

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



**Efecto de la coinoculación rizobacteria-
endomycorrizas sobre la asimilación de
nitrógeno en trigo (*Triticum aestivum* L.)
adicionado con ácidos húmicos.**

por:

CAMILO CALLEJAS CRUZ

TESIS

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

INGENIERO AGRÓNOMO EN SUELOS

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Agosto de 1999**

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

**Efecto de la coinoculación rizobacteria-endomicorrizas
sobre la asimilación de nitrógeno en trigo (*Triticum
aestivum* L.) adicionado con ácidos húmicos.**

Por:

CAMILO CALLEJAS CRUZ

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

INGENIERO AGRÓNOMO EN SUELOS

Aprobada
Presidente del jurado

MC. Blanca A. Valdivia Urdiales

Sinodal

Sinodal

Dr. Edmundo Peña Cervantes

MC. Luis M. Lasso Mendoza

MC. Jesús Valenzuela Vargas
Coordinador de la División de Ingeniería

Buenavista, Saltillo, Coahuila
Agosto de 1999

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, hermanos (as) y a toda mi familia que en forma conjunta siempre me apoyaron incondicionalmente en esta meta fijada, anhelada y hoy alcanzada.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y a todo el personal que participó en mi formación académica.

Por el apoyo en la realización de este trabajo de investigación y su impulso moral, agradezco sinceramente a las siguientes personas:

- *MC. Blanca A. Valdivia Urdiales. (Base fundamental en la realización y consumación de dicho proyecto) .*
- *MC. Luis M. Lasso Mendoza.*
- *Dr. Edmundo Peña Cervantes.*
- *A todo el personal del Departamento de Suelos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.*
- *A la excelente laboratorista de Ciencias Básicas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. María de Jesús Sánchez Velázquez (Chachita).*
- *A Laura María Durón Ochoa laboratorista del Depto. de Horticultura de la misma Universidad, por todo su apoyo.*
- *A mis compañeros integrantes en el proyecto de investigación (Luz María, Juan, Javier, Sergio y Erick).*
- *A mis excompañeros de generación y de la especialidad de Suelos.*
- *A la Ing. Marcela Callejas por su apoyo moral y similares.*

Aprovecho este espacio para agradecer en forma verdadera a mi maestro en la vida, al gran amigo y ejemplo a seguir, a la persona que tengo el gran honor de tener como hermano, a Rafael Callejas Cruz. Infinitamente...“Gracias por creer en mí maestro”.

A TODOS GRACIAS MIL.

DEDICATORIA

A la madre naturaleza y a su evolución:

Por dar origen a la máquina más perfecta existente y por existir... Al Homo sapiens; ser humano inmensamente inteligente, pero aún más peligroso al cual pertenecieron mis ancestros y de los cuales descendo yo. A ti madre naturaleza que al dar origen al hombre has originado tu propia destrucción.

A mis padres:

Por darme la gran oportunidad de vivir heredándome lo mejor de sus caracteres genéticos, lo mejor de sus vidas, sus ejemplos morales y de lucha por una vida mejor, por sus consejos, sabidurías y experiencias, por todos sus desvelos, sacrificios y similares. Por todo esto y mucho más gracias mamá, gracias papá. Que el todo poderoso me los conserve todo el tiempo posible.

A mis hermanos (as) y familia en general:

Quienes con su ayuda hicieron posible la consumación de mi carrera profesional, lo cuales siempre depositaron en mi su confianza y muchas veces se despojaron de lo poco que tenían para darme mucho. "El título es de ustedes".

A la Agronomía:

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

A mis hermanos y homólogos campesinos y a todas aquellas familias marginadas y olvidadas.

A ELLOS.

INDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	5
1. Trigo	5
1.1. Características generales del trigo	5
1.2. Exigencias climatológicas	6
1.3. Exigencias de suelo	7
1.4. Preparación del terreno	7
1.5. Siembra	7
1.6. Fertilización	8
1.7. Riegos	9
1.8. Cosecha	9
2. Nitrógeno	9
2.1. Importancia del nitrógeno en la agricultura	10
2.2. El nitrógeno en el suelo	10
2.3. El nitrógeno en la planta	13
3. Rizosfera	15
3.1. Características generales	15
3.2. Microorganismos de la rizosfera	16
4. Rizobacterias	17
4.1. Mecanismos de acción de las rizobacterias	18
4.2. <i>Pseudomonas</i>	21
4.3. Inoculación bacteriana	22
5. Micorrizas	23
5.1. Clasificación de micorrizas	23
5.2. Morfología de la endomicorriza vesículo-arbuscular	24
5.3. Fisiología de la endomicorriza V-A	26
6. Coinoculación	27
7. Malezas	29
7.1. Gualda (<i>Reseda luteola</i> L.)	30
7.2. Nabo silvestre (<i>Eruca sativa</i> Mill.)	30
7.3. Tres barbas (<i>Aristida spp</i>)	31
8. Suelos calcáreos	31
9. Sustancias húmicas	32
9.1. Ácidos húmicos	33

MATERIALES Y MÉTODOS -----	36
1. Descripción del área de estudio -----	36
2. Características del suelo -----	36
3. Calidad del agua de riego -----	37
4. Diseño experimental y análisis estadístico -----	37
5. Preparación del terreno -----	38
6. Preparación del bionoculante -----	39
7. Preparación del inóculo endomicorrízico V-A -----	39
8. Inoculación de trigo -----	40
9. Siembra y fertilización -----	41
10. Riegos -----	42
11. Cosecha -----	42
12. Variables a evaluar -----	43
13. Análisis químico -----	43
RESULTADOS Y DISCUSIÓN -----	44
1. Peso seco de vástago -----	44
2. Peso seco de grano o rendimiento -----	53
3. Por ciento de nitrógeno de vástago -----	59
4. Por ciento de nitrógeno de grano -----	65
CONCLUSIONES -----	71
RESUMEN -----	73
LITERATURA CITADA -----	75
APÉNDICE -----	84

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Diferentes compuestos exudados por la raíz -----	16
Cuadro 2. Características físicas y químicas del suelo utilizado en la investigación -----	37
Cuadro 3. Niveles de exploración y componentes de los tratamientos utilizados en el trabajo de investigación -----	41
Apéndice 1A. Análisis de varianza para peso seco de vástago de trigo variedad Pavón F-76 y su tabla de medias (Apéndice 1 A 1) -----	85
Apéndice 2A. Análisis de varianza para peso seco de grano (rendimiento) de trigo variedad Pavón F-76 y su tabla de medias (Apéndice 2 A 1) -----	86
Apéndice 3A. Análisis de varianza para por ciento de nitrógeno de vástago de trigo variedad Pavón F-76 y su tabla de medias (Apéndice 3 A 1) -----	87
Apéndice 4A. Análisis de varianza para por ciento de nitrógeno de grano de trigo variada Pavón F-76 y su tabla de medias (Apéndice 4 A 1) -----	88

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Efecto de la interacción entre *Pseudomonas putida*+*Glomus*

	<i>spp</i> y nitrógeno sobre el peso seco de vástago de trigo variedad Pavón F-76 -----	46
Figura 2.	Efecto de la interacción entre <i>Pseudomonas putida</i> + <i>Glomus spp</i> y ácidos húmicos sobre el peso seco de vástago de trigo variedad Pavón F-76 -----	48
Figura 3.	Efecto de la interacción entre el nitrógeno y ácido húmicos sobre el peso seco de vástago de trigo variedad Pavón F-76 -----	50
Figura 4.	Efecto de la coinoculación con y sin ácidos húmicos a diferentes niveles de nitrógeno sobre el peso seco de vástago de trigo variedad Pavón F-76 -----	51
Figura 5.	Efecto de la interacción entre <i>Pseudomonas putida</i> + <i>Glomus spp</i> y nitrógeno sobre el peso seco de grano (rendimiento) de trigo variedad Pavón F-76 -----	54
Figura 6.	Efecto de la interacción entre <i>Pseudomonas putida</i> + <i>Glomus spp</i> y ácidos húmicos sobre el rendimiento de grano de trigo variedad Pavón F-76 -----	56
Figura 7.	Efecto de la interacción entre el nitrógeno y ácidos húmicos sobre el rendimiento de grano de trigo variedad Pavón F-76 -----	57
Figura 8.	Efecto de la coinoculación con y sin ácidos húmicos a diferentes niveles de nitrógeno sobre el rendimiento de grano de trigo variedad Pavón F-76 -----	58
Figura 9.	Efecto de la interacción entre <i>Pseudomonas putida</i> + <i>Glomus spp</i> y nitrógeno sobre el por ciento de nitrógeno de vástago de trigo variedad Pavón F-76 -----	60
Figura 10.	Efecto de la interacción entre <i>Pseudomonas putida</i> + <i>Glomus spp</i> y ácidos húmicos sobre el por ciento de nitrógeno de vástago de trigo variedad Pavón F-76 -----	62
Figura 11.	Efecto de la interacción entre el nitrógeno y ácidos húmicos sobre el por ciento de nitrógeno de vástago de trigo variedad Pavón F-76 -----	63
Figura 12.	Efecto de la coinoculación con y sin ácidos húmicos a diferentes niveles de nitrógeno sobre el por ciento de nitrógeno de vástago de trigo variedad Pavón F-76 -----	64
Figura 13.	Efecto de la interacción entre <i>Pseudomonas putida</i> + <i>Glomus spp</i> y nitrógeno sobre el por ciento de nitrógeno de grano de trigo variedad Pavón F-76 -----	66
Figura 14.	Efecto de la interacción entre <i>Pseudomonas putida</i> + <i>Glomus spp</i> y ácidos húmicos sobre el por ciento de nitrógeno de grano de trigo variedad Pavón F-76 -----	67
Figura 15.	Efecto de la interacción entre el nitrógeno y ácidos húmicos sobre el por ciento de nitrógeno de grano de trigo variedad Pavón F-76 -----	68
Figura 16.	Efecto de la coinoculación +ácidos húmicos+nitrógeno sobre el por ciento de nitrógeno de grano de trigo Pavón F-76 -----	70

INTRODUCCIÓN

El trigo es uno de los cultivos más extendidos en el mundo. De la superficie mundial total dedicada a la agricultura, el 18 por ciento está sembrada con trigo, el cual se ha venido cultivando de forma intensiva y extensiva. En el estado de Coahuila, cuyos suelos se caracterizan por las altas concentraciones de carbonatos, el trigo es el cultivo más tradicional en el ciclo de invierno, ya que las condiciones ecológicas de la región hacen posible que se cultive en este ciclo, siendo una alternativa para el uso del recurso agua y suelo. En este estado, el trigo tiene un rendimiento de 2.5 t/ha promedio y es el segundo cereal más consumido, después del maíz; su superficie sembrada a nivel estatal es de 11,190 ha (SAGAR, 1996).

Los suelos de dicha región, caracterizados por las altas concentraciones de carbonatos, dificultan la absorción y retención de algunos nutrimentos como el nitrógeno (Colle y Heil, 1981). El trigo sólo utiliza una cuarta o tercera parte del nitrógeno que se aplica al suelo (Hera *et al.*, 1994) y lo demás se pierde en forma de óxido nitroso (desnitrificación y/o volatización) o en forma de nitratos (nitratación). Lo anterior significa un incremento en los costos de insumos (fertilizantes) para los productores, pero sobre todo un incremento en la contaminación del medio ambiente, pues el óxido producido puede dañar

la capa de ozono en forma igual o superior a la contaminación atmosférica causada a nivel industrial y los nitratos contaminan los mantos acuíferos originando problemas de salud en humanos o la sobreproducción de la vida acuática.

Una de las estrategias que se han implementado para solucionar esta problemática es mejorar la eficiencia de asimilación de la planta por medio de programas de mejoramiento genético y de inoculación combinada (Rennie, 1994).

En la actualidad, se ha observado un impacto positivo sobre el rendimiento de trigo, maíz y sorgo (Cuervo, 1993) inoculados con diversos microorganismos, como las rizobacterias y micorrizas que optimizan la absorción de fertilizantes nitrogenados (Bodey y Dobereiner, 1996). Las rizobacterias (bacterias que habitan en la rizosfera de las plantas) pueden mejorar el crecimiento vegetal mediante diversos mecanismos como fijar nitrógeno, solubilizar fósforo, proteger a la planta (zona radical) de agentes patógenos y producir ácido indol-acético y giberelinas. Las micorrizas (asociación simbiótica entre hongos del suelo con diversas familias de plantas) tienen efectos benéficos sobre las plantas ya que incrementan la disponibilidad y asimilación de nutrimentos como el nitrógeno y fósforo. Además, se ha reportado un efecto sinérgico entre las rizobacterias y endomicorrizas cuando se coinoculan en plantas ya que aumentan la respuesta positiva de las mismas

a los fertilizantes aplicados (Pacovsky, 1985).

Por otra parte, se sabe que los ácidos húmicos aplicados directamente al suelo o a las semillas, aumentan el crecimiento de trigo a dosis menores de fertilizante nitrogenado (Dobereiner, 1982). Los ácidos húmicos desempeñan un papel muy importante debido a que coadyuvan a solubilizar los nutrientes minerales lo cual incrementa el rendimiento y la calidad de los cultivos (Narro, 1993).

La estrategia fijada en la presente investigación es la coinoculación, con una rizobacteria (*Pseudomonas putida*) y endomicorrizas (*Glomus spp*) en semillas de trigo cultivado en suelos de la región, aplicando tres niveles de fertilizante nitrogenado y ácidos húmicos. El propósito de este trabajo es seleccionar la mejor combinación de inoculantes que aumente la eficiencia de asimilación del trigo del fertilizante nitrogenado, reduciendo así los costos de insumos y la contaminación ambiental, lo que permitirá recuperar la fertilidad

OBJETIVO GENERAL

Optimizar el uso del fertilizante nitrogenado en trigo.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Determinar el efecto de la coinoculación rizobacteria (*Pseudomonas putida*) y endomicorrizas vesículo-arbusculares (*Glomus spp*) sobre el peso seco y rendimiento de trigo a dosis reducidas de fertilizante nitrogenado

HIPÒTESIS

La coinoculación *Pseudomonas putida*+*Glomus spp* disminuye las pérdidas del fertilizante nitrogenado en trigo adicionado con ácidos húmicos.

REVISIÓN DE LITERATURA

TRIGO

Características generales del trigo.

El trigo es un cereal miembro de la familia de las gramíneas que comprende unos 600 géneros y más de 5,000 especies. Se cree que es originario de Asia Occidental; desde hace aproximadamente 9 000 años, se cultiva en la región del Caucáso, en Turquía e Irán (Robles, 1978) y fue introducido a México en el siglo XI.

El trigo es una hierba farinácea anual de raíz abundante y fibrosa. Su tallo es cilíndrico y hueco, excepto en los nudos, los cuales separan tres o más entrenudos; de éstos, es el superior apical del que parte la inflorescencia. Las hojas del trigo se componen de lámina, lígula y vaina.

En cuanto al grano de trigo, botánicamente es un fruto indehiciente con un delgado pericarpio que envuelve una sola semilla cuya cutícula o testa se encuentra unida al pericarpio. En general, el grano es de forma oval con la superficie dorsal lisa y redondeada y la central con ranura longitudinal que marca la inserción del óvulo al ovario (Borlaug,1969).

La clasificación taxonómica del trigo, según Robles (1990), es la siguiente:

Reyno ----- Vegetal.
División ----- Embriophyta siphonogama.
Subdivisión ----- Angiospermae.
Clase ----- Monocotiledoneae.
Orden ----- Glumiforae.
Familia ----- Graminae.
Género ----- *Triticum*.
Especie ----- *aestivum*

Exigencias climatológicas.

El trigo necesita una cantidad de calor para cumplir su ciclo vegetativo . Son perjudiciales las temperaturas elevadas en primavera y al final de la maduración. La temperatura mínima de crecimiento es de 3-4 °C, la optima de 25 °C y máxima de 30-32 °C, aunque las condiciones de temperatura son muy variables dependiendo del cultivar y la región. Florece más libremente en un clima sub-tropical, de frío o calor templado, necesitando lluvias moderadas en la estación de crecimiento, seguido de un verano caluroso con lluvia ligeramente intermitente. Son deseables 500 - 600 mm aunque se desarrolla a partir de 300, son mejores los años de más lluvia en primavera (Robles, 1978).

Exigencias de suelo.

El trigo es medio tolerante a suelos salinos pero su rendimiento es afectado cuando la conductividad eléctrica es mayor a 6 mmhos/cm. El pH óptimo de suelo para este cultivo es de 5.5 a 7.0 aunque tolera más. Se obtienen mejores rendimientos en suelos arcillo-limosos o arcillosos bien provistos de calcio, con buen poder absorbente, no muy aireados y con una profundidad media (Robles, 1978).

Preparación del terreno

Se recomienda realizar un barbecho a una profundidad de 25 a 30 cm con la debida anticipación a la fecha de siembra, posteriormente se dan los rastreos necesarios de acuerdo a las características físicas del suelo, a fin de desmenuzar los terrones y facilitar la siembra; se debe tratar de dejar uniforme la capa arable en los primeros 15 a 20 cm, que constituyen la cama de siembra. Siempre que se pueda efectuar una buena nivelación será favorable, para que éste como otros cultivos, tenga un mejor desarrollo y menor incidencia de enfermedades (Colín, 1992).

Siembra

Las fechas de siembra de trigo varían de acuerdo a la región; se consideran principalmente dos épocas de siembra. La siembra de invierno

es la de mayor importancia, principalmente bajo condiciones de riego y las siembras de verano son básicamente de temporal (valles altos). La siembra debe efectuarse a una profundidad de 3 a 6 cm, dependiendo del tipo de suelo. Normalmente se utilizan densidades que van desde 100 a 150 kg/ha, pudiendo ser mayores o menores según la fecha de siembra, fertilidad del suelo, preparación del terreno, características de la variedad y calidad de la semilla, entre otros (Colín, 1992).

Fertilización

La dosis de fertilización es muy variada para cada región agrícola debido a que cada una tiene diferentes limitaciones en cuanto a fertilidad del suelo. En el caso de trigo cultivado en Coahuila, la dosis recomendada es 120- 80-60 (INEGI,1998). Es preferible dividir la aplicación del nitrógeno, la primera mitad se aplica a la siembra y el resto antes del segundo riego de auxilio (Colín, 1992).

Boman *et al.* (1995), mencionan que la influencia de la fertilización sobre la cosecha de grano ha sido mínima pero en la cosecha de forraje ha tenido un significado impacto, por lo que se concluye que la aplicación de urea o nitrato de amonio en diferentes etapas de desarrollo de trigo son igualmente efectivas como fuente de nitrógeno.

Riegos

Diversos estudios reportan que la eficiencia de los fertilizantes aumenta cuando los riegos se aplican en forma adecuada. Se deben aplicar los riegos antes de que las plantas presenten síntomas de sequía, esto de acuerdo a su etapa fisiológica, a las condiciones climáticas y a las características físicas del suelo (Robles, 1978). Para la región de Coahuila se recomiendan de 6 a 9 riegos debido a que las precipitaciones son escasas y las temperaturas son relativamente altas (INEGI, 1998).

Cosecha

La cosecha de trigo se realiza cuando la espiga ha cambiado el color verde a blanco cremoso u ocre en variedades café, y el grano tiene una consistencia algo dura, no pastosa ni lechosa. Si se recogen con cosechadora, ésta entrega el trigo limpio y si se recolecta manualmente deben trillarse las espigas y luego limpiar los granos (Colín, 1992).

NITRÓGENO

Cuando se habla de fertilización, se hace alusión a tres macronutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo de la planta (Bidwell, 1979; Donahue, 1992) es decir N,P,K, de los cuales, los dos primeros suelen ser los más demandantes por un cultivo, puesto que

normalmente el potasio no representa problemas de disponibilidad en el suelo (Domínguez, 1989).

Importancia del nitrógeno en la agricultura

No se podría concebir la vida sin que no hubiera este elemento, todos los procesos vitales están asociados a la existencia de un plasma funcional que representa al nitrógeno como constituyente característico. El nitrógeno se encuentra presente en gran número de compuestos de singular importancia fisiológica dentro del metabolismo vegetal, tales como la clorofila, las nucleótidas, los fosfátidos, los alcaloídes, así como múltiples enzimas, hormonas y vitaminas (Jacob, 1973).

Según Ortiz y Ortiz (1984), el papel del nitrógeno en el desarrollo vegetal puede ser considerado como estructural y metabólico debido a que forma parte de las proteínas y clorofila, imparte un color verde oscuro a las plantas, promueve el desarrollo de hojas y tallos, produce un desarrollo rápido en la primer etapa y aumenta el contenido de proteínas en los cultivos, alimentos y forrajes.

El nitrógeno en el suelo

El nitrógeno se encuentra en tres formas: (a) libre (N_2), como componente de la atmósfera, (b) en forma orgánica, constituyendo la formación de tejidos y órganos vegetales y animales así como sus desechos y, (c) en forma mineral, como compuestos simples que se caracterizan por su solubilidad, mayor o menor, según los distintos medios. El nitrógeno orgánico ingresa al suelo por los tejidos y órganos de los vegetales y animales y los respectivos desechos. Este tipo de nitrógeno constituye más del 85 por ciento del nitrógeno total existente en el suelo. La totalidad del nitrógeno está determinada por los residuos orgánicos (85%), el nitrógeno de origen atmosférico dejado por las bacterias, los aportes del agua de lluvia en forma generalmente de pequeñas porciones de amoniaco (NH_3) y los aportes de fertilización (Rodríguez, 1992).

La materia orgánica es atacada por los microorganismos del suelo transformándola en sustancias asimilables por las plantas. En una primera fase el nitrógeno orgánico es transformado por bacterias amonificantes en amonio (NH_4^+) constituyendo una forma amoniacal. Esta sustancia es luego convertida en nitrato (NO_3^-) por las bacterias nitrificadoras, constituyendo la fase nítrica del proceso. La transformación del nitrógeno orgánico al nitrógeno utilizable por las plantas depende de distintos factores: temperatura del suelo, humedad, aireación y pH adecuados. Un pH bajo induce a la desnitrificación, es decir, a la pérdida de nitratos liberándose

nitrógeno en forma de gas a la atmósfera (Rodríguez, 1992).

El nitrógeno en el suelo en sus formas solubles se pierde por las siguientes razones: (a) utilización directa de las plantas que lo extraen de la solución del suelo, (b) consumo de los microorganismos que lo utilizan para sus funciones vitales, (c) procesos de desnitrificación causados por un pH bajo o por una mala aireación del suelo, perdiéndose el nitrógeno en forma de gas, (d) pérdidas del elemento principalmente en su forma nítrica (NO_3^-) que es la más soluble por el drenaje y (e) por nitrógeno fijado a las partículas del suelos, no siendo disponible para la planta; el amonio (NH_4^+) es fijado considerablemente en el complejo de cambio (arcilla y humus) (Chapman, 1978).

El nitrógeno en forma iónica (es decir asimilable) representa un nutrimento limitante no sólo para la planta sino de igual forma para una gran parte de la microflora del suelo, pues es un elemento indispensable para la construcción de biomoléculas. Las características iónicas del N (NO_3^- y NH_4^+) le confiere el carácter de universalidad como nutrimento (Ladha, 1996; Reynolds y Wolf , 1988) y de movilidad en el sistema del suelo. Los iones NO_3^- por ser muy solubles en agua, se ven sometidos a diversos mecanismos que resultan en la pérdida de este elemento de la solución del suelo por vías como lixiviación, lavado y desnitrificación (bajo condiciones anaeróbicas) y los procesos de inmovilización microbiana (Domínguez,

1989; Alexander, 1980).

El nitrógeno fijado en el complejo de cambio del suelo y el utilizado por los microorganismos son pérdidas relativas pues no son utilizados directamente por las plantas, pero potencialmente pueden ser recuperados por la muerte de los microorganismos, o porque hay suficiente nitrógeno en el suelo y aquellos ya no lo extraen del mismo (Vivancos, 1978).

El nitrógeno en la planta

Los vegetales absorben el nitrógeno en sus formas solubles: nitratos, amonios y otros compuestos nitrogenados solubles. En su forma nítrica, el anión nitrato pertenece a la parte aniónica del ácido nítrico, así como a la constitución de las distintas sales: nitrato de sodio, nitrato de calcio, nitrato de magnesio, nitrato de potasio, entre otros. La forma de nitrato o nítrica es la más utilizada por las plantas. En su forma amoniaca, el anión amonio es otra forma importante de absorción. Cuando el amoniaco está disuelto en agua recibe un protón (H^+) cargándose positivamente. Además, el anión NH_4^+ forma parte de todas las sales amoniacaes como: nitrato de amonio, sulfato de amonio, fosfato monoamónico y fosfato biamónico (Devlin, 1970).

El nitrógeno se encuentra en la planta cumpliendo importantes funciones bioquímicas y biológicas. Es un elemento muy móvil; el nitrógeno

mineral (NO_3^- y NH_4^+) una vez en el interior de las células pasa a constituir las bases nitrogenadas para las distintas funciones fisiológicas. El nitrógeno ingresa en la formación de los aminoácidos, luego éstos entran en la síntesis de los prótidos y las proteínas del vegetal, constituyendo un elemento plástico por excelencia; además se halla en la formación de las hormonas, de los ácidos nucleicos y de la clorofila. La molécula de clorofila (de pigmentación verde) es la determinante del proceso fotosintético, es decir, de la producción de material orgánico a partir del bióxido de carbono del aire (Meyer, 1966; Rodríguez, 1992).

Cuando hay suficiente cantidad de nitrógeno se producen plantas con mayor cantidad de clorofila y mejor asimilación y síntesis de productos orgánicos, de lo cual se obtiene mayor vigor vegetativo. Esto se manifiesta por: (a) aumento de velocidad del crecimiento, determinado por un aumento de volumen y peso (debido a los alargamientos celulares y a la multiplicación celular), (b) color verde intenso de la masa foliar (mayor densidad clorofila) y (c) mayor producción de hojas de buena sanidad y calidad (aumento de su contenido proteínico) (Rodríguez, 1992).

En algunas especies el exceso de nitrógeno produce acame (como en los trigos no enanos). En las plantas perennes una fertilización de nitrógeno a fines del verano induce a una formación de brotes perdiéndose

con los fríos invernales.

RIZOSFERA

Características generales.

La rizosfera fue definida por Hiltner en 1904 (Box y Hammond, 1990), como la zona alrededor de las raíces de las leguminosas, donde se estimula el crecimiento de las bacterias. Esta definición se ha ido ampliando a través del tiempo y en la actualidad se reconocen las siguientes zonas: ectorrizosfera (zona alrededor de la raíz), rizoplano (zona de la superficie de la raíz) y la endorrizosfera (involucra la epidermis y las células corticales de la raíz) (Ferrera – Cerrato, 1989; Campell y Greaves, 1990; Hunt, 1990; Lynch, 1990).

Actualmente la rizosfera es considerada como la interface entre la raíz y el suelo. Está determinada por todas las regiones donde tienen lugar las interacciones entre los organismos de suelo (principalmente microorganismos), las raíces y los constituyentes del suelo (Berthelin *et al.*, 1994). En la rizosfera y el rizoplano el organismo superior (planta) aporta productos de excreción (Cuadro 1) y tejido muerto; la mayoría de las especies de la flora subterránea probablemente no tenga una influencia perjudicial sobre las plantas que las albergan, considerando que se derivan ciertos beneficios de los microorganismos (Alexander, 1980).

Cuadro 1. Diferentes compuestos exudados por la raíz.

COMPUESTOS	TIPOS
Carbohidratos	Glucosa, fructuosa, arabinosa, desoxirribosa, galactosa, maltosa, manosa, sacarosa, xilosa, ramnosa.
Aminoácidos	Adenina, citocina, guanina, uridina.
Acidos orgánicos	Acético, butírico, cítrico, fumárico, glicólico, láctico, málico, oxálico, propiónico, succínico, tartárico, valérico.
Acidos-grasos libres	Palmítico, esteárico, oleico, linoleico.
Esteroles	Colesterol, campesterol, stigmasterol, sitosterol, vitaminas (B1, biotina, ácido pantoténico, niacina, B2, B6), colina.
Enzimas	Celulasa, proteasa, invertasa, fosfatasa, ureasa, catalasa, fenolasa, tirosinasa, lipasa, amilasa, deshidrogenasa.

Tomado de Lynch, 1990

Microorganismos de la rizosfera

Dommergues y Krupa (1978) clasificaron los microorganismos de la rizosfera como benéficos (simbióticos), dañinos (patogénicos), o sin efecto en la planta (neutrales). La microflora de la rizosfera afecta las plantas por la producción de sustancias reguladoras de crecimiento. En la rizosfera se encuentra una diversidad de microorganismos asociados a la planta como bacterias, actinomicetos, hongos, protozoarios, etc. Según

Lynch (1990) el conocimiento de cómo las plantas influyen sobre las bacterias y cómo las bacterias responden a las plantas, son determinantes para el desarrollo de asociaciones microorganismos-plantas eficientes en la asimilación vegetal de nutrimentos inorgánicos.

Los microorganismos que se desarrollan en la rizosfera dependen de los compuestos químicos que allí se contienen por incorporación de los constituyentes orgánicos de las plantas (celulosa 15 - 60%, hemicelulosa 10 – 30%, lignina 5 – 30%, azúcares-aminoácidos y ácidos alifáticos 5 – 30%, grasas, aceites, resinas, pigmentos, proteínas, minerales 1 – 13%). Estos compuestos crean una zona de gran actividad microbiana donde la interacción entre la planta y la microflora es muy intensa (Lynch, 1990). La población microbiana de la rizosfera es diferente a la que se encuentra fuera de su influencia, debido a que las raíces producen exudados que atraen a ciertos microorganismos que están adaptados a las características bióticas y abióticas de un hábitat específico (Janzen,1992). Por ejemplo, las bacterias pueden aumentar la asimilación de nitrógeno en trigo mediante el mecanismo de síntesis de fitorreguladores del tipo de las auxinas. Se ha demostrado la alteración de la fisiología de las raíces para una mayor capacidad de asimilación de N en trigo (Okon, 1985).

Rizobacterias

Las rizobacterias representan a las bacterias de la rizosfera que tienen la capacidad de colonizar la raíz en respuesta a los exudados (Beauchamp *et al.*, 1991; Kloepper *et al.*, 1980).

Mecanismos de acción de las rizobacterias

Los primeros estudios efectuados sobre la influencia de las rizobacterias en la rizosfera de plantas, se remontan a varias décadas atrás con *Rhizobium*, en cuyas relaciones simbióticas se observó la modificación que los tejidos radicales sufrían. Las relaciones no simbióticas entre bacterias y raíces de plantas, aunque reconocidas, fueron estudiadas hasta hace poco tiempo, y comienzan más formalmente con estudios efectuados en Rusia con la descripción de microorganismos capaces de disolver P y fijadores libres de N (Cooper, 1978).

En la actualidad la influencia de ciertas rizobacterias sobre la fisiología de las plantas es un hecho ampliamente constatado a través de numerosos estudios (Schippers *et al.*, 1991; Frankenberg y Arshad, 1995). Las rizobacterias estimulan o inhiben la fisiología de las plantas por diversos mecanismos entre los que se encuentran la producción de fitohormonas y la producción de ácido indol-acético, la fijación simbiótica del nitrógeno y la nodulación en plantas leguminosas, la solubilización de minerales y nutrimentos, fijación de nitrógeno, interacción sinérgica con otros microorganismos benéficos de la rizosfera y la inhibición de fitopatógenos; todas estas actividades incrementan la productividad vegetal (Gaskins *et al.*, 1985; Parke, 1991).

Existen rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) que actúan directamente cuando sus metabolitos estimulan el crecimiento de la planta, o indirectamente si son antagónicas a la microflora nociva (Beauchamp *et al.*, 1991), además, producen sideróforos (agentes de transportación de hierro) extracelulares los cuales eficientemente complejan al hierro del ambiente (Kloepper *et al.*, 1980). Las RPCV comprenden a los siguientes géneros: (i) *Pseudomonas* y *Bacillus*, (Kloepper *et al.*, 1980) y, (ii) *Azospirillum*, *Hebaspirillum*, *Enterobacter*, *Acetobacter* y *Pseudomonas* (Bashan, 1995) así como muchos otros aislamientos obtenidos de la rizosfera, los cuales todavía no han sido identificados.

En la espermósfera (zona que rodea a la semilla en germinación) se excretan sustancias orgánicas que pueden estimular la proliferación selectiva de microorganismos (Kloepper *et al.*, 1991). El posterior desarrollo del sistema o rizosfera mantiene una dinámica de colonización de las bacterias fijadoras de nitrógeno con el estímulo de los exudados derivados de ese crecimiento, que a su vez, puede inducir su propia inversión a promotores del crecimiento vegetal por las rizobacterias, en un proceso ininterrumpido de intercambio de señales químicas entre ambos asociados (Chanway *et al.*, 1988).

Algunas rizobacterias como *A. brasilense* pueden producir ácido indolacético a partir de triptofano y otros compuestos aromáticos excretados por

el sistema radical de trigo (Baca *et al.*, 1994). A nivel de campo se ha demostrado que rizobacterias de los géneros *Azospirillum*, *Azotobacter* y *Beijerinckia* promueven el desarrollo del trigo, al utilizar moléculas de carbono orgánico de los exudados radicales y al transformarlos en sustancias promotoras del crecimiento vegetal del tipo de las citocininas, giberelinas y auxinas (Hunt, 1990).

En general, el efecto de las rizobacterias sobre el trigo se refleja en el incremento de su materia seca (Alexander, 1980), rendimiento y contenido de nitrógeno en grano o partes vegetativas (Miller, 1981). Generalmente sólo se utilizan rizobacterias benéficas aisladas de cultivos agrícolas como trigo, sorgo y maíz, pero no de malezas que causan problemas fitosanitarios en la agricultura, al disminuir la producción e incrementar los gastos en herbicidas para su control (Brown, 1974).

Las rizobacterias que colonizan a plantas de una familia pueden tener capacidad de reconocer los exudados radicales a nivel de sus géneros o especies. Debido a que el patrón de exudados de malezas asociadas al cultivo de trigo es semejante, es posible suponer que rizobacterias aisladas de malezas e inoculadas en trigo pueden causar efectos benéficos. Una alternativa de solución para mantener el rendimiento de trigo, sin aumentar las altas dosis de fertilizante nitrogenado, puede ser la aplicación simultánea con rizobacterias y un

mejorador de suelo como los ácidos húmicos, que favorecen algunas de las características químicas del suelo como la capacidad de intercambio catiónico al actuar como quelantes de cationes y formar complejos estables con cobre, manganeso y zinc (Sánchez-Yáñez, 1994).

Pseudomonas

La rizosfera tiene un alto porcentaje de bacterias móviles así como también, proteolíticas, nitrificantes, fermentadoras, descomponedoras de celulosa, etc. *Pseudomonas* está entre las bacterias más abundantes, ya que se desarrolla mejor durante periodos de mayor liberación de exudados radiculares (Lynch, 1990). Constituye uno de los mayores grupos de bacterias aeróbicas estrictas, quimioherótrofas, gram-negativas formado por los pseudomónidos aeróbicos (*Pseudomonas* y géneros afines). Las células de *Pseudomonas* son pequeños bastones rectos o curvos que no sobrepasan 0.8 µm de ancho y que se mueven mediante uno o varios flagelos polares. El contenido de guanina + citocina de su DNA es relativamente alto, de 57 a 70 moles porcentualmente. Los pseudomónidos aeróbicos incluyen bacterias con la mayor versatilidad metabólica entre los organismos conocidos, capaces de utilizar hasta 100 compuestos orgánicos diferentes como única fuente de carbono y energía (Stanier *et al.*, 1981). Lalande *et al.* (1989), llevaron a cabo una evaluación de rizobacterias obtenidas a partir de 20 plantas de maíz híbridas, tomadas de diferentes localidades de la provincia de Quebec, y encontraron que *Pseudomonas* spp era el grupo bacteriano más prominente en

el rizoplasma y en la rizosfera. También se ha observado que *Pseudomonas fluorescens* inoculada en una variedad de trigo rojo de invierno, produce efectos positivos en el sistema radical, al aumentar la cantidad de materia seca (Rennie *et al.*, 1994).

Las raíces jóvenes de trigo sostienen muchas bacterias capaces de producir ácido indol-3-acético y esta población decrece con la edad de la planta. *Pseudomonas* spp. es particularmente productora activa y es también estimulada por la rizosfera de plántulas de trigo, pero no de plantas viejas (Kloepper *et al.*, 1991).

Inoculación bacteriana.

La inoculación es un proceso de infección de microorganismos, el cual puede realizarse en semillas, plántulas, líquidos o en materiales como la turba que está compuesta en un alto porcentaje de materia orgánica. La inoculación de semillas comenzó poco después de que Hellriegel descubrió la habilidad de las leguminosas noduladas para fijar nitrógeno atmosférico N_2 y de que Beijerinck aisló estas bacterias de nódulos de raíz (Rennie, 1994). Después se utilizaron cultivos puros en agar, aunque fueron reemplazados por suelo estéril impregnado con *rhizobium*, luego por turba cubierta con agar, y finalmente a principios de 1920, por turba sola impregnada con microorganismos (Thompson, 1980).

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

MICORRIZAS

La palabra micorriza proviene del griego *mykes* = hongos y *rhyza* = raíz, y se utiliza para designar la relación mutualista que se establece entre un hongo y los tejidos radicales de un gran número de plantas vasculares (Ferrera-Cerrato, 1995). La micorriza ocurre en aproximadamente el 97 por ciento de las plantas vasculares (por lo menos 300,000 especies), en tanto que se conocen alrededor de 140 especies de hongos micorrízicos (Mukerji *et al.*, 1998).

De los microorganismos que colonizan la rizosfera, los hongos micorrízicos ocupan una posición ecológica única, ya que parcialmente están dentro de la planta y al mismo tiempo fuera de ella (Bagyarai, 1984). Este tipo de hongos pertenecen a la familia de las *Endogonaceae*, aparentemente una gran variedad de especies y géneros de esta familia se encuentran distribuidos alrededor del mundo (Nicolson, 1975). Más de 90 por ciento de las especies vegetales viven asociadas en forma de simbiosis con ciertos hongos del suelo, el 95 por ciento de las especies micorrizables corresponden al tipo vesículo-arbuscular, distribuidas principalmente en las plantas herbáceas, algunas de

importancia agronómica como cebolla, maíz, trigo, tomate, fresa, frijol, pastos, etc., por lo que el estudio y utilización de estos organismos es de gran importancia (Janerette, 1991).

Clasificación de micorrizas

De acuerdo con las relaciones entre los hongos y las células de la raíz (Janerette, 1991), los dos principales tipos de micorrizas son la ectomicorriza y la endomicorriza. La ectomicorriza, es la asociación en la cual las hifas del hongo penetraron los espacios entre las células. Las ectomicorrizas son formadas en su mayoría por hongos superiores (*Basidiomycetes* y *Ascomycetes*) y muchas especies maderables incluyendo plantas de las familias de *Pinaceae*, *Fagaceae*, *Betulaceae*, *Rosaceae*, *Cupressaceae* y *Leguminoceae*. Las hifas del hongo envuelven a la raíz y forman una densa masa denominada manto fúngico, que físicamente separa a la raíz de su alrededor. Las hifas no penetran en las células y están restringidas a los espacios entre ellas donde forman una red interconectada llamada red de Hartig, la cual juega un papel importante en el intercambio de materiales entre la planta y el hongo.

La endomicorriza, la cual se caracteriza por la penetración inter e intracelular de la hifas en las raíces, ausencia del manto fúngico y la presencia de modificaciones morfológicas en la raíz, está muy generalizada y se subdivide en tres grandes grupos: ericoides, orquidioides y vesículo-arbusculares (V-A),

siendo éstos últimos los de mayor interés (Janerette, 1991). Los hongos micorrízicos arbusculares, son considerados como biotróficos obligados, ya que obtienen todos sus componentes carbonados de la planta hospedante (Reyes, 1993).

Morfología de la endomicorriza vesículo-arbuscular

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

Las endomicorrizas V-A, forman tres estructuras principales denominadas hifas, vesículos arbusculares (Siqueira, 1988). Las hifas tienen una distribución inter e intracelular en el parénquima de la corteza y fuera de la raíz se desarrolla un micelio capaz de explorar hasta ocho cm más que la raíz infectada, llegando a sitios donde la planta no puede llegar por si misma. Las hifas son el producto de la germinación de las esporas, las cuales según Villalobos (1993), son los propágulos más resistentes a condiciones adversas, por ello, su función principal es la propagación y preservación del endófito.

Las vesículas aparecen como el resultado del ensanchamiento terminal de las hifas (Torres, 1993) al establecerse el proceso de colonización. Se encuentran dentro de las células y presentan formas ovaladas o esféricas siendo su función principal el almacenamiento de lípidos (García, 1995). Por otra parte, los arbuscúlos consisten de hifas finamente ramificadas que persisten dentro de las células de la planta de cuatro a diez días y en las cuales se realiza la transferencia de nutrimentos (Hayman, 1983). Las estructuras almacenan las sustancias que han extraído las hifas del suelo, la planta absorbe estos nutrimentos por medio de su sistema vascular de conducción y lo distribuye por los tejidos de acuerdo a las necesidades (Peisajovich, 1998).

Fisiología de la endomicorriza V –A

La micorriza se desarrolla cuando la hifa de una espora o una raíz previamente infectada, hace contacto con raíces o pelos radicales de las plantas, formando un apresorio en las células epidérmicas y subsecuente colonización de las células corticales por cadenas de hifas inter o intracelulares (Powell, 1980).

La mayor eficiencia y facilidad de absorción de nutrimentos por la planta, generadas al ser colonizada por la endomicorriza V-A, se atribuye a la red de hifas externas que se desarrollan en la rizosfera las cuales proporcionan un considerable aumento de la superficie de contacto, esto trae beneficios significativos solamente cuando el hospedante crece en suelos con baja

disponibilidad de nutrimentos. Los hongos V-A pueden transferir nutrimentos de la solución del suelo a la planta a través de su micelio, favoreciendo así la absorción de elementos como P, N, Ca, K, Mg y micronutrimentos tales como el Zn, Cu y Fe, así como de otros elementos como el Br, I, Cl, Na, Si y metales. El crecimiento de las plantas es en gran parte regulado por el suministro de nutrimentos al sistema radical y por la activa eficiencia de absorción de las células de la raíz (Guzmán-Plazola y Ferrera-Cerrato, 1990).

Los efectos más estudiados en las endomicorrizas V-A son los incrementos en la disponibilidad y asimilación de nutrimentos para la planta , principalmente P (Valdés y Michel-Rosales,1996), aunque otros estudios apoyan la posibilidad de que se mejore la asimilación de otros elementos como N (Urquiaga, 1996). Asimismo, se ha estudiado la participación de cierta microflora asociada a la raíz infectada con endomicorriza V-A sobre la solubilización y disponibilidad de formas asimilables de P provenientes de fuentes orgánicas o inorgánicas fijadas al sistema del suelo, efecto que se ha demostrado estar en función del estrés nutrimental y/o hídrico (Peña, 1988; Gómez, 1995; Strullu, 1994; Pan, 1995; Kothari, 1991; Bethlenfalvay, 1991), circunstancia que puede ser utilizada en provecho de cultivos de importancia agronómica desarrollándose en suelos muy perturbados hídrica y nutricionalmente. Se reconoce que las raíces de las plantas micorrizadas juegan un papel importante en la supervivencia vegetal, debido a una mejora en las

condiciones nutricias, sobre todo en suelos con baja fertilidad. Esto se debe a que las hifas del hongo exploran mayores volúmenes de suelo y son más eficientes en la captación y translocación de nutrimentos poco disponibles para la planta, participando de esta manera en el reciclaje biogeoquímico del ecosistema (Bolan, 1991). Además de éste, otros beneficios son atribuidos a la micorrización; por ejemplo, favorecen un mayor crecimiento en la parte aérea de la planta (Azcón y Barea, 1992), incrementan la tolerancia a sequía y estrés salino y participan en la bioremediación de suelos (Aziz y Sylvia, 1991).

COINOCULACIÓN

Pensar en agricultura sustentable, consiste en considerar las estrategias que permitan el mejoramiento de sistemas de cultivo económicamente importantes, desde el punto de vista ecológico y a largo plazo. Es por ello, que aunado al establecimiento de una simbiosis para la obtención de sistemas de plantas infectadas más eficientes en el aprovechamiento de los nutrimentos, se han estudiado los efectos de la coinoculación o inoculaciones cruzadas con diferentes simbiosis en una relación micorriza-bacteria-planta. Los estudios en este sentido, se han centrado principalmente con organismos fijadores de N_2 simbiosis como *Rhizobium* (Peña *et al.*, 1988), diazotróficos de vida libre (Barea,1987; Pacovsky,1985) y otros promotores del crecimiento vegetal. A este respecto, Meyer y Linderman (1986) trabajando con endomicorrizas

arbusculares, demostraron que algunas razas rizoféricas de *Pseudomonas putida* mejoran la infección micorrízica y su crecimiento en plantas de trébol. Con base en lo anterior, Garbaye (1994), sostiene que el establecimiento de la simbiosis micorrízica en las raíces de la plantas es afectada de múltiples formas por otros organismos de la rizosfera, principalmente por ciertas bacterias.

La micorrización es generalmente inhibida en condiciones de elevada fertilidad. Dentro de los macronutrientes, se ha detectado que el N y el P son los dos elementos que ejercen una mayor inhibición. En la mayor parte de los estudios de inoculación se ha encontrado como necesaria una fuente accesoria de elementos minerales para la activación de la microflora inoculada, principalmente N y P, llegando incluso a concluir que los biofertilizantes (inoculantes) por si solos sin dicha fuente accesoria mineral no produce efectos significativos ni en rendimiento de campo, ni en el crecimiento de las plantas, encontrando, por el contrario, que la adición de elementos de N y P activan la microflora inoculada produciendo efectos de mejoramiento en el rendimiento (Tiwana, 1992). Sin embargo, el exceso de agroquímicos, como las formas amoniacales de nitrógeno, pueden reducir la colonización micorrízica (Chambers *et al.*, 1980). La naturaleza del efecto depende del nivel de fertilización empleado. Según Menge (1984) comúnmente es recomendable usar concentraciones entre 25 y 75 mg de N-NO₃ /kg de suelo diluido en agua. Azcón *et al.* (1982)

reportaron que la adición de 40, 80 y 120 mg de nitratos/kg de suelo o de 35, 70 ó 140 mg/kg vía foliar, incrementaron el porcentaje de colonización de *Glomus mosseae* en maíz pero niveles mayores lo redujeron.

Karow y Lindsey (1985) encontraron que la inoculación de alfalfa con *Glomus mosseae* aumentó significativamente el porcentaje de micorrización de esta planta cuando el contenido de nitrógeno en el suelo varió de 0.6 a 31 mg/kg.

MALEZAS

Las malezas son definidas como cualquier especie herbácea que, bajo ciertas condiciones, son desfavorables a los propósitos humanos, sobre todo en el aspecto agrícola. Como característica particular, se ha observado que para cada cultivo de importancia agrícola existen malezas muy asociadas a los mismos, las cuales generalmente son nativas de la región donde se establece el cultivo (Villarreal,1983). En la presente investigación los microorganismos utilizados como inoculantes fueron aislados de malezas asociadas al cultivo de trigo. *Pseudomonas putida* fue aislada de la rizosfera de *Aristida sp.* (tres barbas) y los hongos micorrízicos del género *Glomus spp.* se obtuvieron de *Reseda luteola* (gualda) y de *Eruca sativa* Mill. (nabo silvestre). Por tal motivo, a continuación se describen algunas características de dichas malezas.

Gualda (*Reseda luteola* L.)

Es una planta con tallos erectos, glabros poco ramificados, savia acuosa,

amarillenta y hasta de 1 metro de altura, sus hojas son alternas, sésiles, dispuestas en una roseta basal, de 4 a 15 cm de largo y 1 a 1.5 de ancho, con el borde ondulado. Las flores están dispuestas en racimos densos, de 20 a 40 cm de largo en las ramas terminales, tiene cuatro sépalos y cuatro pétalos de color blanco amarillento, de 2 a 5 mm de largo, muy desiguales en tamaño, estambres de 20 a 30, fruto, una cápsula abierta, trilocular, de 4 a 6 cm. de diámetro, verde, que contiene semillas globosas, de color oscuro y de 1 mm de largo. Pertenece a la familia Resedaceae (Villareal, 1983).

Nabo silvestre (*Eruca sativa* Mill.)

Es una hierba de tallos erectos, ramificados en la base y hasta de 50 cm de alto, glabros con pubescencia áspera esparcida; hojas alternas, las inferiores partidas o lobuladas, hasta de 20 cm de largo, las superiores, más pequeñas y menos partidas. Las flores son vistosas, agrupadas en racimos terminales; tienen cuatro sépalos erectos y pétalos de más de 1 cm de largo, de color blancuzco con venación café o violeta. Esta maleza pertenece a la familia Cruciferae (Villareal, 1983).

Tres barbas (*Aristida* spp.)

Es una planta anual y perenne, baja a moderadamente alta, sin rizomas ni estolones. Las hojas de limbos angostas, comúnmente involutos y la inflorescencia es una panícula abierta o estrecha de espiguillas uniflorescentes, con desarticulación sobre las glumas que son delgadas, laceoladas, con una nervadura central bien marcada y ocasionalmente con dos nervaduras laterales.

La lema se transforma en una columna, algunas veces retorcidas, llevando comúnmente tres aristas, las dos laterales reducidas o ausentes en algunas especies; pertenece a la familia de las Gramíneas (Villarreal, 1983)

SUELOS CALCÁREOS

Existen cuatro tipos distintos de suelos alcalinos, de acuerdo a lo mencionado por Cepeda (1983); calizos o calcáreos, salinos, sódicos y salino-sódico. Los suelos que se originan a partir de la intemperización de materiales calizos se incluyen dentro de los calcimórficos, es decir, que poseen un horizonte cálcico (Balderas, 1990). El pH de los suelos calcáreos oscila entre 7.5 y 8.5 por lo general, debido a la acción tampón del carbonato de calcio. Su valor está controlado por el sistema $\text{CaCO}_3\text{-CO}_2\text{-H}_2\text{O}$. Debido a que la presión parcial del CO_2 es controlada por los factores que favorecen el intercambio gaseoso (aireación) del suelo, este gas disminuye en el suelo hasta que éste está bien aireado. De tal manera que para un mismo contenido de CaCO_3 en el suelo, el que tenga más arcilla y sea más pobre en estructura, será el de pH más bajo.

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

dificultades de aireación y nutritivas que se reflejan en las plantas cultivadas en este tipo de suelo. La presencia excesiva de calcio disminuye la disponibilidad de ciertos nutrimentos, tales como el P, Zn, Fe, Mn y Bo (Tisdale y Nelson, 1991). Azcón y Barea (1992), estudiaron tres tipos de suelos calcáreos, utilizando como planta la alfalfa. A los suelos se les suministró cantidades crecientes de fosfato soluble e inóculo de micorriza V –A, el inóculo fue tan efectivo como la fertilización en cuanto a la absorción de N, P y K. La inoculación disminuyó la cantidad de Ca en los suelos y la absorción de Mg.

Ríos (1994), observó que algunas plantas arbóreas cultivadas en suelos calcáreos, como el tepetate, presentaban endomicorrizas V-A que proporcionan amplios beneficios a las plantas. Lo anterior reafirma la importancia de la simbiosis, lo cual ayuda en la absorción de nutrimentos, especialmente los que se encuentran poco disponibles en el sustrato, produciendo un mejor desarrollo de las plantas cultivadas en tepetate, ya que los tratamientos micorrizados superan ampliamente a los testigos.

SUSTANCIAS HÚMICAS

Las sustancias húmicas son estables, tienen un color pardo a negro, amorfos, coloidales y de naturaleza ácida. Son macromoléculas orgánicas constituidas por un complejo ligno-proteico de gran capacidad de absorción e intercambio iónico. Las sustancias húmicas son buenos agentes quelatantes, excelentes dispersantes y actúan como agentes

reductores en soluciones alcalinas. Durante la mineralización la materia orgánica se descompone y se produce CO_2 , NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{2-} y SO_4^{2-} que son nutrientes para las plantas (Andreux y Metche, 1975).

La clasificación de los componentes de las sustancias húmicas está basada en la solubilidad de los mismos en medio ácido o básico, dividiéndose de manera usual en tres fracciones. Al extraer con reactivos alcalinos, aparecen por una parte los ácidos fúlvicos, no precipitables en medio ácido después de su extracción, y los ácidos húmicos, precipitables posteriormente como flóculos de color en medio ácido. Quedan una serie de compuestos humificados, no extraíbles con soluciones alcalinas o ácidas y que reciben el nombre de huminas, con una composición química muy variable (Schnitzer, 1991).

Ácidos húmicos

La extracción de los ácidos húmicos en el suelo se efectúa mediante álcalis y al acidificar el medio, precipitan de las soluciones obtenidas en forma de un gel oscuro. La estructura de la macromolécula húmica corresponde a la de las sustancias húmicas en general, es decir, macromoléculas complejas formadas por aminoácidos alifáticos y otros compuestos orgánicos, dando la impresión, al visualizar al microscopio electrónico, de estar formadas por partículas planas y redondeadas que se unen entre sí, formando un retículo esponjoso (Almendros y Polo, 1983). La forma de las moléculas húmicas juega un papel muy importante en la

formación de la estructura del suelo.

El uso agrícola de los ácidos húmicos es de gran importancia, ya que permite estimular las plantas, mejorar los suelos y potencializar al uso de fertilizantes aplicados al suelo para que ésta los asimile, incrementando así el rendimiento de los cultivos y la calidad de las cosechas . Su aplicación al suelo favorece la formación de agregados y de la estructura, la densidad aparente disminuye, se incrementa la disponibilidad de agua y su conducción va en aumento. Además se incrementa la CIC, disminuye el pH en suelos alcalinos y se eleva la fertilidad natural del suelo al potencializar los nutrimentos presentes y disminuir pérdidas por lixiviación (Saña *et al.*, 1996).

Con el nitrógeno, los ácidos húmicos actúan como fijadores del amoníaco, disminuyendo el proceso de desnitrificación, lo cual aumenta la capacidad de fijación y utilización del nitrógeno del suelo. Con el fósforo liberan compuestos insolubles de fósforo y ponen este elemento a disposición de la planta. Los ácidos tienen efectos estimulantes en el crecimiento de microorganismos aeróbicos, especialmente los que descomponen celulosa, almidón y proteínas. Con la adición de pequeñas cantidades de ácido húmico (10 ppm) aumenta, hasta 2000 veces el crecimiento microbiano, en relación al testigo, favoreciendo la fertilidad del suelo. El incremento de los microorganismos influye en la

descomposición de la materia orgánica, en la fijación de N atmosférico y en la porosidad y aireación del suelo. Los ácidos húmicos favorecen la asimilación de nutrimentos del suelo por las raíces de las plantas, ya que incrementan la penetrabilidad de las membranas vegetales y la penetración de nutrimentos para las funciones requeridas por ellas. Asimismo, transportan los macronutrimentos desde las raíces al follaje de las plantas y favorecen la nutrición al translocarlos a diferentes partes de la planta (Narro, 1993).

Se ha observado la relación de ácidos húmicos aplicados al suelo y la respuesta de las plantas a la inoculación con rizobacterias (Freityas *et al.*, 1982) en áreas cuya materia orgánica ha disminuido por el uso excesivo de fertilizantes nitrogenados. Sánchez-Yáñez (1994), reporta que una combinación adecuada de bacterias fijadoras de N y ácidos húmicos favorece el crecimiento de trigo y optimiza la fertilización en menor cantidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Descripción del área de estudio

Para evaluar el efecto de la coinoculación *Pseudomonas putida* + *Glomus spp* y ácidos húmicos en el rendimiento de trigo en condiciones de campo, se realizó la presente investigación en los terrenos de El Bajío de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), localizada en Buenavista, Saltillo, Coahuila. Geográficamente el área se ubica en la latitud 25° 22' norte y longitud 100° 00' oeste, sobre una altitud de 1743 msnm (CETENAL, 1976). El clima es muy seco, semicálido, con invierno fresco, extremoso, con lluvias en verano y precipitación invernal superior al 10 por ciento de la total anual. La temperatura y la precipitación media anual son de 16.9 °C y de 497.8 mm, respectivamente (Departamento de Agrometeorología de la UAAAN, 1998).

2. Características del suelo

Previo a la preparación del terreno, se tomaron muestras de suelo al azar a una profundidad de 30 cm y se efectuaron los análisis físicos y químicos correspondientes en los laboratorios del Departamento de Suelos de la UAAAN, obteniendo los resultados que se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Características físicas y químicas del suelo utilizado en la presente investigación.

<u>Características</u>	<u>Método de obtención</u>	<u>Valor obtenido</u>
Nitrógeno total	Kjeldahl	0.11 %
Fósforo aprovechable	Olsen	31.5 kg/ha
Materia orgánica	Walkley/Black	2.20 %
Carbonatos totales	NaOH 1N	31.35 %
pH	Potenciómetro	8.2
Textura	Hidrómetro de Bouyoucos	Migajón-arcilloso
Densidad aparente	Probeta	1.25 g/cm ³
Conductividad eléctrica	Puente de Wheastone	2.34 Ds/m
Capacidad de intercambio catiónico (C.I.C.).	Acetato de amonio	30.6 Meq/100g

El suelo se clasificó taxonómicamente en Xerosol háplico

Departamento de Suelos de la UAAAN, 1998.

3. Calidad del agua de riego

El agua utilizada en el trabajo de investigación fue clasificada como agua de buena calidad (C_1S_1), cuyas características químicas son las siguientes: a) pH = 6.93, b) C.E Ds/m = 523, c) Carbonatos meq/lit = 1.0, d) HCO_3^- meq/lit = 2.4, e) Ca^{++} meq/lit = 2.6, f) Mg^{++} meq/lit = 1.8, g) Cl^- meq/lit = 1.2, h) $\text{SO}_4^{=}$ meq/lit = 0.8, i) Na^+ meq/lit = 1.2 (Departamento de Riego y Drenaje de la UAAAN, 1998).

4. Diseño experimental y análisis estadístico

El estudio estadístico se realizó bajo un diseño experimental factorial completamente al azar de 3 (niveles de nitrógeno) X 3 (inoculación) X 2 (ácidos húmicos) con cuatro repeticiones como se muestra en el Cuadro 3. Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza y

distribución de medias según la prueba de rango múltiple por Tukey ($P < 0.05$). Para lo anterior se utilizó el paquete estadístico de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL).

Modelo estadístico

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

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

donde:

$$j = 1, 2, \dots, r$$

$$i = 0, 1$$

μ = Efecto común a todas las observaciones.

T_i = Efecto de i -ésimo tratamiento

β_j = Efecto bloque K .

Y_{ij} = Valor de la característica en estudio, observado en la unidad

experimental (ij).

ε_{ij} = Errores aleatorios con media cero, varianza σ^2 y sin correlación

entre sí.

5. Preparación del terreno

Se efectuó un barbecho, una rastra cruzada, nivelación, surcado y bordeado en el terreno. Posteriormente éste se fraccionó en 72 parcelas experimentales de 4m^2 con cinco surcos, dejando 0.30 m de pasillo entre

cada una de las parcelas. Se aplicó un riego de presiembra.

6. Preparación del bionoculante

a). Propagación de *Pseudomonas putida*. Se esterilizó caldo nutritivo a 120 °C/15' y se inoculó con *Pseudomonas putida* bajo condiciones asépticas. La bacteria, que forma parte de la colección bacteriana del área de Microbiología del Departamento de Suelos de la UAAAN, proviene de la rizosfera de la maleza *Aristida spp* y previamente mostró un efecto positivo sobre el crecimiento de trigo (Guzmán, 1997). El cultivo se incubó bajo agitación constante por 48 horas.

b). Preparación e inoculación de la turba. Se pesaron 80 g de turba molida en un molino modelo Thomas Williams utilizando una malla de 2 mm. Se colocó la turba en recipientes de vidrio para esterilizarse a 120 °C durante 2 horas y se eliminó el exceso de humedad en una estufa a 60 °C. Ya seca la turba, se pasó a bolsas de polietileno y asépticamente se agregaron, en dos partes, 60 ml de caldo nutritivo que contenía *Pseudomonas putida*. Esta cantidad fue suficiente para que los 80 g de turba estuvieran a capacidad de campo. El medio de cultivo se distribuyó homogéneamente en la turba y se dejó madurar a 30 °C por un periodo de 15 a 20 días, realizándose conteos bacteriológicos periódicamente para seguir el desarrollo de la rizobacteria hasta lograr una población bacteriana de 10^6 ufc/g de bioinoculante.

7. Preparación del inóculo endomicorrízico V-A

Las endomicorrizas vesículo arbusculares se aislaron de las malezas Gualda (*Reseda luteola*) y Nabo Silvestre (*Eruca sativa* Mill) asociadas al cultivo de trigo, para lo cual se colectaron las plantas dentro de los terrenos de la U.A.A.AN., procurando dejar completo el sistema radical. Se detectó la presencia de las VAM mediante la tinción de raíces por el método de Phillips y Hayman (1970), el cual consta de cinco pasos: a) clareo, b) blanqueo, c) acidificación, d) tinción y e) decoloración.

Las plantas se envolvieron en papel y se trasladaron al laboratorio de Microbiología del Depto. de Suelos donde se separó y se secó a temperatura ambiente. Posteriormente se molieron las raíces en un mortero, y se almacenaron en bolsas enceradas para su futura utilización.

La identificación tentativa del género (*Glomus spp*) se basó en la caracterización morfológica de las esporas, en donde se consideró tamaño, color y estructura superficial (Ferrera-Cerrato, 1989). Se designó con el número uno la VAM proveniente de gualda y con el número dos la aislada de nabo(Cuadro 3).

8. Inoculación de trigo

Las semillas de trigo variedad Pavón F-76 se cubrieron con un adherente (sacarosa 10%) y se desechó el exceso. Posteriormente se cubrió la semilla con 0.2 g de raíz de gualda o nabo molida, se mezcló y se agregaron 40 g de bionoculante (Cuadro 3). La semilla inoculada se guardó

en bolsas de polietileno negro para sembrarse 12 horas después.

Cuadro 3. Niveles de exploración y componentes de los tratamientos utilizados en el trabajo de Investigación.

Tratamientos	N (%) ^a	Inoculación ^b	Ácidos húmicos ^c
1	0	0	(-)
2	0	0	(+)
3	0	1	(-)
4	0	1	(+)
5	0	2	(-)
6	0	2	(+)
7	50	0	(-)
8	50	0	(+)
9	50	1	(-)
10	50	1	(+)
11	50	2	(-)
12	50	2	(+)
13	100	0	(-)
14	100	0	(+)
15	100	1	(-)
16	100	1	(+)
17	100	2	(-)
18	100	2	(+)

^a Niveles de nitrógeno: 50 % = 60 kg N/ha, 100 % = 120 kg N/ha; ^b 0 = Sin inocular, 1 = *P. putida* + *Glomus spp* aislada de gualda; 2 = *P. putida*+*Glomus spp* aislada de nabo silvestre; ^c (-) = Sin ácidos húmicos; (+) = Con ácidos húmicos; tratamiento uno = control absoluto; tratamiento 13 = control relativo.

9. Siembra y fertilización

Se recomienda para la región una densidad de siembra de 150 kg./ha, por lo que se prepararon bolsas con 60 g de semilla inoculada para cada parcela experimental. La inoculación se realizó una tarde antes de la siembra, la cual se efectuó a principios del mes de febrero entre las ocho y

diez de la mañana con el objetivo de evitar daños al inóculo por radiación solar u otro factor climático; la siembra fue manual y a chorrillo.

Para la fertilización se tomó como base la dosis recomendada para la región, 120-80-60, (INEGI, 1998), modificando los niveles de nitrógeno, de tal manera que se prepararon tratamientos sin N y con 50 y 100 % de la dosis óptima de N, representados por las fórmulas 00-80-60, 60-80-60 y 120-80-60 como se muestra en el Cuadro 3. Los fertilizantes comerciales utilizados fueron la urea (46 % de nitrógeno), super fosfato triple (46 % de P_2O_5) y sulfato de potasio (50 % de K_2O). El potasio se aplicó en su totalidad en la primera fertilización efectuada al inicio del amacollamiento, mientras que el nitrógeno y el fósforo se fraccionaron en tres aplicaciones, una al iniciarse el amacollamiento, otra poco antes de la floración y la última al iniciarse el llenado de grano. El fertilizante se aplicó manualmente y en banda por surco.

10. Riegos

Se aplicaron seis riegos por aspersión y rodados en las siguientes etapas: (a) antes de la germinación, (b) al amacollamiento, (c) al encañe, (d) durante la formación de la banderilla o embuche, (e) durante la floración y (f) al llenado de grano.

11. Cosecha

La cosecha se realizó poco después de que la planta alcanzó la madurez fisiológica (cuando el grano no aumenta más en materia seca y

cuando la humedad del grano es de alrededor del 40 %) y la siega de la planta se efectuó de la siguiente manera:

a). De cada parcela experimental de 4 m², se cosechó sólo 1 m² del centro de la parcela, la planta se transportó a un solarío y se realizaron pesadas periódicas hasta observar peso constante.

b). Se utilizó una trilladora mecánica para separar el grano del vástago, y se pesaron ambas partes. Se molieron porciones de grano y vástago para su futuro análisis químico.

12. Variables a evaluar

Se evaluó el peso seco de vástago, y rendimiento de grano, así como el nitrógeno total (%) en vástago y grano del trigo cosechado.

13. Análisis químico

La determinación de nitrógeno en vástago y grano se llevó a cabo por el método de micro-Kjeldhal en los laboratorios de Ciencias Básicas y Horticultura de la U.A.A.A.N. Dicho método se basa en la conversión de nitrógeno orgánico a nitrógeno mineral (amonificación) mediante el calentamiento prolongado con ácido sulfúrico (digestión). Posteriormente, el nitrógeno se destiló en forma de amonio mediante la acción del hidróxido de sodio y se recogió en una solución de ácido bórico, el cual se valoró (titulación) para de ésta manera conocer la cantidad de nitrógeno existente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para evaluar el efecto de la coinoculación de trigo con *Pseudomonas putida*+*Glomus spp* con y sin ácidos húmicos y diferentes niveles de nitrógeno, se realizó un experimento en el que se inoculó la semilla de trigo con microorganismos aislados de malezas de la región. La maleza utilizada como fuente de *Pseudomonas putida* pertenece al género *Arístida sp* (Tres barbas), mientras que para la obtención de las endomicorrizas vesículo-arbusculares se utilizaron dos malezas, Glomus 1, provino de *Reseda luteola* (Gualda) y Glomus 2, fue aislado de *Eruca sativa* Mill. (Nabo) (Villarreal, 1983).

Peso seco de vástago

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

Realizado el ANVA se observó que el nitrógeno y *P. putida*+*Glomus spp*, se comportaron diferentes y en forma independiente, pues aún en las interacciones se manifestó diferencia significativa hasta en $F_{\infty} 0.01$. Lo anterior significa que dicha aplicación tuvo un notorio efecto sobre el peso

seco de vástago de trigo, lo cual no sucedió con la adición de ácidos húmicos donde no existió significancia.

Estos factores se comportaron de manera similar con respecto al por ciento de nitrógeno de vástago (Apéndice 3A) y totalmente independientes en el caso de peso seco en grano o rendimiento (Apéndice 2A) y por ciento de nitrógeno en grano (Apéndice 4A).

En la Figura 1 se muestra el efecto de la interacción entre la fertilización nitrogenada y *P. putida*+*Glomus spp* sobre el peso seco de vástago de trigo. El trigo coinoculado y sin fertilizar superó notablemente al trigo sin inocular y sin fertilizar (control absoluto), notándose el efecto positivo de los microorganismos. Esto puede deberse a la capacidad de *P. putida* de solubilizar los minerales y nutrimentos existentes en el suelo, dejándolos disponibles para la planta (Parke, 1991). Probablemente también las bacterias, mediante un proceso de reconocimiento de los exudados de la raíz de la planta, efectuaron la síntesis de hormonas vegetales, como ácido indolacético y otros derivados, que tienen la capacidad de alterar el metabolismo vegetal y, eventualmente, incrementar el desarrollo y rendimiento de la planta (Mahmoud *et al.*, 1984). Además el efecto positivo de los microorganismos puede atribuirse a la acción de las endomicorrizas al incrementar en la planta su zona de exploración, absorción y translocación

de nutrientes, entre los cuales se encuentran el nitrógeno y fósforo como señalan Guzmán-Plazola y Ferrera-Cerrato (1990).

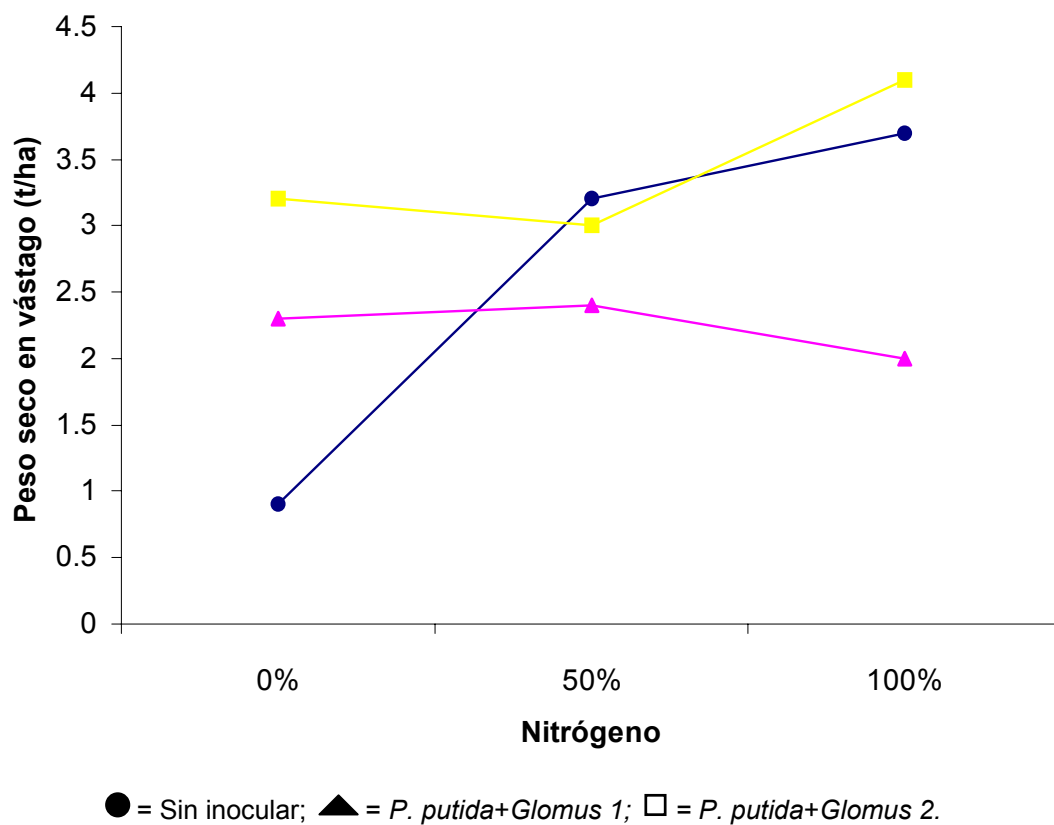


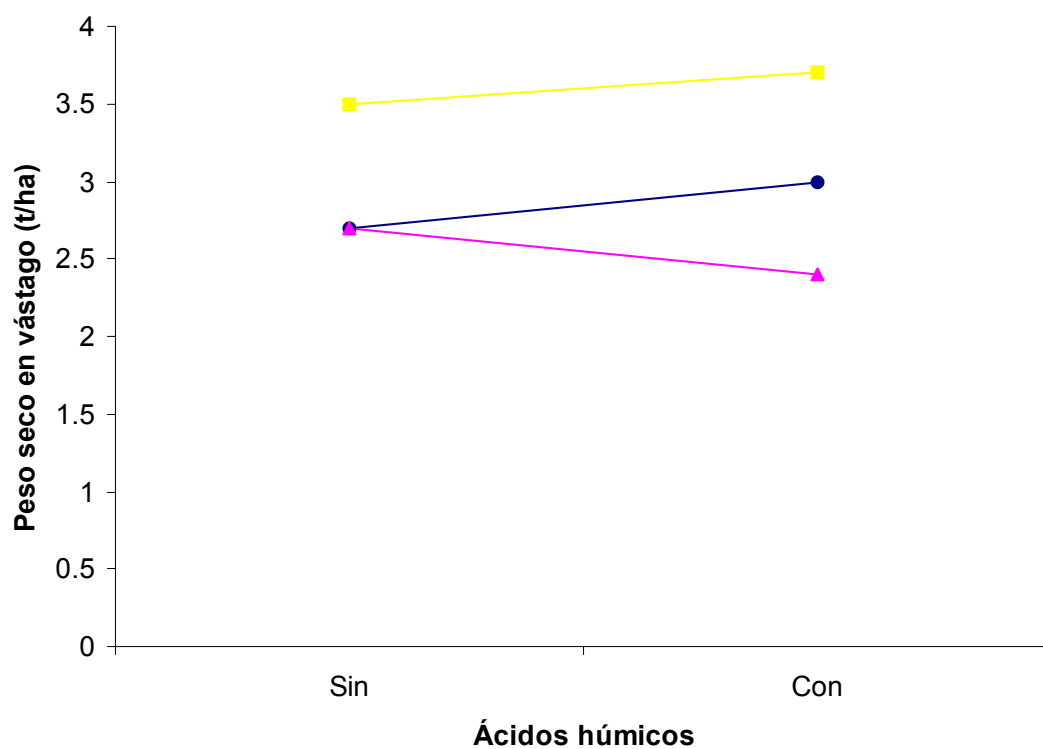
Figura 1. Efecto de la interacción entre *Pseudomonas putida+Glomus spp* y nitrógeno sobre el peso seco de vástago de trigo variedad Pavón F-76.

La interacción entre *P. putida*+*Glomus* 1 y el nitrógeno sobre el peso seco de vástago fue negativa, ya que a mayor nivel de fertilizante nitrogenado disminuyó el peso seco, lo cual indica que niveles altos de nitrógeno afectaron el crecimiento o actividad de los inoculantes. Esto es similar con lo observado por Ryan *et al.* (1994), quienes al aplicar niveles elevados de fertilizante en trigo vieron reducida la colonización microbiana.

El trigo coinoculado con *P. putida*+*Glomus* 2 y 50 %N, fue superado por el trigo sin inocular y 50 %N. Sin embargo, el trigo con la misma coinoculación obtuvo un peso seco de vástago estadísticamente igual al trigo usado como control relativo (sin inocular y fertilizado con 100 %N), (Apéndice 1A1, tratamientos 18 y 13). Lo anterior no sucedió con el trigo coinoculado con *P. putida*+*Glomus* 1, donde se observó una interacción negativa entre los inoculantes y el N debido a que la dosis alta de nitrógeno puede disminuir la exudación radical y consecuentemente reducir la

actividad bacteriana (Graham *et al.*, 1981) y la colonización micorrízica (Azcón *et al.*, 1982). Según Ratnayake *et al.* (1978), el efecto perjudicial de las altas dosis de fertilizante nitrogenado sobre la colonización micorrízica, parece deberse a que disminuye la exudación de aminoácidos y azúcares reductores. Estos resultados sugieren que *Glomus 1* y *Glomus 2* son especies diferentes ya que no responden de igual manera a los mismos niveles de fertilización nitrogenada.

En la Figura 2 Se muestra una interacción negativa entre *P.putida+Glomus 1* y ácidos húmicos sobre el peso seco de vástago de trigo,



● = Sin inocular; ▲ = *P. putida*+*Glomus* 1; □ = *P. putida*+*Glomus* 2.

Figura 2. Efecto de la interacción entre *Pseudomonas putida*+*Glomus spp* y ácidos húmicos sobre el peso seco de vástago de trigo variedad Pavón F-76.

● ▲ □

debido probablemente a que la relación cuantitativa entre ambos no fue la correcta, pues, según Sánchez-Yáñez (1994) una combinación adecuada de bacterias y ácidos húmicos, favorece el crecimiento de trigo. Por otra parte, la interacción entre *P. putida*+*Glomus* 2 y ácidos húmicos sobre la misma variable fue poco significativa. Ambos resultados demuestran que la aplicación de ácidos húmicos prácticamente no tuvo influencia sobre el peso seco de vástago de trigo inoculado. Tampoco se observó interacción significativa entre el nitrógeno y ácidos húmicos sobre el peso seco de vástago de trigo (Figura 3).

En la Figura 4 se representa el efecto de la coinoculación sobre el peso seco de vástago de trigo a diferentes niveles de nitrógeno y adicionado con ácidos húmicos. El trigo con *P. putida*+*Glomus* 2 sin y con ácidos húmicos al nivel 0 %N, alcanzó un peso seco significativamente superior ($P \leq 0.05$) al trigo usado como control absoluto (sin inocular y sin fertilizar). Esto se debe posiblemente a que *Pseudomonas* tiene la capacidad de solubilizar nutrientes como el fósforo que se encuentran en el suelo, dejándolos a disposición de la planta (Parke, 1991), además aumenta la asimilación de nitrógeno, obteniendo plantas más vigorosas. También las endomicorrizas vesículo-arbusculares aumentan la zona de exploración y absorción de nutrientes y con ello la capacidad de la planta en la absorción de los nutrientes existentes en suelo (Aziz y Sylvia, 1991). Por otra parte los ácidos húmicos estimulan el crecimiento de los microorganismos, favoreciendo la asimilación de nutrientes del suelo por las raíces de la planta, ya que incrementan la penetrabilidad de las

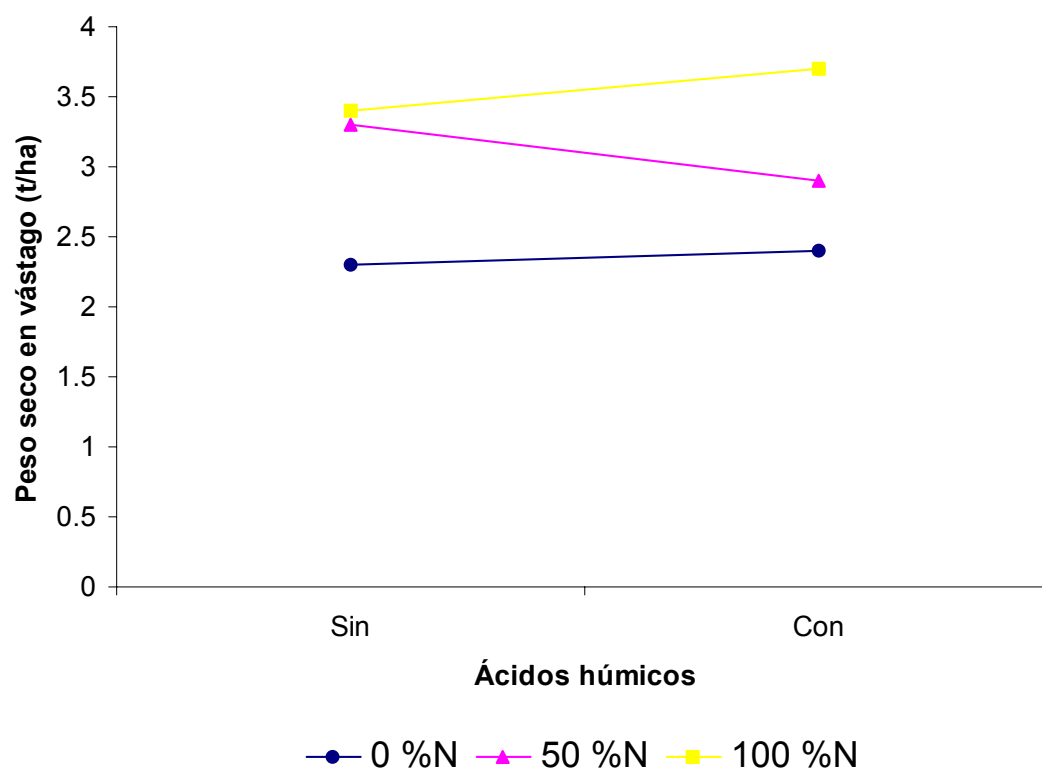
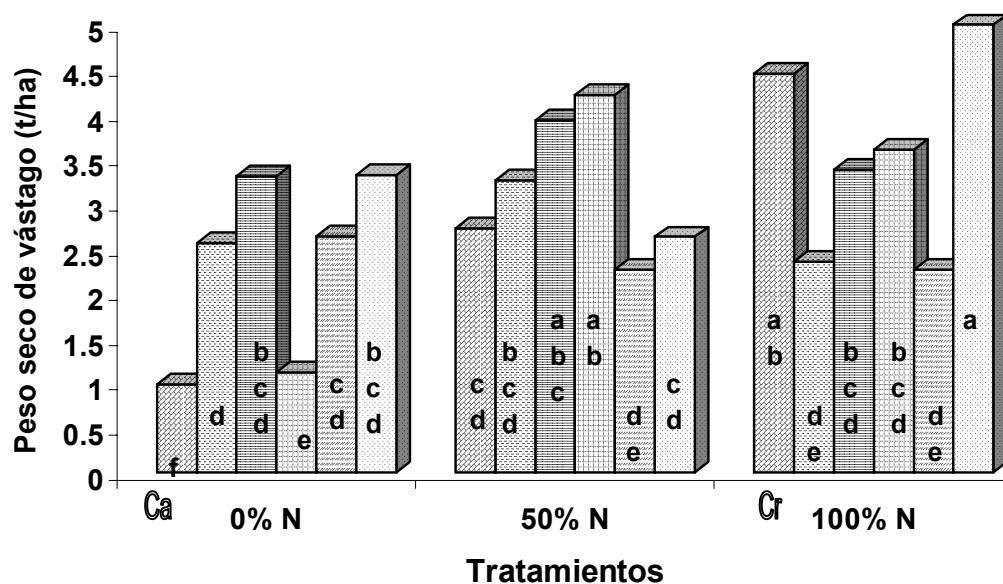


Figura 3. Efecto de la interacción entre el nitrógeno y ácidos húmicos sobre el peso de vástago de trigo variedad Pavón F-76.









 = Sin inocular;  = *P. putida*+*Glomus* 1;  = *P. putida*+*Glomus* 2;  = Ácidos húmicos;  = *P.p*+*G1*+ Ácidos húmicos;  = *P.p*+*G2*+ Ácidos húmicos. Ca =Control absoluto; Cr =Control relativo; Barras con letras homólogas son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha = 0.05$).

Figura 4. Efecto de *Pseudomonas putida*+*Glomus* spp. con y sin ácidos húmicos y diferentes niveles de nitrógeno sobre el peso seco de vástago de trigo variedad Pavón F-76.

membranas vegetales y la penetración de nutrimentos y transportan macro y micronutrimentos desde la raíz al follaje de las plantas y favorecen la nutrición al translocarlos a diferentes partes de la misma (Narro, 1993).

El trigo que logró mayor peso seco de vástago al 50 % de nitrógeno, fue el coinoculado con *P. putida*+*Glomus* 2, así como el trigo al que sólo se le aplicó ácidos húmicos, los cuales estadísticamente igualaron al trigo utilizado como control relativo (sin inocular y con 100 %N). Esto es atribuible a que bajas aplicaciones de fertilizante nitrogenado (Karow y Lindesy, 1985), aumentan significativamente el porcentaje de micorrización en la rizosfera de la planta y con ello los beneficios. Según Sánchez-Yáñez (1994), el efecto de los inoculantes bacterianos en trigo, sugiere un efecto estimulador que se traduce en una mayor producción de materia seca y rendimiento de las plantas inoculadas, potenciado con niveles bajos de urea y/o ácidos húmicos. En la presente investigación *P. putida* posiblemente transformó los exudados radicales del trigo en sustancias promotoras de crecimiento

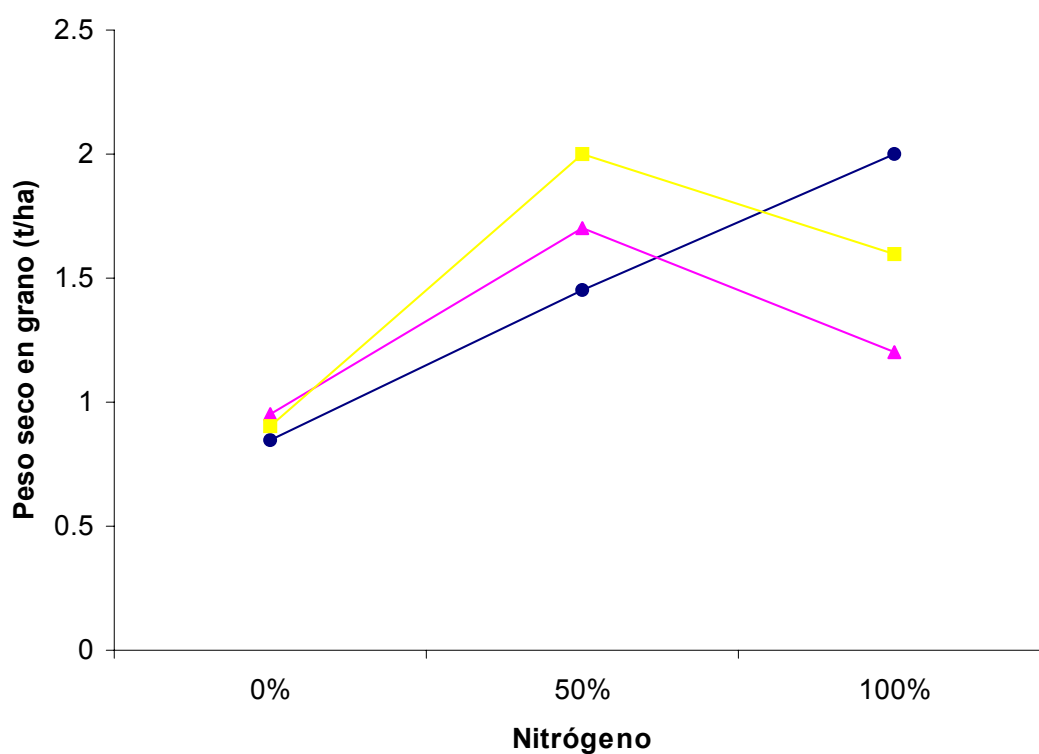
vegetal, lo que a su vez propició una mayor eficiencia de asimilación radical de nutrimentos y con ello un incremento en el peso seco de vástago.

El trigo con *P. putida*+*Glomus* 2 y fertilizado con 100 %N, presentó una disminución de peso seco con respecto al trigo usado como control relativo debido a que altos niveles de fertilizante nitrogenado reduce la germinación de esporas de *Glomus* (Hepper,1983) y la colonización micorrízica (Abbott *et al.*, 1984). Sin embargo, al agregar ácidos húmicos el trigo inoculado logró un peso seco estadísticamente igual al trigo control relativo, indicando la influencia positiva de los ácidos húmicos a dicho nivel de fertilización.

Peso seco de grano o rendimiento

En la Figura 5 se muestra el efecto de la interacción entre *P. putida*+*Glomus spp* y nitrógeno sobre el peso seco de grano o rendimiento de trigo. Se puede distinguir que el trigo con *P.putida*+*Glomus* 2 y fertilizado con 50 %N, obtuvo un mayor rendimiento que el trigo sin inocular y estadísticamente igual ($P \leq 0.05$) al trigo usado como control relativo, como se observa en el Apéndice 2A1(tratamientos 12 y 13), lo que denota que la aplicación de la coinoculación es muy significativa. Esto puede atribuirse a que *Pseudomonas* solubiliza minerales y nutrimentos, aumenta la asimilación de nitrógeno, e interactúa sinérgicamente con endomicorrizas como *Glomus*, propiciando una mayor colonización que benefició al trigo.

El trigo con *P. putida*+*Glomus* 2 pero fertilizado a 100 %N sufrió disminución del rendimiento, por lo que la interacción microorganismos-fertilizante resultó negativa, debido posiblemente a que el alto nivel de nitrógeno afectó la coinoculación. Land *et al* (1993) observaron un efecto similar entre la fertilización nitrogenada y la presencia de endomicorrizas vesículo-arbusculares, concluyendo que conforme se incrementaban los niveles de fertilizante químico a la planta, se retardaba o inclusive se inhibía la colonización micorrízica.



● = Sin inocular; ▲ = *P. putida*+*Glomus* 1; □ = *P. putida*+*Glomus* 2.

Figura 5. Efecto de la interacción entre *Pseudomonas putida*+*Glomus spp* y nitrógeno sobre el rendimiento de grano de trigo variedad Pavón F-76.

● ▲ □

El comportamiento del trigo coinoculado con *P. putida*+*Glomus* 1, fue similar al del coinoculado con *P. putida*+*Glomus* 2, sólo que el rendimiento obtenido fue menor. Esto probablemente se deba a que las endomicorrizas fueron aisladas de distintas malezas y que sus patrones de comportamiento son diferentes.

En la Figura 6 se observa la interacción entre *P. putida*+*Glomus spp* y ácidos húmicos sobre el rendimiento en grano. El trigo coinoculado con *P. putida*+*Glomus* 2, presentó una interacción positiva con los ácidos húmicos debido a que éstos favorecieron el crecimiento de los inoculantes.

La interacción entre nitrógeno y ácidos húmicos, no fue significativa en el rendimiento de grano de trigo (Figura 7), con excepción del trigo fertilizado con 100 % de nitrógeno adicionado con ácidos húmicos.

En la Figura 8 se representa el efecto de la coinoculación sobre el rendimiento de grano a diferentes niveles de nitrógeno y adicionado con ácidos húmicos. Se observa que el trigo coinoculado con y sin ácidos húmicos y sin nitrógeno fue estadísticamente similar al trigo utilizado como control absoluto, lo que indica que en ausencia de fertilización nitrogenada no se manifestó la acción de los inoculantes. El trigo inoculado con *P. putida*+*Glomus* 1 o *Glomus* 2 adicionado con ácidos húmicos y fertilizado con 50 %N alcanzó un rendimiento similar al trigo utilizado como control relativo. Dicho efecto puede deberse a que los ácidos húmicos permiten a la planta el mejor aprovechamiento de los fertilizantes aplicados, y estimulan el crecimiento de los microorganismos

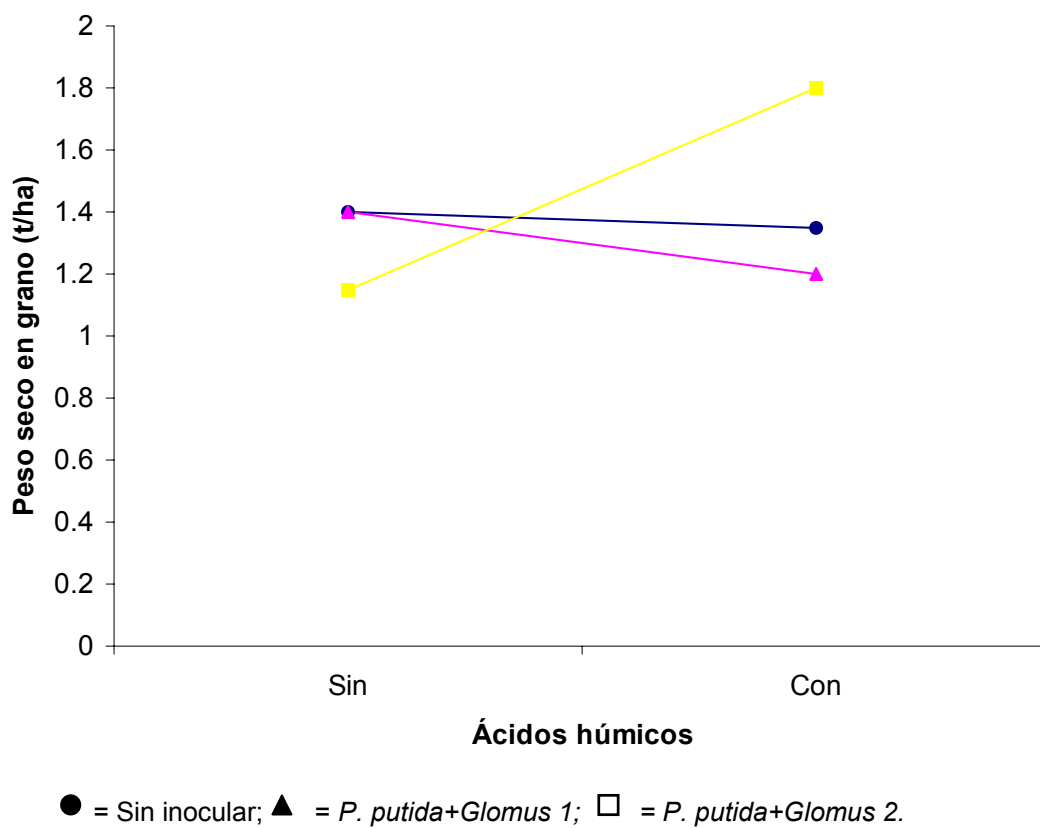


Figura 6. Efecto de la interacción entre *Pseudomonas putida*+*Glomus spp* y ácidos húmicos sobre el rendimiento de grano de trigo variedad Pavón F-76.

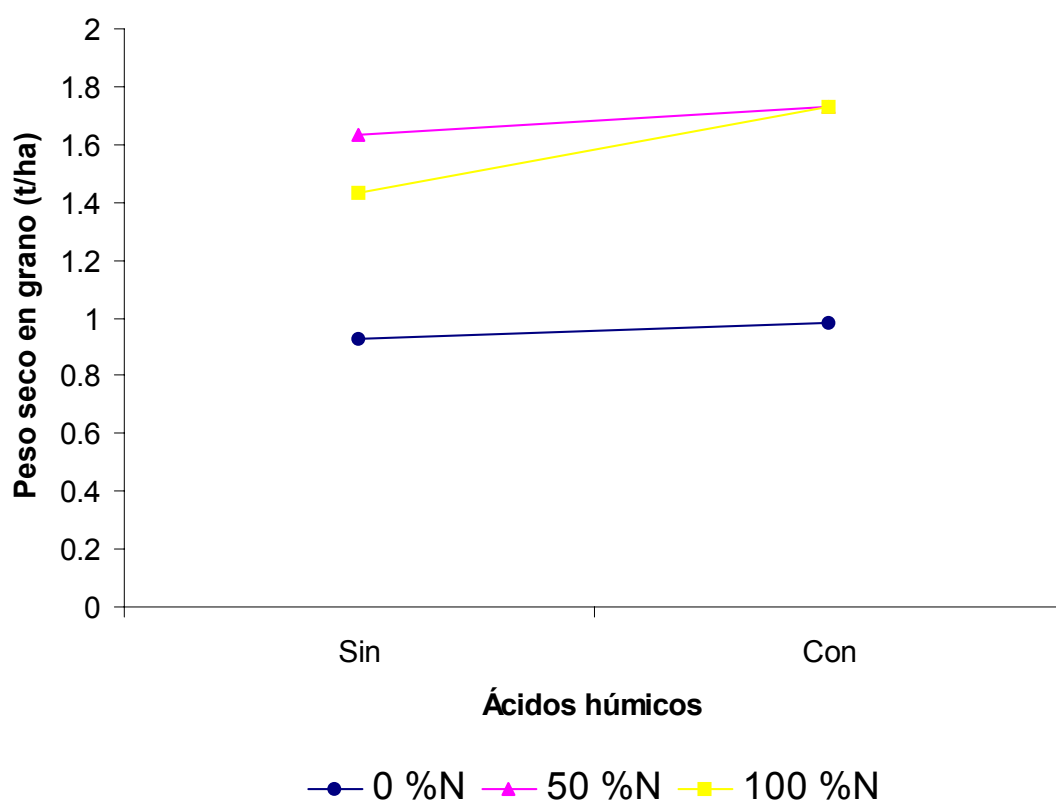
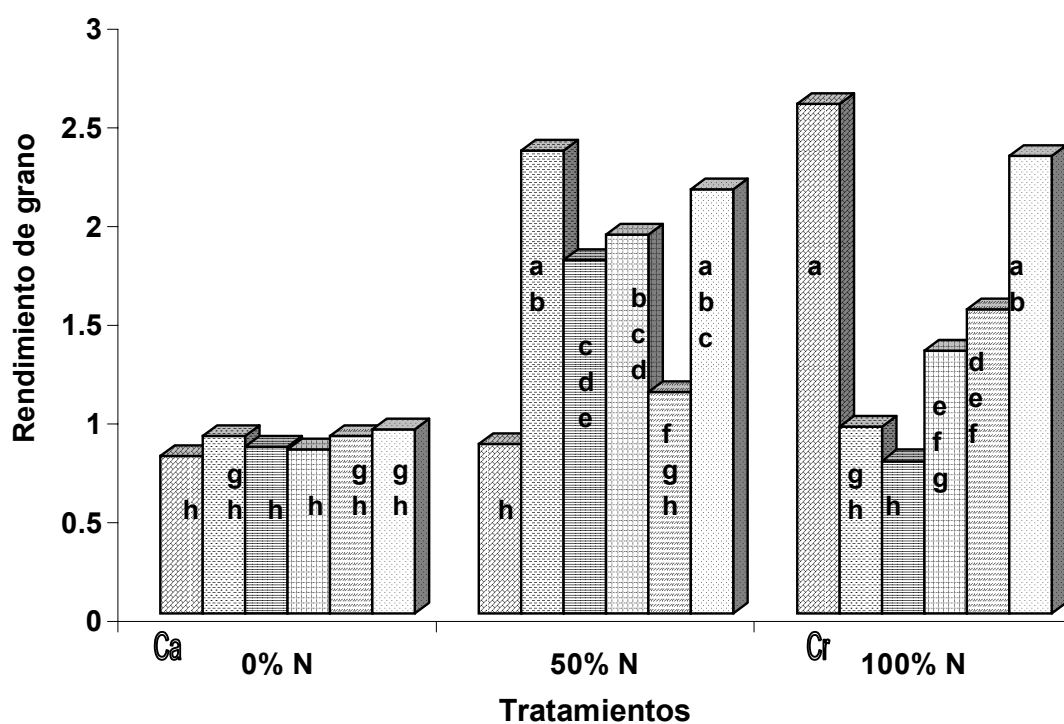


Figura 7. Efecto de la interacción entre nitrógeno y ácidos húmicos sobre el rendimiento de grano de trigo variedad Pavón F-76.



= Sin inocular; = *P. putida*+*Glomus* 1; = *P. putida*+*Glomus* 2; = Ácidos húmicos; = *P. p*+G1+Ácidos húmicos; = *P. p*+G2+Ácidos húmicos. Ca = Control absoluto; Cr = Control relativo; Barras con letras homólogas son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha = 0.05$).

Figura 8. Efecto de *Pseudomonas putida*+*Glomus spp.* con y sin ácidos húmicos y diferentes niveles de nitrógeno sobre el rendimiento de grano de

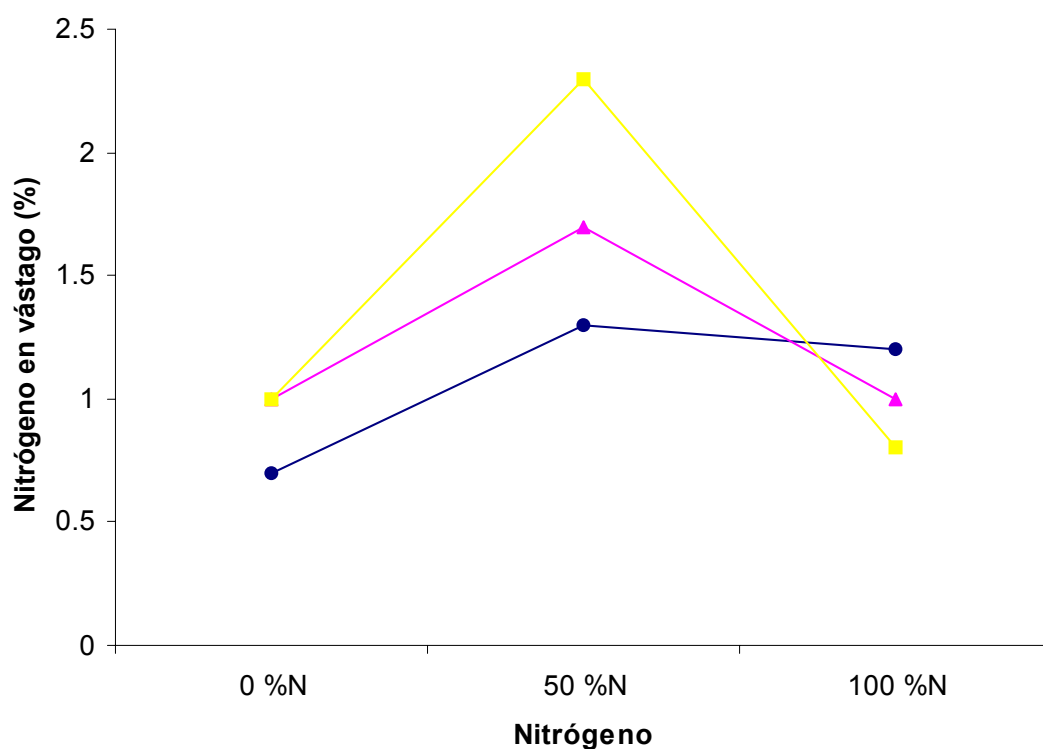
trigo variedad Pavón F-76.

(Narro, 1993). según Kucey. (1988), también puede atribuirse a la producción e incorporación de ácido giberélico sintético a la planta por *Pseudomonas*, lo cual aumenta el crecimiento vegetal. Además la endomicorriza vesículo-arbuscular pudo haber beneficiado a la planta al incrementar en ella la capacidad de absorción de nutrimentos, obteniendo un mejor desarrollo (Guzmán-Plazola y Ferrera-Cerrato, 1990).

En el trigo coinoculado y fertilizado con 100 %N, se observa un efecto antagónico entre este nivel de fertilización y los microorganismos, disminuyendo el rendimiento de grano, con excepción del trigo coinoculado con *P. putida*+*Glomus* 2 adicionado con ácidos húmicos, que logró mantenerse estadísticamente al nivel del trigo control relativo, este efecto se puede deber a que dicha combinación no fue inhibidora por la alta dosis.

Por ciento de nitrógeno de vástago

En la Figura 9 se representa el efecto de la interacción *P. putida*+*Glomus spp* y nitrógeno sobre el por ciento de nitrógeno de vástago de trigo. Se observa que el contenido de nitrógeno del trigo coinoculado y sin nitrógeno, superó al trigo usado como control absoluto, resaltando el efecto positivo de los inoculantes. Se distingue que el trigo coinoculado con *P. putida*+*Glomus 2* y fertilizado con 50 %N, obtuvo el mayor por ciento de nitrógeno en vástago, superando estadísticamente ($P \leq 0.05$) al trigo sin inocular (Apéndice 3A1, tratamientos 11 y 13). Esto se puede atribuir al reconocimiento de los exudados producidos en la espermosfera (zona que rodea a la semilla en germinación) y rizosfera (zona circundante a la raíz)



= Sin inocular; = *P. putida*+*Glomus* 1; = *P. putida*+*Glomus* 2.

Figura 9. Efecto de la interacción entre *Pseudomonas putida*+*Glomus* spp y nitrógeno sobre el por ciento de nitrógeno de vástago de trigo variedad Pavón F-76.

● ▲ □

por la bacteria y el hongo endomicorrízico permitiendo su colonización y efectos positivos en la planta (Baca, 1994).

Al incrementar la fertilización nitrogenada a 100 %, el trigo coinoculado presentó una disminución en el por ciento de nitrógeno en vástago, posiblemente debido a que esta cantidad de nitrógeno inhibe el efecto positivo de los coinoculantes sobre la eficiencia de asimilación del nitrógeno de trigo. En las Figuras 10 y 11 se observa una interacción nula o negativa entre los factores participantes sobre el nitrógeno de vástago del trigo.

En la Figura 12 se muestra el efecto de la coinoculación sobre el porcentaje de nitrógeno de vástago de trigo a diferentes niveles de nitrógeno y adicionado con ácidos húmicos. Se observa que el trigo coinoculado, sin y con ácidos húmicos y sin fertilizar, superó significativamente al control absoluto. El trigo coinoculado con *P. putida*+*Glomus* 2 y fertilizado con 50 % de nitrógeno obtuvo el mayor porcentaje de nitrógeno de vástago, siendo estadísticamente superior al control relativo. Esto, según Poi *et al.* (1988), se atribuye a que *Pseudomonas*, en presencia de niveles medios de urea, origina un incremento tanto en rendimiento como en la absorción de nitrógeno, lo cual se debe a la capacidad de dichas bacterias para incrementar la asimilación vegetal de nitrógeno y de suministrar compuestos hormonales. A este efecto se puede agregar la acción benéfica de las endomicorrizas al dar a la planta mayor capacidad de absorción de nutrimentos. El trigo coinoculado y fertilizado a 100 %N, presentó un

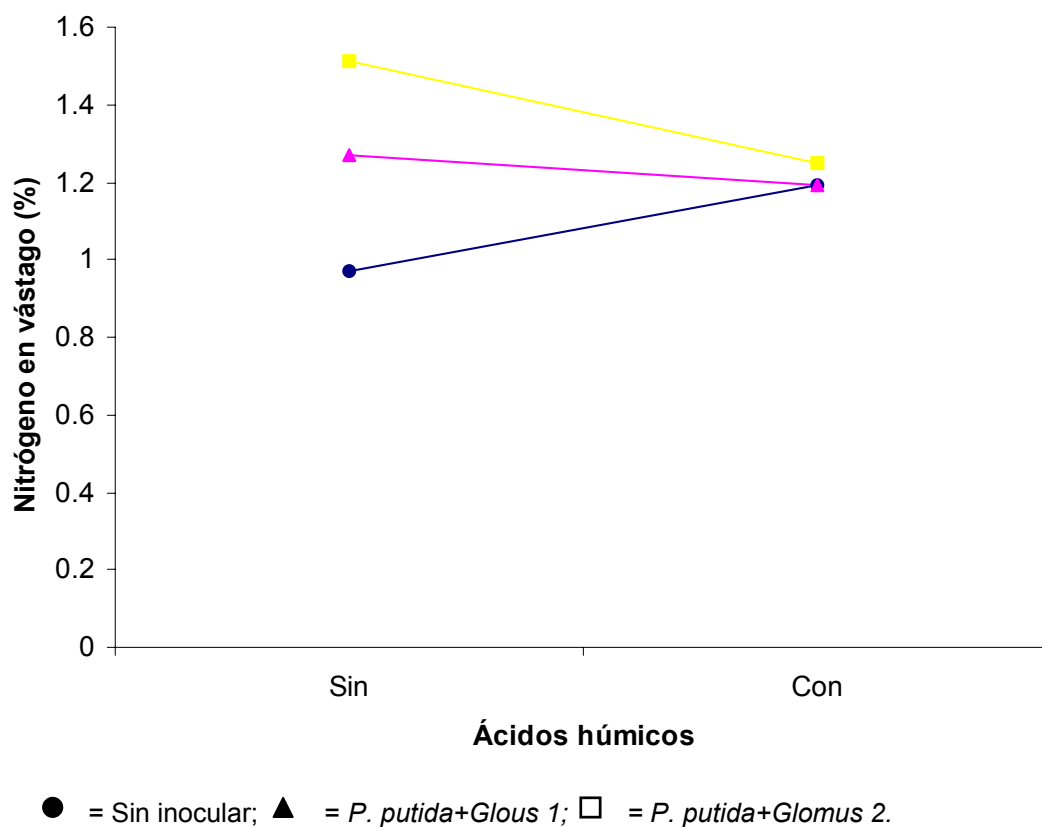


Figura 10. Efecto de la interacción entre *Pseudomonas putida*+*Glomus spp* y ácidos húmicos sobre el por ciento de nitrógeno de vástago de trigo variedad Pavón F-76.

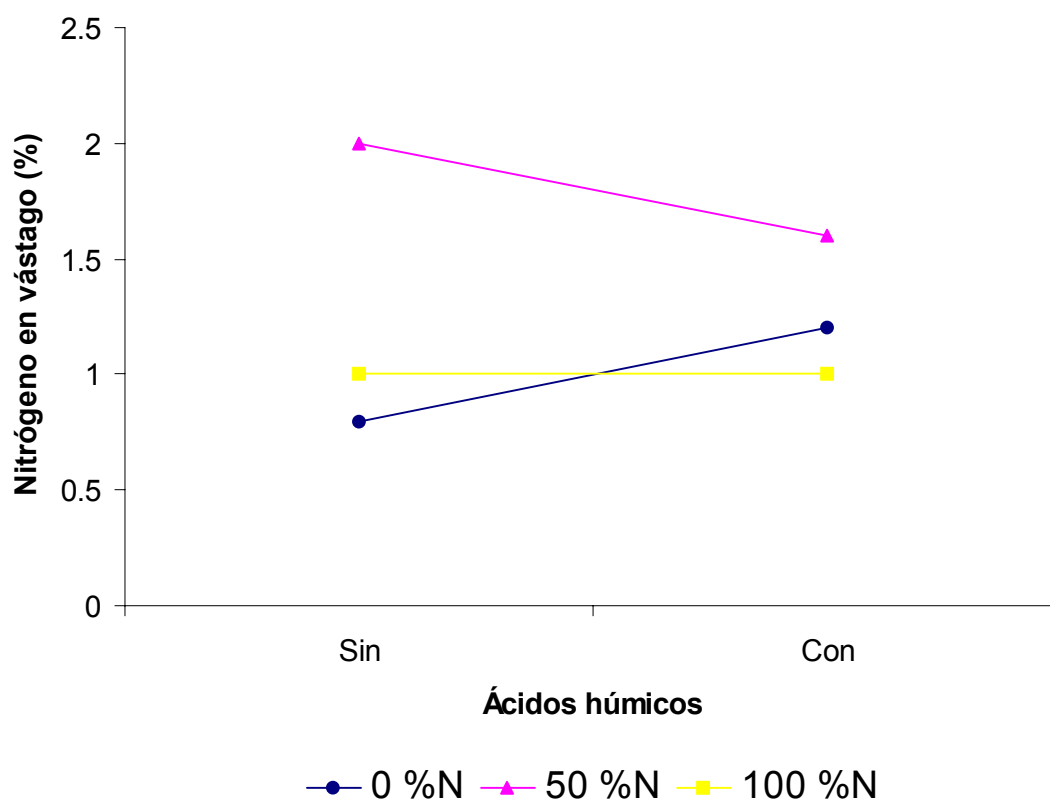
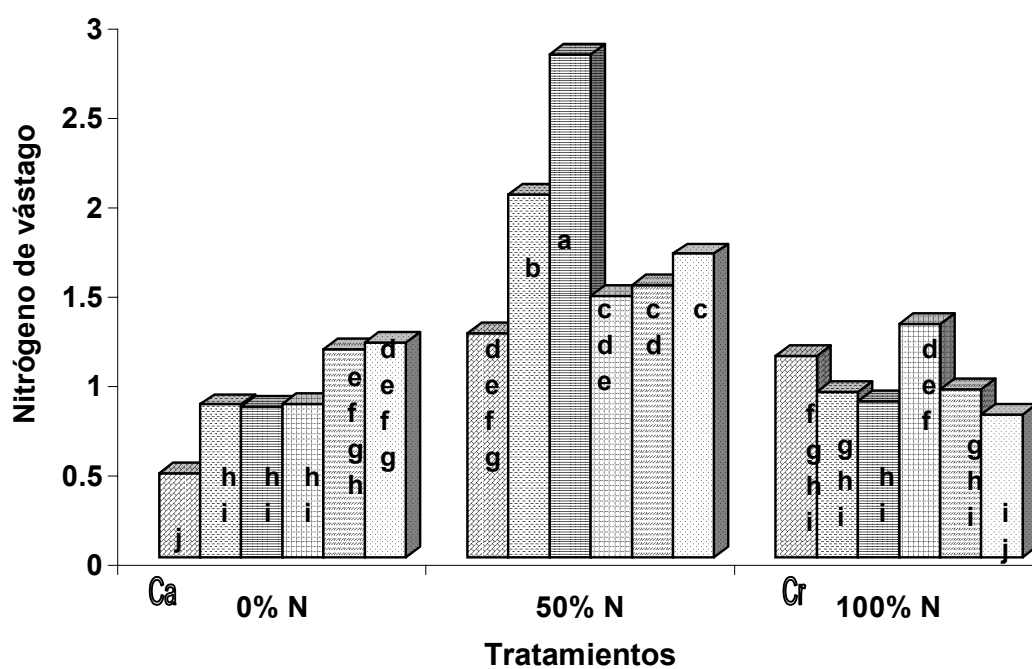


Figura 11. Efecto de la interacción entre el nitrógeno y ácidos húmicos sobre el por ciento de nitrógeno de vástago de trigo variedad Pavón F-76.









 = Sin inocular;  = *P. putida*+*Glomus* 1;  = *P. putida*+*Glomus* 2;  = Ácidos húmicos;  = *P. p*+*G*1+ Ácidos húmicos;  = *P. p*+*G*2+ Ácidos húmicos. Ca = Control absoluto; Cr = Control relativo; Barras homólogas son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha = 0.05$).

Figura 12. Efecto de *Pseudomonas putida*+*Glomus spp.* con y sin ácidos

húmicos y diferentes niveles de nitrógeno sobre el por ciento de nitrógeno de vástago de trigo variedad Pavón F-76.

contenido de nitrógeno de vástago similar al trigo control relativo, e inferior al trigo coinoculado y fertilizado con 50 %N. Este comportamiento se atribuye a la inhibición del efecto positivo de los inoculantes sobre la eficiencia de asimilación del nitrógeno de trigo, pues, según Hepper (1983) altas dosis de fertilizante reducen la colonización y desarrollo de los inoculantes y por consiguiente su efecto positivo.

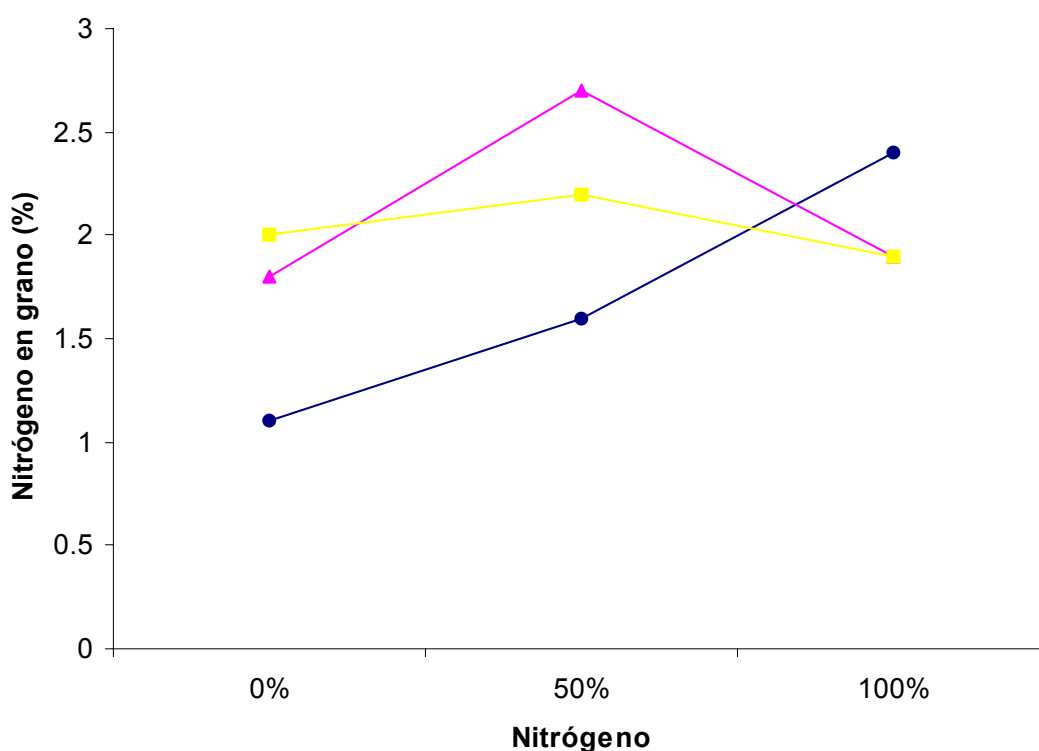
Por ciento de nitrógeno de grano

En la Figura 13 se representa la interacción entre *P. putida*+*Glomus spp* y nitrógeno sobre el por ciento de nitrógeno de grano de trigo. Se observa que el trigo coinoculado y sin fertilizar superó al trigo utilizado como control absoluto. El trigo coinoculado con *P. putida*+*Glomus* 1 y fertilizado

con 50 %N, logró un porcentaje de nitrógeno de grano estadísticamente similar ($P \leq 0.05$) al trigo control relativo (Apéndice 4A1, tratamiento 9 y 13). Sin embargo, al incrementar el nivel de nitrógeno a 100 % el trigo coinoculado presento una disminución en el por ciento de nitrógeno de grano, notándose el efecto perjudicial de la dosis alta sobre los inoculantes al limitar su desarrollo .

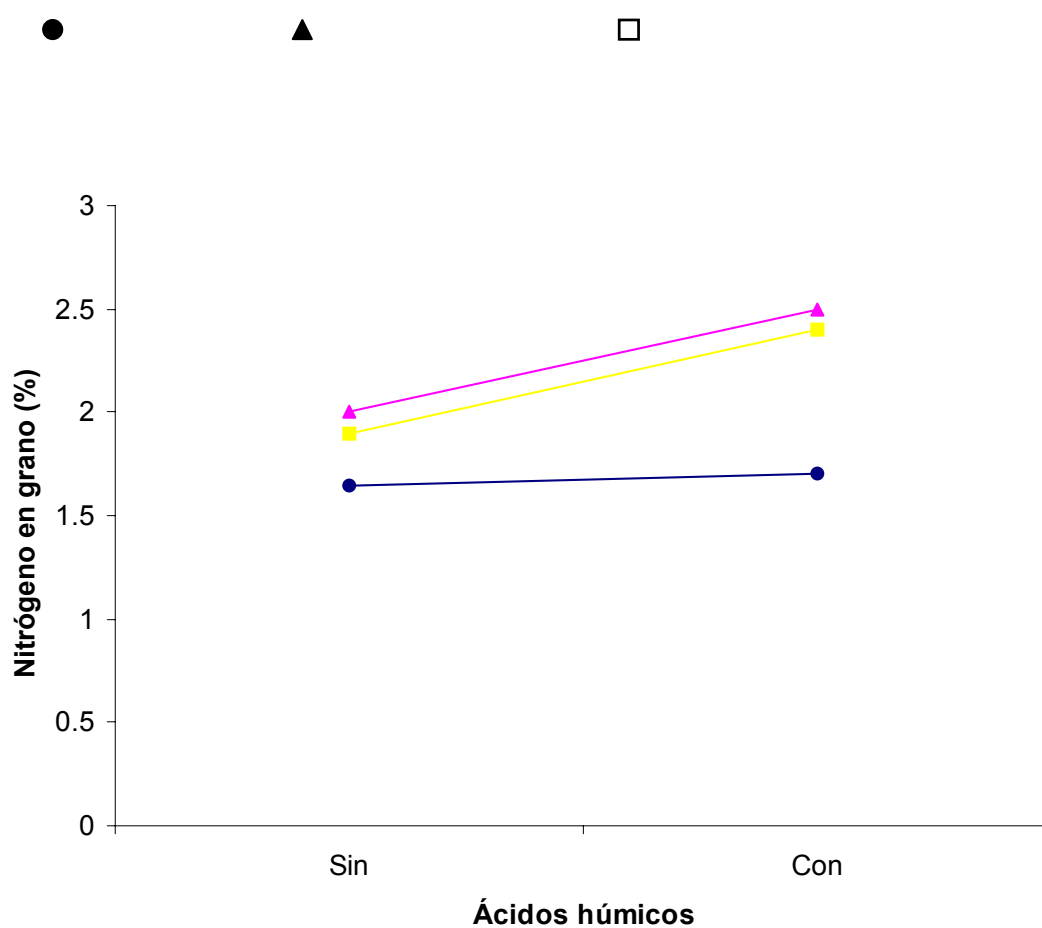
En la figura 14 se observa la interacción positiva entre la coinoculación y ácidos húmicos sobre el nitrógeno en el grano de trigo.

Se observó un efecto similar entre la interacción de nitrógeno y ácidos húmicos (Fig. 15). Resalta la acción positiva de los ácidos húmicos, que



= Sin inoculación; = *P. putida*+*Glomus* 1; = *P. putida*+*Glomus* 2.

Figura 13. Efecto de la interacción entre *Pseudomonas putida*+*Glomus spp* y nitrógeno sobre el por ciento de nitrógeno de grano de trigo variedad Pavón F-76.



● = Sin inocular; ▲ = *P. putida*+*Glomus* 1; □ = *P. putida*+*Glomus* 2.

Figura 14. Efecto de la interacción entre *Pseudomonas putida*+*Glomus* spp y ácidos húmicos sobre el por ciento de nitrógeno de grano de trigo variedad Pavón F-76.

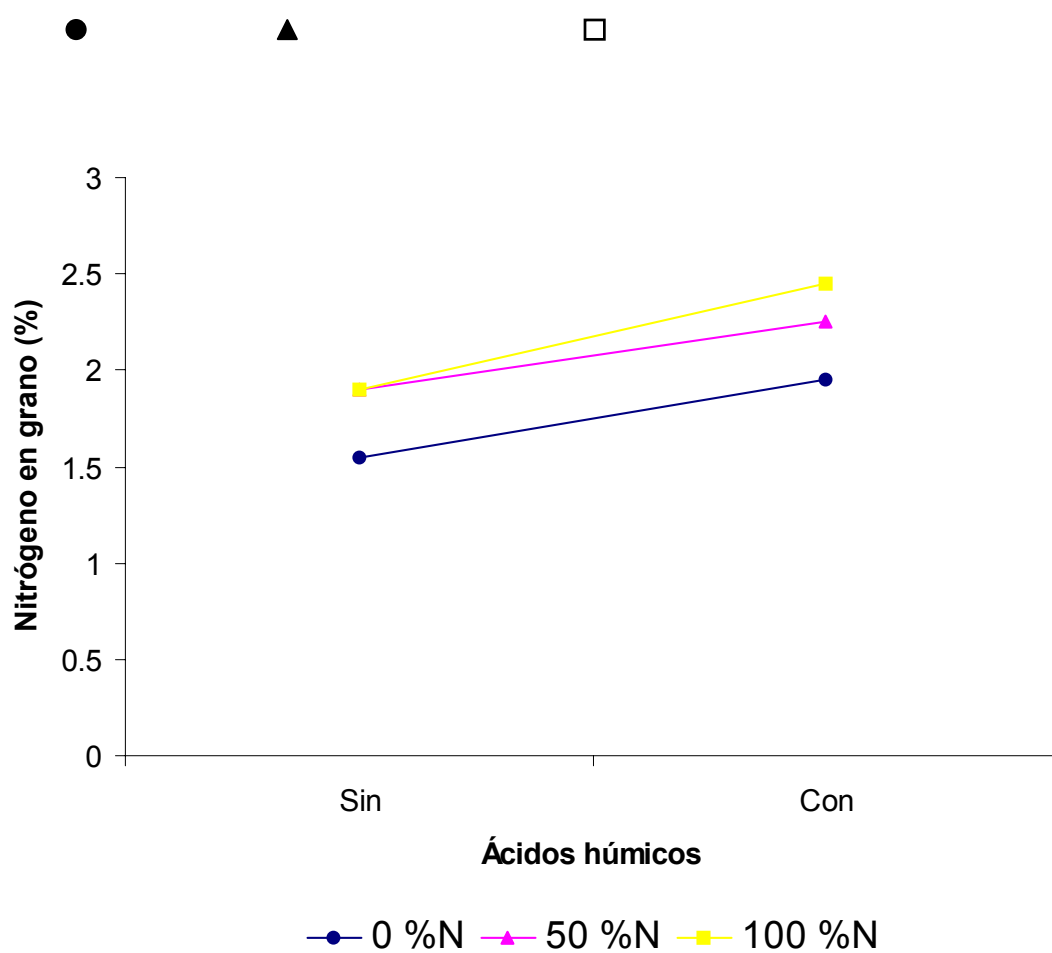


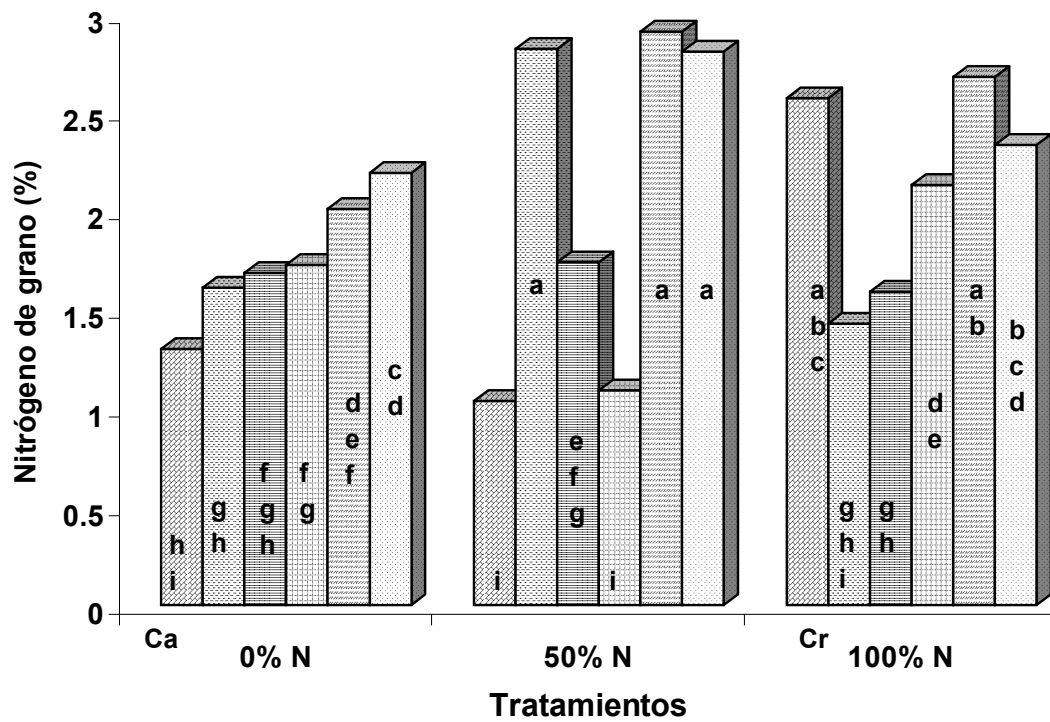
Figura 15. Efecto de la interacción entre nitrógeno y ácidos húmicos sobre el por ciento de nitrógeno de grano de trigo variedad Pavón F-76.

según Narro (1993), incrementan el aprovechamiento potencial de los fertilizantes por la planta y estimulan el crecimiento de los microorganismos.

En la Figura 16 se representa el efecto de la coinoculación sobre el por ciento de grano de trigo a diferentes niveles de nitrógeno y adicionado con ácidos húmicos. Se observa que el trigo coinoculado y sin fertilizar con y sin ácidos húmicos superó al control absoluto, resaltando el efecto positivo del inoculante en combinación con la acción positiva de los ácidos húmicos. El trigo inoculado con *P. putida*+*Glomus* 1, fertilizado con 50 %N con y sin

ácidos húmicos, alcanzó un contenido de nitrógeno de grano mayor al trigo sin inocular e igual al trigo usado como control relativo. Estos resultados sugieren que los inoculantes incrementaron la asimilación de trigo del fertilizante nitrogenado en base a que niveles medios de urea en combinación con el efecto positivo de los ácidos húmicos, permiten un mayor desarrollo de los inoculantes, debido a que existe mayor exudación radicular (Baca, 1994).

Por último el trigo inoculado y fertilizado con 100 %N, presentó un decremento en el por ciento de nitrógeno de grano, posiblemente debido a que dosis altas de nitrógeno inhiben la actividad y colonización microbiana.



= Sin inocular; = *P. putida*+*Glomus* 1; = *P. putida*+*Glomus* 2; = Ácidos húmicos; = *P. p*+G1+ Ácidos húmicos; = *P. p*+G2+ Ácidos húmicos. Ca = Control absoluto; Cr = Control relativo; Barras con letras homólogas son estadísticamente iguales (Tukey, $\alpha = 0.05$).

Figura 16. Efecto de *Pseudomonas putida*+*Glomus* spp. con y sin ácidos húmicos y diferentes niveles de nitrógeno sobre el por ciento de nitrógeno de grano de trigo variedad Pavón F-76.

CONCLUSIONES

Después de analizar los resultados del efecto de la inoculación *P. putida+Glomus spp* sobre el crecimiento y contenido de nitrógeno de trigo fertilizado con tres dosis de nitrógeno se concluye lo siguiente:

1. La inoculación *P. putida+Glomus* asemejó significativamente el peso seco de vástago de trigo fertilizado con la dosis media (50%) de nitrógeno con relación al trigo utilizado como control relativo (sin inocular y con 100% de fertilización nitrogenada).
2. La inoculación *P. putida+Glomus 2* tuvo mayor efecto positivo sobre el peso seco de vástago de trigo que *P. putida+Glomus 1*, lo cual indica que se trata de diferentes especies fúngicas.
3. No se observó una interacción positiva significativa entre los inoculantes y los ácidos húmicos ni entre nitrógeno y ácidos húmicos sobre el peso seco y sobre el contenido de nitrógeno de vástago de trigo.
4. Se observó una interacción positiva entre *P. putida+Glomus 2* y los ácidos húmicos sobre el peso seco de vástago sólo cuando el trigo se fertilizó con la dosis mayor nitrogenada.
5. La inoculación *P. putida+Glomus 1* o *Glomus 2* adicionado con ácidos húmicos igualó estadísticamente ($p \leq 0.05$) el rendimiento de trigo fertilizado con la dosis media de nitrógeno en comparación al trigo

utilizado como control relativo.

6. Se observó una interacción positiva entre *P. putida*+*Glomus* 2 y ácidos húmicos sobre el rendimiento de trigo.
7. No se observó interacción positiva significativa entre los ácidos húmicos y la fertilización nitrogenada sobre el rendimiento de trigo probablemente debido a que las cantidades utilizadas no fueron las adecuadas.
8. La inoculación *P. putida*+*Glomus* 2 incrementó el contenido (por ciento) de nitrógeno en vástago de trigo con la dosis media de nitrógeno con relación al trigo control relativo; la dosis alta de nitrógeno disminuyó el efecto benéfico de los inoculantes.
9. La coinoculación *P. putida*+*Glomus* 2 adicionado con ácidos húmicos incrementó el contenido de nitrógeno (por ciento) en grano de trigo fertilizado con la dosis media de nitrógeno con relación al trigo control relativo.
10. No se observó diferencia significativa entre *P. putida* y *Glomus* 1 o *Glomus* 2 adicionado con ácidos húmicos sobre el contenido de nitrógeno en grano de trigo fertilizado con el nivel medio de nitrógeno.
11. La dosis nitrogenada alta disminuyó los efectos benéficos de los inoculantes probablemente debido a una disminución en la colonización microbiana o a que esta dosis redujo la necesidad de establecer la relación benéfica microorganismo-planta.

RESUMEN

Se realizó una investigación experimental en la cual se coinoculó con una rizobacteria (*Pseudomonas putida*) y una de dos endomicorrizas vesículo arbusculares (*Glomus spp*) con el objetivo de evaluar su efecto sobre el peso seco, rendimiento y contenido (por ciento) de nitrógeno a tres dosis de fertilización y adicionado con ácidos húmicos.

Los microorganismos se aislaron de malezas asociadas al cultivo de trigo localizadas dentro de los terrenos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, *Pseudomonas putida*, aislada de *Aristida spp* (Tres barbas), se reprodujo en caldo nutritivo bajo agitación constante y se propagó en turba previamente molida y esterilizada. *Glomus 1* se obtuvo de la raíz molida de la maleza *Reseda luteola* (Gualda) y *Glomus 2* de *Eruca sativa* Mill (Nabo); dichos microorganismos colonizaron la rizosfera de las raíces del trigo.

Los tratamientos consistieron en la coinoculación de semillas de trigo con tres niveles de fertilizante nitrogenado (0, 50 y 100% de la dosis recomendada para la región), con y sin ácidos húmicos. Las variables evaluadas fueron peso seco de vástago, rendimiento de grano de trigo, así como el por ciento de nitrógeno en vástago y grano.

El trigo inoculado con *P. putida*+*Glomus* 2 y fertilizado con 50 %N igualó el peso de vástago del trigo utilizado como control relativo ; al nivel 50 %N el trigo con mayor rendimiento de trigo fue con *Pseudomonas putida*+*Glomus* 1, quien estadísticamente es similar al trigo usado como control relativo.

El trigo inoculado con *P. putida*+*Glomus* 2 y fertilizado con 50 %N obtuvo el mayor porcentaje de nitrógeno de vástago, siendo estadísticamente superior ($P \leq 0.05$) al trigo control relativo. Por otra parte, el trigo coinoculado con *P. putida*+*Glomus* 1 o 2 fertilizado con 50 por ciento de nitrógeno y adicionado con ácidos húmicos, alcanzó el mayor porcentaje de nitrógeno de grano, igualando estadísticamente al trigo control relativo.

LITERATURA CITADA

Abbott, L.K., Robson, A. D. Y Hall, I. R. 1984. Introduction of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi into agricultural soils. Austr. Jour. Agric. Res. 34: 744-749.

Alexander, M. 1980. Introducción a la Microbiología del suelo. 2ª edición. AGT. México.

Almendros, G., y Polo, A. 1983. Estudio de los compuestos húmicos de diversos tipos de composta preparados a partir de paja de trigo. Agrochimica, 27.

Andreux, F. y Metche, M. 1975. Biodegradation y Humification. En C.R. 1^{er} Coll. Intern. Nancy, Pierron ed., pp. 479-490.

Azcón, R., Gómez-Ortega, M. y Barea, J.M. 1982. Comparative effects of foliar-or soil-applied nitrate on vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in maize. New phytologist 92:553-559.

Azcón, R. y Barea, J.M. 1992. Effect of mycorrhizae V-A of decrease acquisition of Ca lucern in soil calcareous. Fertilizer and Biology in Soil. 13:3 p. 155-156.

Aziz, T. y Sylvia, D.M. 1991. The symbiotic association between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and *Leucaena leucophala*. Leucaena Res. Reports. 12: 111-118.

Baca, B. E., Soto, L. U., Xochihua, Y. G. y Cuervo, A. G. 1994. Characterization of Two Aromatic Amino Acid Aminotransferases and Production of Indolacetic in *Azospirillum* Strains. Soil Biol. Biochem. 26(1): 57-63. Great Britain.

Bagyarai, D. S. 1984. Biological interactions with V-A mycorrhiza and fungi pp. 131-154 In: L. C. Powell y D. Bagyarai (eds), V-A mycorrhizal. C. R. C. Press, Boca Raton, Florida, U.S.A.

Balderas, G M. 1990. Fertilizante enraizador y dos mejoradores de suelo sobre el crecimiento de frijol en un suelo calcáreo . Tesis Maestría. U.A.A.AN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Barea, J. M. 1987. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae improve both symbiotic N₂ fixation and nitrogen uptake from soil as assesed with a ¹⁵N technique under field conditions. New phytol. 106: 717-725.

Bashan, Y. 1995. Survival of *Azospirillum brasilense* in the Bulk Soil and Rhizosphere of 23 Soil Types. *APP. Environ Microbiol.* V. 61 (5) p. 1938-1945. U. S. A.

Beauchamp, C. J., Dion, p., Kloepper, J .W. y Antoun, A. 1991. Physiological characterization of Opine-Utilizing Rhizobacteria for Traits Related to Plant Growth-Promoting Activity Plant Soil. 132: 273-279. The Netherlands.

Berthelin, J., Leyual, C. y Weissenhorn, I. 1994. Agricultural and Health Impact of Soil Rhizosphere Weathering. ISSS. SMCS. Memorias del 15° Congreso Mundial de la Ciencia del Selo. (39): 572-585. México.

Bethlenfalvay, G. J. 1991. Mycorrhizae in sustainable agriculture. *ASA Spec. Publ.*

Bidwell, R. G. 1979. *Fisiología Vegetal*. 1ª edición. Editorial A. G. T. México D. F. p. 207.

Bodey, R.M y Dobereiner, J. 1996. Effect of arbuscular mycorrhizas on uptake of nitrogen by *Brachiaria arrecta* and *sorghum vulgare* from soils labelled for several years with ¹⁵N. *New Phytol.* 133: 1-8

Bolan, N. S. 1991. A critical review en the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil* 134: 189-207.

Boman, R. K., Westerman, W. R. y Joola, M. 1995. Time of nitrogen application: Effects on winter wheat and Residual Soil Nitrate. *Sci. Soc. AM. J.* 59: 1364-1369.

Bonfante-Faloso, P. y Perotto, S. 1994. *Plants and Endomycorrhizal Fungi; The cellular and Molecular Signals in Plant-Microbe Communications* P. 521. Boca Raton, London. Florida.

Borlaug, N. E. 1969. Mejoramiento de trigo: Su impacto en el abastecimiento mundial de alimentos. Serie de traducciones y sobretiros No.2 Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. México.

Box, J. E. y Hammond, L. C. 1990. Rhizosphere dynamics. En: J. E. Box y L. C. Hammond (eds). *AAAS. Selected Symposium 113*. Westview Press Boulder, Colorado, U. S. A.

Buckman, H.O. y Brady, C. N . 1996. *Naturaleza y propiedades de los suelos*. 1ª ed. Montaner y Simon, S. A. Editorial UTEHA, Barcelona.

Brown, M. E. 1974. Seed Root Bacterización. *Ann, Rev. Phytopathol.* V. 12: 311-331.

Campell, R. y Greaves, M. P. 1990. Anatomy and community structure of the rhizosphere. pp. 11-34. En: J. M. Lych (ed.) *The rhizosphere*, John

Witey and Sons, Nueva York, U. S. A.

Cepeda, D. J. M. 1983. Química de suelos. U. A. A. A. N. Buenavista, Saltillo, Coahuila.

CETENAL. 1976. Comisión de Estudios del Territorio Nacional.

Colín, R. M. 1992. Apuntes de cultivos básicos. Depto. Fitomejoramiento. Programa de cereales pequeños. U.A.A.A.N. Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Colle, C. V. y Heil, R. D. 1981. Phosphorus effects on terrestrial nitrogen cycling. Ecol. Bull (Stockholm) 33: 363-374.

Cooper, R. 1978. Bacterial Fertilizers in the Soviet Union. Soils and Ferts. 22: 327-333.

Cuervo, G. A. 1993. Characterization of two aromatic amino acid aminotransferase and production of indolacetic acid in *Azospirillum strains*, Soil Biochem. 26: 57-63.

Chambers, C. A., Smith, S. E. y Smith, F. A. 1980. Effects of ammonium and nitrate ions on mycorrhizal infection, nodulation and growth of *Trifolium subterraneum*. New phytologist 85: 47-62.

Chanway, C. P., Nelson, L. M. y Holl, F. B. 1988. Cultivar specific growth promotion of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) by coexistent *Bacillus species*. Can J. Microbiol. 34: 925-929.

Chapman, H. D. 1978. Western fertilizer hand book and American potash institute. USDA.

Devlin, R. M. 1970. Fisiología vegetal. Ed. Omega, Barcelona, 1970.

Dobereiner, J. 1982. Materia orgánica e inocula con *Azospirillum* na incorpora de N pelo milho. Pesqui. Agropecu. Bras. 17:14-32.

Domínguez, V. A. 1989. Tratado de fertilización. 2^a edición. Ediciones Mundiprensa. España.

Dommergues, Y. R. y Krupa, S. V. (eds). 1978. Interactions Between Soil Microorganism and plant. El servier. Amsterdam Oxford.

Donahue, L. R. 1992. Introducción a los suelos y al crecimiento de las plantas. Editorial Dossat, S. A. Madrid, España.

Ferrera-Cerrato, R. 1989. Rizosfera. En: Ferrera-Cerrato, R. (Ed) Ecología de la raíz. Sociedad Mexicana de Fitopatología, Montecillo, México. pp 1-21.

Ferrera-Cerrato, R. 1995. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on tissue culture derived plantlets of strawberry. Hort Sci. 25: 903-905.

Frankenberg, W. T. y Arshad, M. 1995. Phytohormones in soil, microbial production and function. Marcel Dekker Inc. New York. 503 pp.

Freityas, J. L. M., Da Rocha, R. E. M., Pereira, P.A.A. y Dobereiner, J. 1982. Materia orgánica e inocula con *Azospirillum* na incorpora de N pelo milho. Pesqui. Agropecu. Bras. 17: 14-32.

Garbaye, J. 1994. Helper bacteria. A New Dimension to the Mycorrhizal Symbiosis. New phytol. 128: 197-210.

García, G.E. 1995. Respuesta a la aplicación de Micorriza (V-A) en leguminosas (*Cassia tormentosa* L.) en tepetate rojo. Tesis Profesional, U A. Ch. Depto. de Suelos. Chapingo, México.

Gaskins, M. H., Albrecht, S. L. y Hubbell, D. H. 1985. Rhizosphere bacteria and their use to increase plant productivity: A review. Agriculture, Ecosystems and Environment 12: 99-116.

Gómez, M. 1995. Effects of Arbuscular Mycorrhizal *Glomus* Species on Drought Tolerance: Physiological and Nutritional Plant Responses Applied and Environmental Microbiology. 456-460.

Guzmán, C. R. 1997. Efecto de rizobacterias de malezas sobre trigo variedad Pvón F-76 bajo condiciones controladas. Tesis Profesional, U.A.A.A.N. Depto. de Suelos. Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Guzmán-Plazola, R. A. y Ferrera-Cerrato, R. 1990. La endomicorriza V-A en las leguminosas. Sección de Microbiología. Centro de Edafología. C. P. Montecillo. México.

Graham, J. H., Leonard, R. T. y Menge, J. A. 1981. Membrane mediated decrease in root exudation responsible for fertilizer inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhizal formation. Plant Physiology 68: 548-552.

Hayman, D. S. 1983. The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. Can. J. Bot. 61: 944-963.

Hepper, C. M. 1983. Effects of fertilizer on germination and growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Trans. Br. Mycol. 80: 487-490.

Hera, C., Cioban, G., Zapata, F. y Axman, H. 1994. Improving the nitrogen use efficiency of irrigated wheat. International Atomic Energy Agency, Vienna. Research coordination meeting on the use of nuclear techniques for optimizing fertilizer application under irrigated wheat.

Hunt, P. G. 1990. Microbial responses in the rhizosphere of agricultural plants in rhizosphere dynamics. J. E. Box y L. C. Hammond (Eds)

AAAS Selectes Symposium 113. Westview Press, Boulder, Colorado, U .S. A. pp. 116-135.

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, DR. 1998. El Sector Agropecuario en el Estado de Coahuila. ISBN 970-13-1678-9. Edificio sede Av. Héroe de Nacozari Num. 2301 Sur Fracc. Jardines del Parque, CP 20270 Aguascalientes.

Jacob, C. 1973. El desarrollo fisiológico y el rendimiento de cosechas. Escuela Nacional de Agricultura Chapingo México. pp. 231-238.

Janerette, C. A. 1991. An introduction to mycorrhizae. The Am. Biol. Teacher 53: 14-19.

Janzen, R. A. 1992. *Azospirillum brasilense* Produces Gibberellin in Pure Culture on Chemically-defined Medium and in Co-culture on Straw. Soil Biol. Biol. Biochem. 24 (10): 1061-1064. Great Britain.

Karow, J. y Lindsey, D. 1985. N, P, K, VAM infection, and growth response of alfalfa. Proceedings of the Sixth North American Conference on Mycorrhizae. Bend, Obregon. U. S. A. p. 390.

Kloepper, J. W., Schroth, M. N. y Miller, T. D. 1980. Effects of Rhizosphere colonization by plant Growth-promoting Rhizobacteria en potato plant Development and Yield. Phytopathol. 70: 1078-1082. U. S. A.

Kloepper, J. W., Zaplotowicz, R. M., Tipping, F. M. y Lifshitz, R. 1991. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. pp. 315-326. En: D. L. Keister and P. B. Cregan, (eds). The rhizosphere and plant growth. Klumer Academic Publisher. The Netherlands.

Kothari, S. K. 1991. Contribution of the V-A Mycorrhizal hyphae in acquisition of phosphorus and zinc by maize grown in a calcareous soil. Plant Soil. 131: 177-185.

Kucey, R. M. 1988. Plant growth altering effects of *Azospirillum brasilense* and *Bacillus C-11-25* on two wheat cultivars. Journal of Applied Bacteriology 64: 187-196.

Ladha, J. K. 1996. Division S-4 Soil Fertility plant Nutrition. Soil Sci. Soc. Am. J. 60: 1153-1159.

Land, S. H., Alten, Y. Y Von, A. 1993. The influence of host plant nitrogen fertilization and fungicide application on the abundance and seasonal dynamics of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi arable soils of northern Germany Rev. Plant patol. CAB. Abstracts on C.D.

Lalande, R., Bissonnette, N., Coutlee, D. y Antoon, H. 1989. Identification of rhizobacteria from maize and determination of their plant-growth promoting potential. Plant and Soil 115: 7-11.

Lynch, J. M. 1990. Introduction: Some consequences of microbial rhizosphere competence for plant and soil. pp 1-10. En: J. M. Lynch (ed). The rhizosphere, John Wiley and Sons, Nueva York, U. S. A.

Mahmoud, S. A., Ramadan, E. M., Thabet, F.M. y Khater, T. 1984. Production of plant growth promoting substances by rhizosphere microorganisms. Zentralblatt Fur Mikrobiologie 139: 227-232.

Menge, J. A. 1984. Utilization of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture. Can. J. Bpt. 61: 1051-1024.

Meyer, B. S. 1966. Introducción a la Fisiología vegetal. EUDEBA, Buenos Aires.

Meyer, J. R. y Linderman, R. G. 1986. Response of subterranean clover to dual inoculation with vesicular-arbuscular fungi and a plant growth promoting bacterium *Pseudomonas putida*. Soil Biol. and Biochem 18: 185-190.

Miller, V. E. 1981. Fisiología vegetal. Edit. Uthea. 1^a ed. pág. 135 México.

Mukerji, K. G., Tagpal, R., Bali, M. y Rennie, R. 1998. The importance of mycorrhizal for roots. En: Plant roots and their environment, proceeding of on ISRR-Symposium august 21 st-26 th. Uppasala, Sweden, Eds: L. Michael and H. Person Amsterdam, Elsevier, 1991. 249 p.

Narro, F. E. 1993. Nutrición y sustancias húmicas en el cultivo de la papa. Memorias del Congreso Nacional de Productores de Papa, Saltillo, Coahuila.

Nicolson, T. H. 1975. Vesicular-arbuscular mycorrhizae a universal plant symbiosis. Sci Prog. Oxf. 55: 561-568.

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

Ortíz, V. B. y Ortíz, S. A. 1984. Edafología. Edit. Limusa. UACH. 4^a EDIC. PP. 129-135. México.

Pacovsky, R. S. 1985. Influence of soil on the interactions between endomycorrhiza and *Azospirillum* in sorghum. Soil Biol. Biochem. 17: 525-531.

Pan, W. L. 1995. Wheat responses to vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal inoculation of soils from eroded toposequence. Soil Sci. Soc. Am. J. 59: 1086-1090.

Parke, J. L. 1991. Root colonization by indigenous and introduced microorganisms. En: The rhizosphere and plant growth. D. L. Keister Y P. B.

Cregaji (Eds) Kluwer Academic Pub. The Netherlands, pp. 33-42.

Peisajovich, J. 1998. Productores de hortalizas. Transplantes de micorrizas pag. 20-22.

Peña, J. 1988. Increased stress tolerance of nodule activity in the Medicago *Rhizobium-Glomus* Symbiosis under drought. J. Plant. Physiol. 133: 79-83.

Phillips, J. M. y Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 55: 158-161.

Poi, S. C., Kabi, T. y Kabi, M. C. 1988. Response of mustard *Brassica niger* to inoculation with *Azotobacter chroocum* mutant Str¹⁶ at different regimes of nitrogenous fertilizer. Environmental Ecology 6: 653-655.

Powell, C. L. 1980. Mycorrhizal infectivity of eroded soils. Soil Biology and Biochemistry. 12: 247-250.

Ratnayake, M., Leonard, R. T. y Menge, J. A. 1978. Root exudation in relation to supply of fertilizer and its possible relevance to mycorrhizal formation. New Phytologist 81: 543-552.

Rennie, R. J. y Larson, R. I. 1979. Dinitrogen fixation associated with disomic chromosome substitution lines of spring wheat, Can. J. Bot. 57: 2771-2775.

Rennie, R. J. 1994. The effect of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on yield of hard red spring wheat. Comico Fertilizer LTD. Saskatoon. Canada.

Reyes, M. C. 1993. La micorriza V-A en la asociación soya-maíz con énfasis en la transferencia de fósforo y nitrógeno. Tesis M. C. C.P. Centro de Edafología, Montecillos, México.

Reynolds, C. M. y Wolf, D. C. 1988. Effects of field methods and soil cover on estimating ammonia loss from nitrogen ¹⁵ Urea. Soil Sci. SAOC. Am J. 52: 706-712.

Ríos, G. S. 1994. Manejo de la endomicorriza V-A en plantas arbóreas para la rehabilitación de tepetate. Tesis profesional Depto. Fitotecnia, U. A. Ch. Chapingo, México.

Robles, S. R. 1978. Producción de granos y forrajes, 1^a edición, Editorial Limusa. México.

Robles, S. R. 1990. Producción de granos y forrajes. Edit. Limusa. 5^a ed. pp. 592. México.

Rodríguez, S. F. 1992. Fertilizantes, Nutrición vegetal. Editorial. AGT. Editorial S. A.

Ryan, M. H., Chilcers, G. A. y Dumaresq, D. C. 1994. Colonization of wheat by V-A mycorrhizal fungi was found to be higher on farm managed in a organic manner than on a conventional neighbour. *Plant and soil* 160: 33-40.

SAGAR. 1996. Informe oficial, mayo.

Sánchez-Yáñez, J. M. 1994. Influencia de bacterias y ácidos húmicos sobre el crecimiento de trigo bajo riego. *Anuario VI. IIQB, UMSNH.* 119-125.

Saña, J. More, J.C. y Cohi, A. 1996. La gestión de la fertilidad de los suelos. 277 pp. MAPA. Madrid.

Schippers, B., Bakken, P. W. y Van Peer, R. 1991. The rhizosphere and plant growth. L. Deister and P. B. cregan, eds. Kluwer Acad. Pub. Netherlands, 211-219 pp.

Schnitzer, M. 1991. Selected methods for the characterization of soil humic substances. En: P. McCarhy y cols (Ed): *Humic substances in soil and crop sciences.* ASA SSSA. Madison: 65-89.

Siqueira, J. O. 1988. *Biotechnología do solo: Fundamentos e perspectivas.* MEC. Ministerio de educacao, ABEAS; Lauras: FAEPE. Brasilia. pag. 235.

Stanier, Y. R., Doudoroff, M. y Edward, A. A. 1981. *Microbiología.* Aguilar España.

Strullu, D. G. 1994. Indigenous arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Acacia albida* Del. in different areas of senegal applied environmental Microbiology. Sept: 3433-3466.

Thompson, J. A. 1980. Production and quality control of legume inoculants. En, F. J. Bergersen (Ed). *Methods for evaluating biological nitrogen fixation.* John Wiley Sons Inc. N. Y., U. S. A. pp. 489-533.

Tisdale, S. L. y Nelson, W. L. 1991. *Fertilidad de los suelos y fertilizantes.* 1ª reimpresión. Ed. Limusa, S.A. de C. V. México, D. F.

Tiwana, M. S. 1992. Effects of biofertilizers and nitrogen on the yield and quality of pearl millet fodder. *Anals of Biology.* (Ludhiana) 1: 29-32.

Torres, B. A. 1993. Interacción hongos micorrízicos-cebolla y su relación con la pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk). Tesis M .C. Centro de Fitopatología, C. P. Montecillos México.

Urquiaga, S. 1996. Effect of arbuscular mycorrhizal on uptake of N by *Brachiaria arrecta* and *Sorghum vulgare* from soils labelled for several

years with ^{15}N . *New phytol.* 133: 1-8.

Valdés, M. y Michel-Rosales, A. 1996. Arbuscular micorrhizal colonization of lime in different agroecosystems of the dry tropics. *Mycorrhiza* 6: 105-109.

Villalobos, S. R. 1993. Potencial de la micorriza V-A en la producción de chile y cebolla. Tesis M.C. Centro de Fitopatología, C. P. Montecillos, México.

Villarreal, Q. J. A. 1983. Malezas de Buenavista Coahuila. UAAAN. 271 P.

Vivancos, A. D. 1978. Abonos minerales. Ministerio de agricultura, Madrid, España.

APÉNDICE

Apéndice 1A. Análisis de varianza de los datos obtenidos del peso seco de vástago de trigo variedad Pavón F-76, coinoculado con *Pseudomonas putida*+*Glomus spp.*

F α	F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	0.05	-	0.01
	Factor A	2	17.973999	8.987000	32.8795	3.174	**	5.040
	Factor B	2	13.725525	6.862762	25.1079	3.174	**	5.040
	Factor C	1	00.001953	0.001953	00.0071	4.024	NS	7.149
	A x B	4	27.250305	6.812576	24.9242	2.554	**	3.704
	A x C	2	00.778015	0.389008	01.4232	3.174	NS	5.040
	B x C	2	01.158081	0.579041	02.1185	3.174	NS	5.040
	A x B x C	4	14.551819	3.637955	13.3097	2.554	**	3.704
	Error	54	14.759888	0.273331				
	Total	71	90.199585					

CV = 17.44770%; Factor A = Nitrógeno; Factor B = Inoculación; Factor C = Ácidos húmicos. * * (altamente significativo); NS (no significativo).

Apéndice 1 A1. Tabla de medias de los datos anteriores (Apéndice 1A.)

Tratamientos	Medias	Combinación
18	4.9930	A
13	4.4490	AB
8	4.2080	AB
11	3.9250	ABC
14	3.6050	BCD
17	3.3760	BCD
6	3.3180	BCD
5	3.3000	BCD
9	3.2550	BCD
7	2.7220	CD
4	2.6330	CD
12	2.6270	CD
3	2.5600	D
15	2.3500	DE
16	2.2590	DEF
10	2.2570	DEF
2	1.1110	EF
1	0.9810	F

Nivel de significancia = 0.05 (Tukey).

Apéndice 2A. Análisis de varianza de los datos obtenidos del peso seco de grano (rendimiento) de trigo variedad Pavón F-76, coinoculado con *Pseudomonas putida*+*Glomus spp.*

F α

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	0.05	-	0.01
Factor A	2	9.1919400	4.595970	139.375	3.174	**	5.040
Factor B	2	0.3966980	0.198349	006.015	3.174	**	5.040
Factor C	1	0.4869230	0.486923	014.766	4.024	**	7.149
A x B	4	3.7714690	0.942867	028.593	2.554	**	3.704
A x C	2	0.1873740	0.093689	002.841	3.174	NS	5.040
B x C	2	2.4445040	1.222252	037.065	3.174	**	5.040
A x B x C	4	12.261078	3.065269	092.956	2.554	**	3.704
Error	54	1.7806700	0.032975				
Total	71	30.520660					

CV = 13.28864%; Factor A = Nitrógeno; Factor B = Inoculación; Factor C = Ácidos húmicos. * * (altamente significativo); NS (no significativo).

Cuadro 2 A1. Tabla de medias de los datos anteriores (Apéndice 2A.)

Tratamientos	Medias	Combinación
13	2.5830	A
9	2.3450	AB
18	2.3210	AB
12	2.1490	ABC
8	1.9170	BCD
11	1.7880	CDE
16	1.5400	DEF
14	1.3290	EFG
10	1.1190	FGH
15	0.9450	GH
6	0.9300	GH
3	0.9010	GH
4	0.8990	GH
7	0.8550	H
5	0.8430	H
2	0.8300	H
1	0.7940	H
17	0.7730	H

Nivel de significancia = 0.05 (Tukey).

Apéndice 3A. Análisis de varianza de los datos obtenidos del por ciento de nitrógeno de vástago de trigo variedad Pavón F-76, coinoculado con *Pseudomonas putida*+*Glomus spp.*

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	0.05	-	0.01
Factor A	2	11.654121	5.827061	356.924	3.174	**	5.040
Factor B	2	01.014610	0.507305	031.073	3.174	**	5.040
Factor C	1	00.011543	0.011543	000.707	4.024		NS
A x B	4	03.467430	0.866858	053.097	2.554	**	3.704
A x C	2	02.066696	1.033348	063.295	3.174	**	5.040
B x C	2	00.864449	0.432224	026.475	3.174	**	5.040
A x B x C	4	00.977776	0.244444	014.972	2.554	**	3.704
Error	54	00.881592	0.016326				
Total	71	20.938217					

CV = 10.38037%; Factor A = Nitrógeno; Factor B = Inoculación; Factor C = Ácidos húmicos. * * (altamente significativo); NS (no significativo).

Apéndice 3 A1. Tabla de medias de los datos anteriores (Apéndice 3A.)

Tratamientos	Medias	Combinación
11	2.8120	A
9	2.0320	B
12	1.6980	C
10	1.5210	CD
8	1.4660	CDE
14	1.3050	DEF
7	1.2510	DEFG
6	1.2040	DEFG
4	1.1650	EFGH
13	1.1250	FGHI
16	0.9380	GHI
15	0.9230	GHI
17	0.8720	HI
2	0.8610	HI
3	0.8550	HI
5	0.8410	HI
18	0.8020	IJ
1	0.4710	J

Nivel de significancia = 0.05 (Tukey).

Apéndice 4A. Análisis de varianza de los datos obtenidos del por ciento de nitrógeno de grano de trigo variedad Pavón F-76, coinoculado con *Pseudomonas putida*+*Glomus spp.*

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	0.05	-	0.01
Factor A	2	01.982147	0.991074	43.5934	3.174	**	5.040
Factor B	2	04.507599	2.253799	99.1358	3.174	**	5.040
Factor C	1	03.634125	3.634125	159.850	4.024	**	7.149
A x B	4	10.351501	2.587875	113.830	2.554	**	3.704
A x C	2	00.045258	0.022629	00.9954	3.174	NS	5.040
B x C	2	01.807922	0.903961	39.7617	3.174	**	5.040
A x B x C	4	02.536224	0.634056	27.8896	2.554	**	3.704
Error	54	01.227661	0.022734				
Total	71	26.092438					

CV = 7.5986%; Factor A = Nitrógeno; Factor B = Inoculación; Factor C = Ácidos húmicos.

** (altamente significativo); NS (no significativo).

Apéndice 4 A1. Tabla de medias de los datos anteriores (Apéndice 4A.)

Tratamientos	Medias	Combinación
10	2.9150	A
9	2.8250	A
12	2.8120	A
16	2.6880	AB
13	2.5770	ABC
18	2.3300	BCD
6	2.1970	CD
14	2.1370	DE
4	2.0120	DEF
11	1.7460	EFG
2	1.7300	FG
5	1.6870	FGH
3	1.6150	GH
17	1.5950	GH
15	1.4330	GHI
1	1.3060	HI
8	1.0960	I
7	1.0420	I

Nivel de significancia = 0.05 (Tukey).

