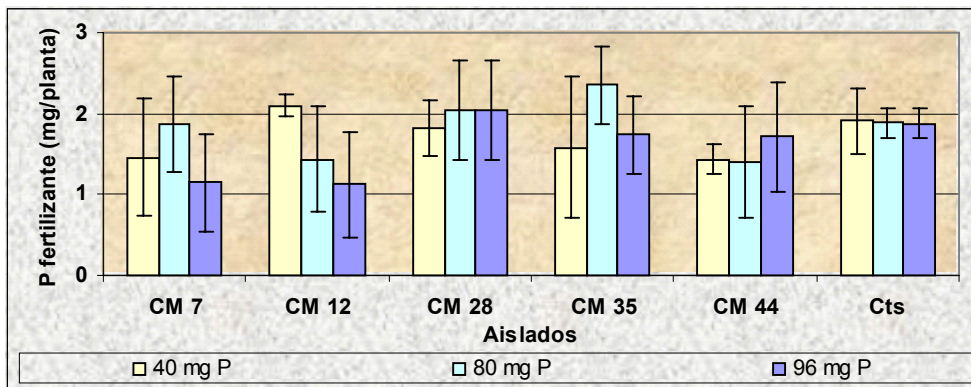


Fig. 39. Absorción de P fertilizante por bulbo del cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*).

La eficiencia de absorción de fósforo la cual no nos representa mucha diferencia en referencia al contraste fig 40, se destacan los aislados CM12 y CM28 que son los que mas asemejan su comportamiento con el contraste. El aislado CM12 es la que tiene una ventaja en comparación con el contraste a la dosis de 40 mg. P., Los tratamientos de 80 y 96 mg. P. tienen menores porcentajes de recuperación de fósforo en todos los tratamientos incluyendo el contraste.

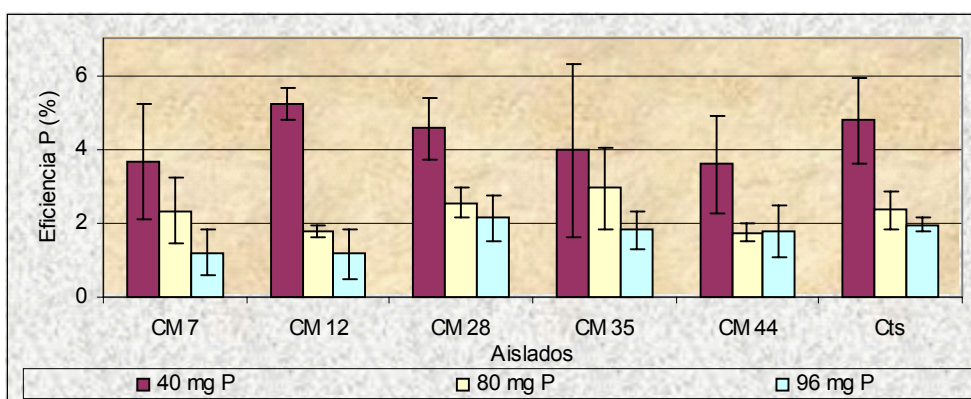


Fig. 40. Eficiencia de absorción de P fertilizante por bulbo en cultivo de ajo inoculado con *Trichoderma* spp. a diferentes dosis de fertilización P (exp. 4: P-ajo/*Trichoderma*).

IX. DISCUSIÓN

El uso de biofertilizantes como una tecnología común en la agricultura surge del análisis de los trabajos de investigación sobre la rizósfera y las interacciones suelo-microorganismo-nutrientes presentes en los sistemas agrícolas, a partir de los 60's se intensificó el uso de este tipo de fertilizantes, aunque en la década de los 30's ya comenzaban a presentarse los primeros avances en el uso de esta tecnología. En 1972 cuando se funda la International Federation of Organic Agriculture Movements (IFOAM por sus siglas en inglés) se estableció como meta que la agricultura orgánica debía aumentar la fertilidad de los suelos; aunque hasta la década de los 90's los biofertilizantes se convirtieron en punto común de las investigaciones.

Dentro de la amplia variedad de las capacidades metabólicas de los microorganismos, la promoción del crecimiento de las plantas a través de inoculantes bacterianos ha sido ampliamente estudiada, dichos microorganismos se han agrupado e identificado como rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas –PGPR por sus siglas en inglés- (Hernández *et al.*, 2001; Bonaterra *et al.*, 2003). Dentro de este grupo destacan por su importancia para fijar nitrógeno en simbiosis asociativa el género *Azospirillum* que según (Bastelaere, 1996) se aislaron originalmente de suelos de Netherland por Beijerinck en 1925 otro ejemplo es el género *Pseudomonas* (grupo fluorescente) ampliamente estudiado por su capacidad de promotor del crecimiento vegetal y antagonista de enfermedades (Hernández *et al.*, 1997; Jiménez *et al.*, 2001). Asimismo, otro ejemplo es el género *Azotobacter* con capacidad de fijación biológica de N₂ (Hasnain *et al.*, 1993).

En los ejemplos anteriores y otros generos de bacterias se han descubierto ariados mecanismos de acción para llevar a cabo el incremento en la producción de biomasa por las plantas, entre los que destacan dos grupos 1). Mecanismos directos los cuales involucran aspectos de control biológico suprimen o inhiben el crecimiento de microorganismos perjudiciales para el desarrollo de la planta, vía producción de sidéforos, antibióticos, acción de enzimas líticas o inducción de mecanismos de resistencia 2). Mecanismos indirectos a traves de metabolitos producidos, los cuales son utilizados como reguladores de crecimiento o precursores de éstos por parte de la planta. (Jiménez et al., 2001). Bonaterra *et al.*, (2003), indica que la presencia de algunos tipos de bacterias intensifica la fijación de nitrógeno y promueve la solubilización de fosfatos, además de la lucha por nutrientes entre ellos fierro y la síntesis de compuestos antibióticos. Estos ejemplos ilustran la importancia de la funcionalidad bacteriana en los agroecosistemas inoculados con estos microorganismos.

Aunque algunos géneros de hongos pueden llevar a cabo algunas funciones antes mencionadas (excepto la fijación biológica de N₂) estos han sido estudiados en menor proporción, en 1885 se define el termino micorriza para hacer referencia a la simbiosis hongo-raíz; describiéndose en estudios posteriores que mas del 95 % de las plantas terrestres presentan una asociación de este tipo, las asociaciones aumentan de forma marcada la absorción de nutrimentos como N, K, Ca, Zn, Mg, y P principalmente (Alkaraki y Clark, 1998). También se ha demostrado que derivado de la interacción hongos-plantas se activa el metabolismo de la raíz, se potencializa la fijación

biológica de N₂ mediada por bacterias se incrementa la solubilización de P en la rizósfera (Harman *et al.*, 2004; Héraux *et al.*, 2005; Sonnemann *et al.*, 2005).

Una promoción del crecimiento vegetal indirecta es cuando el inoculante tiene la función de control biológico, al disminuir las enfermedades y plagas de la planta, esta tiende a un mayor desarrollo y crecimiento al no estar en estrés por competencia con otros organismos (Bonaterra *et al.*, 2003). Los estudios en este tópico se han realizado con el uso de algunas especies de hongos del género *Glomus*, en los cuales se ha observado que la promoción del crecimiento es debido a un efecto de control de plagas (Hernández *et al.*, 2001); Por otro lado, (Celar, 2003) estudio el comportamiento de *Gliocadium roseum* y algunas especies fúngicas del género *Trichoderma* en terminos de absorción nutrimental, demostrando que compiten por las fuentes del N del suelo antes que los hongos indeseables (parásitos, causantes de enfermedades) como *Fusarium* spp., y *Rizoctonia solani*; Además (Terry y Hernández, 2005) han demostrado que el uso de hongos formadores de micorrizas arbusculares absorben nutrimentos del suelo y los transportan con mayor eficiencia a la parte aérea de las plantas lo que promueve un mayor desarrollo de las mismas. Recientemente se han realizado observaciones promisorias con algunas especies del género *Trichoderma*.

Los trabajos sobre la bondad del hongo *Trichoderma*, han versado principalmente sobre su capacidad para controlar un amplio número de enfermedades de plantas por ejemplo la pudrición blanca de raíz de ajo (De Oliveira *et al.*, 1984); pie negro de la remolacha azucarera (Monte *et al.*, 1994), también (Sanogo *et al.*, 2002). Probaron a *Trichoderma stromaticum* como un parásito de *Crinipellis pernicioso* en cacao. Sin embargo son pocos los estudios

realizados con *Trichoderma* como potenciador de la absorción de nutrimentos. Los trabajos sobre absorción nutrimental en plantas mediada por *Trichoderma* spp. (Vassey *et al.*, 2003) indican que los mecanismos por los cuales el hongo promueve el crecimiento de las plantas son similares a los que algunas especies bacterianas (*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum*, entre otros) establecen con las plantas. Por otro lado, se conoce también que la asociación de bacterias promotoras del crecimiento con hongos que forman micorrizas arbusculares promueven la solubilización del P, además de promover otros efectos como la promoción de fitohormonas que afectan a los posibles sitios de infección de enfermedades.

En este trabajo los aislados de *Trichoderma* spp. provienen de diversos campos bajo diferentes sistemas de producción, -1). Tecnificado con uso de semilla certificada, fertilizantes y plaguicidas, maquinaria, riego, etc. y 2). Tradicional con limitado uso de fertilizantes, régimen de humedad de temporal, no se utiliza mucha maquinaria y las extensiones de tierra son menores a 5 has- previamente se encontró que las poblaciones varían de acuerdo a los sistemas de producción encontrándose un número mayor en las zonas donde las practicas agrícolas eran menos tecnificadas, esto también lo demostró (Elmholt and Labouriau, 2005) quien analizó y comparó la biodiversidad de diversos campos donde se practicaba una agricultura orgánica y una agricultura tecnificada encontrando, en esta última contaba con una menor diversidad en cuanto a hongos de los géneros *Trichoderma* spp., *Penicillium* spp., y *Gliocladium roseum*.

En los trabajos realizados sobre la absorción de ^{15}N y P mediada por *Trichodema* spp. en maíz (exp. 1-4) se determinó una cantidad de N mayor en

el grano de maíz así como de P, mientras que en la paja (tallo y hojas) se encontró una cantidad menor de N y P, debido a que estos órganos remobilizan estos nutrimentos hacia los frutos, en la raíz no se cuantificó la absorción, casi la mayoría de los elementos son transportados a las partes aéreas de las plantas, aunque también se ha demostrado que a mayores dosis de P, la raíz tiende a un crecimiento mayor.

Las plantas de maíz tanto del experimento de ^{15}N (exp. 1) como del experimento de P germinaron de una manera regular desfasándose algunas plantas no mas de dos días. Sin contar al tratamiento testigo absoluto que germinó hasta 3 días después que los tratados con *Trichoderma* spp., además los tratamientos contraste (sin inocular) se observo un desfese mayor. Esto ha sido reportado en diversos trabajos, (Windham *et al.*, 1986) reportaron la influencia de *Trichoderma* en la germinación de semillas de tomate y tabaco. Otro caso es reportado por (Kleifeld *et al.*, 1992) ellos prueban diversos substratos inoculados antes de plantar las semillas de pepino con *Trichoderma harzianum*, así como dos contrastes: uno de turba y otro aplicando una suspensión conidial. Ellos observaron que los tratamientos inoculados con *Trichoderma* en turba presentaron un porcentaje de germinación mayor; similares observaciones, no reportadas, fueron obtenidas en estos experimentos, aunque dichas observaciones no fueron consistentes en los ensayos con ajo (exp. 2 y 3). Esto ultimo probablemente al tipo de “semilla” (apomíctica) y exudados del ajo que inciden directamente en el efecto benéfico de *Trichoderma* spp. sobre el desarrollo de este tipo de embriones. En este sentido se cuantificó un desfase de 5 días entre los tratamientos con *Trichoderma* spp. y de 7 días en los tratamientos contraste (sin inocular). Es

importante mencionar que el tratamiento estigo absoluto (sin inocular y sin fertilizar) fue el que generó la cantidad de biomasa menor y el que mas tiempo tardó en germinar.

En base a los datos obtenidos con el experimento de ^{15}N en el cultivo de maíz (exp. 1: ^{15}N -maíz/*Trichoderma*), el crecimiento radicular no influyó en la absorción de este nutrimento, ya que las plantas de maíz con una masa radical menor presentaban una absorción mayor de N. Por ejemplo, las plantas de maíz inoculadas el aislado de *Trichoderma* CM44 con una dosis de fertilización de 140 mg N presentaron una masa radical de 38.78 gr planta⁻¹ y un rendimiento de grano de 16.70 g planta⁻¹; caso contrario se observó para lo misma dosis de N con el aislado CM35 con una masa radical menor (28.97 g planta⁻¹), se obtuvo un rendimiento de grano de 25.80 g planta⁻¹. Estos datos demuestran que no existe una relación directa entre la biomasa de raíz y el rendimiento de grano, sugirieron que los aislados establecen un papel de extensión radicular (Hernandez *et al.*, 2001) como se ha demostrado con hongos micorrícicos que aumentan la absorción nutrimental por extensión del sistema radical a través del micelio fúngico, y no por un efecto en la planta. Probablemente para el caso del aislado CM44 si esté generando una bioestimulación a través de la producción de hormonas u otro factor de crecimiento, ya que la producción radical mayor se relacionó con una absorción de N mayor, alternativamente se puede formar una asociación entre el hongo y la planta y por lo tanto una funcionalidad de un mejor transporte hacia el interior de la planta. Esto difiere de lo reportado por (Harman, 2000), el cual vio que la inoculación con la cepa de *Trichoderma* (T-22), en plantas de maíz y frijol,

aumentando su crecimiento; en el caso de frijol concretamente incremento el rendimiento en un 123%.

En referencia a la colonización de las raíces de las plantas por los aislados de *Trichoderma* spp. se observó que el 100% de las raíces presentaba colonización. Con la idea de explicar el incremento en la absorción nutrimental se encontró que algunos aislados de *Trichoderma* spp. como el CM28 inhibía la presencia de arbusculos fúngicos en las raíces, este dato plantea la idea de que el hongo *Trichoderma* spp. entra en confrontación con los microorganismos existentes en el suelo compitiendo por un espacio en la raíz. Por otra parte, evaluando las raíces que presentaban arbusculos fúngicos, en la mayoría de los tratamientos sin fertilizar la presencia de arbusculos fue muy alta con valores superiores al 80%; mientras que a dosis de 140 mg N (dosis de N bajas) con los aislados CM28 y CM35, los valores de arbusculos cuantificados fueron casi del 50%, lo que indica que la competencia por espacios de colonización en esta dosis de fertilización N fue mayor para *Trichoderma* spp., siendo este comportamiento similar para los tratamientos de P, . En un estudio hecho con micorrizas (León *et al*, 2004) se observó que la infección por hongos de este género comienza a los 30 días después de plantar las plantas; a diferencia de *Trichoderma* que infecta de acuerdo al cultivo y sistema de inoculación. Además de eso un trabajo realizado por (Mar *et al.*, 2000) indica que la asociación de *Trichoderma harzianum* con *Glomus mosseae* y *Glomus deserticola* incrementan el peso de plantas de maíz, además de incrementar la colonización micorrícica en las plantas; estudiaron además el efecto de los diferentes inoculantes en la actividad enzimática; otro punto destacable es el estudio realizado por (Elmholt and Labouriau, 2005) que determina que la

presencia de Hongos arbusculares es mayor en zonas de cultivos tradicionales y que *Trichoderma* es mas representativo en zonas de producción tecnificada. Por ello que nos pareció interesante destacar lo sucedido en nuestro experimento en el cual se presentó alta tendencia de hongos endorizosféricos los cuales ofrecen ciertas ventajas como las descritas en el trabajo antes mencionado.

En relación al efecto de los aislados de *Trichoderma* spp. sobre el rendimiento de grano de maíz, también se observó un efecto positivo de los diferentes aislados evaluados. Las plantas de maíz inoculadas con el aislado CM35 con la dosis de fertilización de 140 mg N, equivalente al 50% de la dosis recomendada, presentaron un rendimiento de grano alto, mientras que el rendimiento de grano mayor se obtuvo en las plantas de maíz inoculadas con el aislado CM28 con la dosis de 280 mg N (100 % de la dosis recomendada). Es decir, a través de la inoculación con el aislado CM35 y 140 kg N se pudo obtener el mismo rendimiento de grano de maíz. Con respecto a la producción de biomasa, las plantas de maíz inoculadas con el aislado CM35 presentaron valores bajos, no obstante que tuvo un marcado efecto positivo en la producción de grano (parte comercial de esta planta). Con respecto a este hecho de producción el trabajo realizado por (Windham *et al.*, 1986) establecen una influencia de *Trichoderma* aunque ellos le atribuían este efecto al combate de plagas; sus aislados los probaron en tomate y tabaco, obteniendo incrementos en el peso seco de raíz y hojas del orden de 213-275 y 259-318 respectivamente. En un trabajo mas reciente realizado por (Harman, 2000), se lograron incrementos de producción de tres variedades de pimientos, pasando de 5.9, 3.6 y 5.4 kg maceta⁻¹ a 10.2, 8.6 y 9.6 kg maceta⁻¹ en plantas tratadas

con una cepa de *Trichoderma* spp. Hasta aquí se sabía que si hay una influencia de *Trichoderma* spp. al inocularlo a las plantas, pero seguía la interrogante en cuanto al ahorro para el productor al aplicar este sistema. Nosotros evaluamos el aprovechamiento de fertilizantes estos para el caso de nitrógeno empleando isótopos.

En términos de la eficiencia de absorción nutrimental por el cultivo de maíz, la cantidad de nutrimento en la planta proveniente de la dosis aplicada, destacan los tratamientos inoculados con los aislados CM12, CM35 y CM44 con la dosis de 140 mg N con el 22, 20 y 21% de recuperación en la paja del N aplicado respectivamente. Mientras que en el componente grano, el tratamiento inoculado con el aislado CM35 mas 140 mg N (50% de la dosis recomendada) recuperó 55.85%, es decir este tratamiento presentó una eficiencia de N fertilizante total de 75.85%, valor de eficiencia muy superior a lo reportado en la literatura.

Para el caso del experimento sobre absorción de P mediada por *Trichoderma* spp., en el cultivo de maíz (exp. 3: P.Maíz/*Trichoderma*) no se observaron diferencias estadísticas significativas para el factor dosis de fertilización P, aunque se observó un efecto estadístico en los tratamientos inoculados con los distintos aislados de *Trichoderma* spp. los tratamientos inoculados con el aislado CM28 presentaron un aumento de biomasa mayor, en tanto que los tratamientos inoculados con el aislado CM35 presentaron una alta producción de biomasa con la dosis 40 mg P y sin la aplicación de fertilizantes P (control) siendo superior al control sin inocular con la misma dosis de de P. En relación a la producción se observaron diferencias

significativas y cabe mencionar que por problemas de desfase del cultivo no se obtuvo un crecimiento de fruto (mazorca).

Para el caso del cultivo del ajo (exp. 2: ^{15}N -ajo/*Trichoderma*), en términos de colonización, a diferencia del cultivo de maíz, se observaron diferencias estadísticas. Fue interesante observar que el tratamiento inoculado con el aislado CM35 con la dosis del 50% de fertilización P recomendada (Tratamiento con mayor efecto positivo en el cultivo de maíz) presentó valores de colonización menores, aunque estos valores de colonización de las plantas de ajo se presentaron en los tratamientos inoculados con los aislados CM7 y CM12 con la dosis de 100% de fertilización P (80 mg P). También es importante destacar que el tratamiento control (no inoculado) presentó una colonización rizosférica alta, mientras que el tratamiento no inoculado ni fertilizado (control absoluto) presentó valores de colonización mínimos. En un trabajo realizado por (Harman, 2000) encontró que la colonización de raíces de nochebuena ocupa de un 80 a un 100%, en tanto que en un testigo sin inocular se encuentra una diversidad muy grande de hongos. (Kleifeld et al., 1992), reportan resultados similares pero en este caso se inoculó *Trichoderma harzianum* en forma de suspensión conidial en plantas de pepino. En estas plantas la colonización se presentó hasta el 12^{vo} día después del trasplante y logró colonizar el 46%. Ellos estimaron que el sustrato donde se desarrolle el hongo será influyente en la supervivencia y habilidad del hongo para desarrollarse. En este caso como se utilizó un medio selectivo pudieron identificar que realmente se tratan del hongo *Trichoderma* spp., ya que vieron su crecimiento a lo largo de toda la raíz. En nuestro caso, solo hicimos un conteo indirecto para cuantificar las raíces colonizadas por hongos

endorrizosféricos. Lo que nos da un valor aproximado de las plantas y el avance de colonización.

Estos resultados permiten inferir que los aislados de *Trichoderma* spp. evaluados presentan comportamientos diferentes para incrementar la absorción nutrimental por las plantas en función de la dosis de fertilización. Unas estimulando el crecimiento del sistema radicular como los aislados CM7, CM35 y CM44, ya que se cuantificó una cantidad mayor de raíz en la dosis de 50% de N incluso en el control sin fertilizar, mientras que los tratamientos inoculados con los aislados CM12 y CM35 sin fertilización N presentaron un efecto positivo en términos de producción de raíz. Asimismo, el mejor aislado de *Trichoderma* spp. en producción de bulbo de ajo fue el CM12 en todas las dosis de fertilización y no necesariamente en la producción de paja.

En cuanto a la eficiencia de recuperación de fertilizante medida en la paja de ajo todos los tratamientos evaluados presentaron una baja recuperación nutrimental (<10%), el aislado CM12 presentó una recuperación baja, en tanto que los tratamientos inoculados con el aislado CM35 fueron los mejores. La cantidad de N fertilizante mayor se cuantificó en el bulbo, llegando a recuperar el 60% del fertilizante aplicado en dosis de 120 mg N, el control sin inocular tuvo un comportamiento atípico en la dosis de 240 mg N, ya que en este tratamiento fue superior a todos los tratamientos inoculados. Era de esperarse que el comportamiento de la inoculación con los aislados de *Trichoderma* spp. fuera distinto en ajo que en maíz puesto que estos se aislaron de plantas de maíz, aunque era interesante hacer el contraste en el comportamiento de estos aislados en los dos cultivos. Siendo que los aislados se desarrollaron en el sistema radicular lo contamos como un sustrato el cual

tendrían a comportarse distinto los aislados, tal fue el caso de (Camprubí Estaun, 1995) el cual probó tres sustratos y la inoculación la hizo con *Trichoderma aureoviride*, siendo uno de estos el que mas ventajas le brindo a la planta.

El comportamiento de las plantas de ajo fertilizadas con P (exp. 4: P-Ajo/*Trichoderma* spp.), para el caso de la producción de raíz, el tratamiento inoculado con el aislado CM44 presentó los valores de producción radical mas bajos. Este trabajo permite ampliar las expectativas, para trabajar con los aislados mas sobresalientes a nivel de campo, ver su comportamiento y su efecto sobre la absorción de N y P. Además, a nivel básico estudiar los posibles mecanismos por los cuales estos aislados de *Trichoderma* incrementa la absorción de nutrimentos, en este trabajo se pudo observar como estos mecanismos son afectados en función a la dosis de fertilización, viéndose esto más marcado en el caso de ajo, aunque son muchos los factores que pueden influir en este comportamiento que se ve reflejado en el rendimiento; tanto colonización actividades enzimáticas, micoparasitismo de hongos párasitos, solubilización de nutrimentos, etc.

X. CONCLUSIONES

Los resultados experimentales de este trabajo permiten obtener las conclusiones siguientes:

- En el cultivo de maíz, los diferentes aislados de *Trichoderma* spp. tuvieron un efecto negativo sobre la colonización de la raíz por otros hongos del suelo (cuantificada como arbusculos fúngicos), ya que la presencia de estos disminuyó por la colonización de *Trichoderma* spp.
- En el caso de ajo se presentó una mayor colonización de raíces por *Trichoderma* spp. en dosis altas de fertilización N y P.
- Los aislados de *Trichoderma* spp. influyeron positivamente en el crecimiento de las plantas tanto de maíz (20%) como en las de ajo (15%). A excepción del aislado CM44 en el cultivo de maíz y el aislado CM7 en la planta de ajo que ejercieron una función parasítica.
- Los aislados de *Trichoderma* spp., influyeron positivamente en la absorción de nutrientes N para maíz y ajo fue de (25 al 50%) en dosis de 50% de la dosis recomendada; y para el caso de P en maíz fue similar el comportamiento que el testigo recuperando entre el 50 y el 70% del fertilizante, el comportamiento del ajo fue del (3 al 5%) superior al testigo.
- Los aislados de *Trichoderma* spp., en el caso del ajo, estimularon más el crecimiento de raíz en dosis bajas de fertilización. Mientras que para maíz, el crecimiento radicular se incrementó en los tratamientos inoculados conforme se aumentó la dosis de fertilización.

- La inoculación de los aislados de *Trichoderma* spp. al suelo fueron mas eficientes en la recuperación del fertilizante en las plantas de maíz (cultivo del cual fueron aisladas), aunque en el caso del ajo estas tuvieron un efecto menos marcado en las variables de peso de raíz, paja, fruto y biomasa. En términos de eficiencia de absorción nutrimental, los aislados de *Trichoderma* spp. más sobresalientes para el cultivo de maíz tanto para N como para P fueron el CM12 y CM35, mientras que el cultivo de ajo para N fueron CM12 y CM35 y para P fueron CM12 y CM28.

XI. BIBLIOGRAFÍA

Acevedo C., D. 2000. Lixiviación de nitrógeno en función del espaciamiento entre drenes subterráneos en la Chontalpa, Tabasco. Tesis de doctor en ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillos, Texcoco, Edo. de México. pp 214

AJODIRECTO. 2004: Empresa productora de ajo, mostrando las bondades de este. <http://www.ajodirecto.com/>

Alkaraki, G. M. and R. B. Clark 1998. Growth, mineral acquisition and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. *Journal of plant Nutrition* 21(2):263-276.

Altomare C., W. A. Norvell, T. Björkam, and E. Harman. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* rifai 1925-22. *Applied and environmental microbiology* 65(7):2926-2933.

Altieri, M. 1999. Manejo ecológico de insectos plaga, enfermedades y malezas. Agroecología bases científicas para una agricultura sustentable. Nordan. Chile. pp. 295-313.

Alvarez-Sánchez, M.E. 1996. Recuperación del fertilizante fosfatado con diferente sistema radical. Tesis de Doctor en Ciencias. Edafología. IRENAT-CP. Montecillos, México. 245 pp.

Axmann, H y F. Zapata. 1990. Isótopos estables y radiactivos. En: Hardarson, G. (Ed.). Empleo de técnicas nucleares en los estudios de la relación suelo-planta. Colección de cursos de capacitación N° 2. Organismo Internacional de Energía Atómica. Viena, Austria. pp. 9-42.

Axmann, H., Sebastianelli, A., Arrillaga, J.L. 1990. Sample preparation techniques of biological material for isotope analysis. pp. 41-53. In: Hardarson, G. (Ed.). Use of nuclear techniques in studies of soil-plant relationship. International Atomic Energy Agency. Viena, Austria. 146 pp.

Bae Y. S. and Guy R., K. 2005. Soil microbial biomass influence on growth and biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum*. *Biological control* 32:236-242.

Baker, R. 1989. Reviews, improved *Trichoderma* spp. for promoting crop productivity. *TIBTECH* 7:34-38.

Barriaga, B. Patricio, Fuente alba A, Juan y Manquiant T. Nimia. 1998. Capacidad de absorción y utilización del fósforo en genotipos de trigo. *Agro sur* 26(1):1-10

Bastelaere, E.V. 1996. Isolation and characterization of plant inducible genes in *Azospirillum brasilense* sp 7. Disertationes the agriculture 5:35-50.

Bonaterra A., L. Ruz, E. Badosa, J. Pinochet and E. Montesinos 2003. Growth promotion of Prunas rootstocks by root treatment with specific bacterial strains. Plant and soil. 255:555-569.

Cabrera, M.L. and D.E. Kissel. 1989. Review and simplification of calculating in ¹⁵N tracer studies. Fertilizer Research 20(1):11-15.

Camprubí A., C. and Estaun, V. 1995. Growth enhancement of *Citrus reshni* after inoculation with *Glomus intraradices* and *Trichoderma aureoviride* and associated effects on microbial populations and enzyme activity in potting mixes. Plant and Soil 173:233-238.

Celar, F. 2003. Competition for ammonium and nitrate forms of nitrogen between some phytopathogenic and antagonistic soil fungi. Biological control 28:19-24.

Chang, Y.-C., Chang Y.-C., Baker, R., Kleifeld, O., and Chet, I. 1986. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. Plant disease 70:145-148.

Chet, I. and Inbar, J. 1994. Biological control of fungal pathogens. Applied biochemistry and biotechnology 48:37-43.

Collins, H.P., P.E. Rasmussen, and C.L. Douglas Jr. 1992. Crop rotation and residue management effects on soil carbon and microbial dynamics. Soil Sci. Soc. Am. J. 56:783-788.

De Oliveira Ventúran, L., Margarida de M., B., and A. Chaer B. 1984. Control of white rot f garlic by antagonistic fungi under controlled enviromental conditions. Can. J. Microbiol. 30:884-889.

Dekker, M. 1999. Hand book of agriculture. Idea books S.A. Barcelona, pp 768.

Domínguez V., A. 1979. Tratado de fertilización. 2a. edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 613.

Elmholt Susanne and Rodrigo Labouriau. 2005. Fungi in Danish soil under organic and conentional farming. Agriculture Ecosystems and environment. 107:65-73.

Esposito, E. and Dasilva, M. 1998. Systematics and enviromental application of the genus *Trichoderma*. Critical review in microbiology 24:89-98.

Estevez De Jensen C., J.A. Perich, and P.H. Graham. 2001. Integrated management strategies of bean root rot with *Bacillus subtilis* and *Rhizobium* in Minesota. Field crops research74:107-115.

Etchevers B., J. D. 1997. Evaluación del estado nutrimental del suelo y de los cultivos ferti-irrigados. Memoria, 2° Simposio internacional de fertirrigación. Querétaro, México. pp. 51-60.

FAO (2004): Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. <http://www.fao.org>

Figuroa C. J. de D. y R. Aguilar G. 1997. El origen del maíz. Avance y perspectiva 16:91-98.

Gauch H., G. 1973. Inorganic plant nutrition. Stroudsburg. Dowden Hutchinson & Ross, Inc. USA. 488.

Hardarson, G., Danso, S.K.A. 1990. Evaluación de la fijación biológica del nitrógeno mediante la metodología del N-15. pp. 173-215. In: Hardarson, G. (Ed.). Organismo Internacional de Energía Atómica. Colección de cursos de capacitación No 2. Versión en español. Empleo de técnicas nucleares en los estudios de la relación suelo-planta. Viena, Austria. 223 pp.

Hardarson, G., Danso, S.K.A., Zapata, F. 1997. Biological nitrogen fixation in field crops. pp. 165-192. In: Christie, B.R. (Ed.). Handbook of plant sciences in agriculture. CRC Press Inc. Boca Raton, FL.

Harman G., E. 2000 Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant disease 84: 377-393.

Harman G. E., Charles R. Howell, Ada Viterbo, Ilan Chet and Matteo Lorito. 2004 *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. Microbiology 2:43-56.

Hasmain, S., F. Zafar, R. Bilal y K. A. Malik. 1993. Characterization of diazotrophs associated with roots of *Leptochloa fusca* (L) Kunth Pertanika. Journal of Tropical Agriculture Science 16(1):17-24.

Héraux M. G. Farah, Steven G. Hallett, and Stephen C. Weller. 2005. Combining *Trichoderma virens*-inoculated compost and a rye cover crop for weed control in transplanted vegetables. Biological control 34:21-26.

Hernández, Ana N., Damaris García, Annia Hernández y Mayra Heydrich 1997. Determinación de algunos generos bacterianos presentes en la rizósfera de maíz. Cultivos temporales. 18(3):10-14.

Hernández D., M.I. y Chailloux L., M. 2001. La nutrición mineral y la biofertilización en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Temas de ciencia y tecnología 5(13):11-27.

Hernández M., T.M. 1997. Variación de la dinámica nutrimental edáfica. Tesis Maestría en Ciencias. Edafología. IRENAT. C.P. Montecillos, México. 79 pp.

Herrera-Estrella, A. y Carsolio, C. 1998. Medio ambiente, control biológico y hongos parásitos. *Avance y perspectiva* 17:195-204.

Howell, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant disease* 87:4-10.

INEGI. 2005: Instituto Nacional de Estadística, Geografía www.inegi.com

INFOAGRO: 2004: empresa dedicada a la producción de hortalizas. <http://www.infoagro.com/hortalizas/ajo.html>

Jiménez Delgadillo Rocío, Gil Viren Calleros, S. Tabares Franco y Victor Olalde Portugal. 2001. *Avance y perspectiva* 20:395-399.

Jugenheimer W. Robert, Ph. D. 1981. Maíz Variedades mejoradas, métodos de cultivo y producción de semillas. *La planta de maíz* (38-74). Limusa. México. 39-72.

Kleifeld, O., and I. Chet. 1992. *Trichoderma harzianum* interaction with plants and effect on growth response. *Plants and soil* 144:267-272.

Kozdrój, J., J.T. Trevors, and J.D. 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.

León Piña Greta, Yazmín Carreón Abud y Miguel Martínez Trujillo. 2004. Efectividad e infectividad de la micorriza arbuscular en plantas de Chile (*Capsicum annum* L. var. Tampiqueña), bajo condiciones de invernadero. *Biológicas* 6:9-17.

Lewis, O. A.M. 1986. *Plant and nitrogen. Studies in biology.* Edwar Arnold, London.

Mar Vázquez, M., Sonia, C., R. Azcon and J.M. Barea. 2000. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. *Applied soil ecology* 15:261-272.

Mayerling F., S. y R. Ramírez. 2000. Efecto de la fuente de fósforo sobre la morfología radical y la acumulación del elemento en siete líneas de maíz. *Bioagro* 12(2):41-46.

Monte E., I. Grondona, A. Pérez de Algaba, P. García Benavides, y I. García-Acha. 1994. Control biológico del pie negro de la remolacha azucarera mediante una formulación industrial con *Trichoderma harzianum*. Prácticas ecológicas para una agricultura de calidad I congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica.

Murphy, D.V., S. Recous, E.A. Stockdale, I.R.P. Fillery, L.S. Jensen, D.J. Hatch and K.W.T. Goulding. 2003. Gross nitrogen fluxes in soil: Theory, measurement and application of ^{15}N pool dilution techniques. *Advances in agronomy* 79:69-118.

Olivares Sáenz Emilio. 1993. Paquete de diseños experimentales FAUANL. Versión 2.4 facultad de agronomía, UANL. Marín N.L.

Peña-Cabriales, J.J., Vera-Núñez, J.A., Alvarez-Villanueva, F. C. y Muraoka, T. 2000. Taller sobre uso de ^{32}P sobre estudios suelo-planta. Protocolos. Laboratorio de microbiología ambiental, Centro de investigación y de estudios avanzados del instituto politécnico nacional, Unidad Irapuato.

Peña-Cabriales, J.J. y O.A. Grageda-Cabrera. 1997. Dinámica del nitrógeno en el sistema agrícola. *Perspectivas de la microbiología en México*. Instituto Politécnico Nacional. 345-366.

Peña-Cabriales, J.J., O.A. Grageda-Cabrera y J.A. Vera Núñez. 2001. Manejo de los fertilizantes nitrogenados en México: uso de las técnicas isotópicas (^{15}N). *Terra* 20:51-56.

Phillip, J. M., and Hayman, D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55:158-161.

Preston, C.M. 1993. Optical emission spectrometry. In: *Nitrogen isotope techniques*. Knowlws, R. and T.H. Blackburn (Eds.). Academic Press. San Diego, CA. pp. 59-87.

Raven P., H. and H. Curtis 1975. *Biología vegetal*. Reverte. Editorial omega S.A. Barcelona. 716.

Ray M. P. 1975. *La planta viviente*. Compañía editorial continental. México. 212.

RIVA: Página de difusión de la historia del maíz. <http://www.delarive.com>

Rodas Cifuentes, A., R. Núñez Escobar, V. Espinosa Hernández y G. Alcántar González. 2000. Asociación lupino-maíz en la nutrición fosfatada en un andosol. *Terra* 19:141-154.

Rudresh, D.L., M.K. Shivaprakash, R.D. Prasad. 2005. Effect of combined application of *Rhizobium*, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma* spp. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium* L.). *Applied soil ecology* 28:139-146.

SAGARPA. 2005: Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. <http://www.sagarpa.mx>

Salisbury B., F. and C.W. Ross. 1992. Plant physiology. Wadworth. 4ed. Belmont California pp. 289-305.

Samperio Ruíz, Gloria. 1997. Hidroponia básica. Impresora PUBLIMEX. Diana. México. pp.153

Sanogo, S., Pomella, A., Hebbar, P. K., Bailey, B., Costa, J. C., Samuels, G. J., and Lumsden, R. D. 2002. Production and germination of conidia of *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of *Crinipellis perniosa* on cacao. *Phytopathology* 92:1032-1037.

Singh, A., and Satyawati, S. 2002. Composting of a crop residue through treatment with microorganisms and subsequent vermicomposting. *Bioresource technology* 85:107-111.

Sivan, A., Elad, Y., and Chet, I. 1983. Biological control effects of a new isolate of *Trichoderma harzianum* on *Pythium aphanidermatum*. *Phytopathology* 74:498-501.

Sonnemann Ilja, Nele Mika Streicher, and Volkmar Wolters. 2005. Root associated organisms modify the effectiveness of chemically induced resistance in barley. *Soil Biology and Biochemistry* 37:1837-1842.

Terman, G. L., D. R. Bouldin and J. Webb. 1962. Evaluation of fertilizers by biological methods. *Advances in agronomy* 14: 265-319.

Terry Alfonso E. y Julio César Hernández. 2005. Efectividad agrobiológica de hongos formadores de micorrizas en un híbrido f1 de tomate. *Avance y perspectiva* 9(25):29-34.

UAM. 2004-2005: Universidad Autónoma de Madrid. <http://www.uam.es>

Vassey J. Kevin. 2003. Plant promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*. 255: 571-586.

Villacieros, M., B. Power, M. Sánchez-Contreras, J. Lloret, R. I. Oruezabal, M. Martín, F. Fernández-Piñas, I. Bonilla, C. Whelan, D. N. Dowling & R. Rivilla. 2003. Colonization behaviour of *Pseudomonas fluorescens* and *Sinorizobium melioli* in the alfalfa (*Medicago sativa*) rhizosphere. *Plant and soil* 251:47-54.

Windham, M.T., Elad, Y., and Baker, R. 1986. A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 76:518-521.

Wu, T., Z. Kabir, and R.T. Koide. 2005. A possible role for saprotrophic microfungi in the nutrition of ectomycorrhizal *Pinus resinosa*. *Soil Biol. Biochem.* 37:965-975.

Yedidia, I., A. K. Srivastua, Y. Kapulnik and I. Chet. 2001. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plants and soil* 235:235-242.

Zapata, F. 1990. Field experimentation in isotope-aided studies. pp. 35-40. In: Hardarson, G. (Ed.). International Atomic Energy Agency. Use of nuclear techniques in studies of soil-plant relationship. Training course series No. 2. Viena, Austria. 223 pp.

Zapata, F. 2002. Contribuciones de las técnicas nucleares al desarrollo de prácticas de manejo integrado del suelo, agua y nutrimentos para el incremento de la producción agrícola. *Terra* 20(1): 1-6.

Zavaleta-Mejía, E. 2000. Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. *Terra* 17(3):201-207.

Zayed E., G., and H. Abdel-Motaal. 2005. Bioactive composts enriched with rock phosphate and their effect on the phosphorous nutrition and microbial community in rhizosphere of cowpea. *Bioresource technology* 96:929-935.