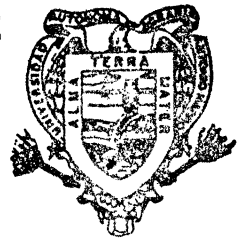


**EFECTO DE LA COINOCULACION *Pseudomonas*
putida/*Glomus* spp. SOBRE LA ABSORCION DE
NITROGENO Y FOSFORO EN TRIGO
(*Triticum aestivum* L.) CULTIVADO
EN SUELO CALCAREO**

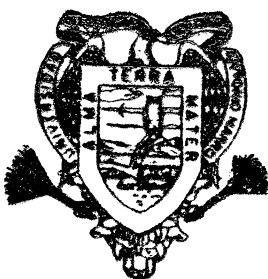
BLANCA ALMA VALDIVIA URDIALES

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS AGRICOLAS
AREA: SISTEMAS DE PRODUCCION



**BIBLIOTECA
EGIDIO G. REBONATO
BANCO DE TESIS
U.A.A.A.N.**



**Universidad Autónoma Agraria
"Antonio Narro"**

PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenvista, Saltillo, Coah.

AGOSTO DEL 2000

13529

Universidad Autónoma Agraria
Antonio Narro
Subdirección de Postgrado

**EFFECTO DE LA COINOCULACIÓN *Pseudomonas putida*/Glomus spp.
SOBRE LA ABSORCIÓN DE NITRÓGENO Y FÓSFORO EN TRIGO
(*Triticum aestivum* L.) CULTIVADO EN SUELO CALCÁREO**

TESIS

POR

BLANCA ALMA VALDIVIA URDIALES

Elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y aprobada
como requisito parcial, para optar al grado de

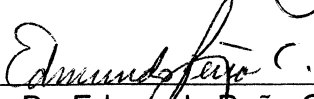
**DOCTOR EN CIENCIAS AGRÍCOLAS
ÁREA: SISTEMAS DE PRODUCCIÓN**

Comité Particular

Asesor principal:


Dr. Juan Manuel Sánchez Yáñez

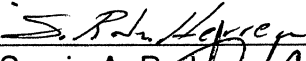
Asesor:


Dr. Edmundo Peña Cervantes


Asesor:


Dr. José Manuel Fernández Brondo

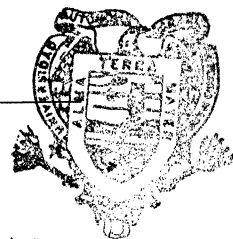
Asesor:


Dr. Sergio A. Rodríguez Herrera

Asesor:


Dr. Rodolfo Fajías Rodríguez


Dr. Ramiro López Trujillo
Subdirector de Postgrado



BIBLIOTECA
EGIDIO C. ESCOBAR
BANCO DE TESIS
U.A.A.A.N.

Buenavista, Saltillo, Coah., México. Agosto de 2000

13529

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Juan Manuel Sánchez Yáñez, base fundamental de este proyecto, quien con su disposición, orientación y sugerencias permitió la realización y culminación del mismo y mi formación dentro del campo de la ciencia.

Al Dr. Edmundo Peña Cervantes, por su apoyo, guía y valiosas aportaciones durante el desarrollo del presente trabajo.

Al Dr. José Manuel Fernández Brondo, por haberme animado a iniciar y concluir esta etapa de mi formación profesional y por sus acertadas sugerencias en la escritura y revisión del trabajo.

Al Dr. Sergio Rodríguez Herrera, por su amistad y valiosa asesoría, recomendaciones y revisión del documento.

Al Dr. Rodolfo Farías Rodríguez, por su confianza, sugerencias y acertada revisión de este documento.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por haberme facilitado sus instalaciones y la guía de su personal altamente calificado.

A la Agencia Internacional para la Energía Atómica, que, por medio del contrato de investigación D1-MEX-1994, financió parcialmente la presente investigación.

Al Instituto de la Potasa y el Fósforo, A.C., que, a través del Dr. Ignacio Lazcano Ferrat, brindó apoyo económico para llevar a cabo esta investigación.

Al M.C. José de Jesús Navarro Navarro, por brindarme su amistad, confianza y apoyo para llevar a cabo mis estudios de postgrado.

Al M.C. Rogelio Aldaco Nuncio, M.C. Homero Castellano Díaz y M.C. Bonifacio Martínez Anguiano, por su amistad, compañerismo y profesionalismo que me animaron a seguir adelante.

DEDICATORIA

A mis padres,

Jorge Valdivia Puga (†) y Francisca Urdiales de Valdivia, quienes con su ejemplo, me enseñaron que con amor, dedicación y constancia podemos alcanzar nuestras metas. A ellos, con todo mi cariño, admiración y respeto.

A Miguel, Yordi y Zinnia,

por su comprensión, cariño y apoyo durante este período de mi vida.

La presente investigación fue realizada en el Departamento de Suelos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, bajo la dirección del Dr. Juan Manuel Sánchez Yáñez del Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, con apoyo del Instituto de la Potasa y el Fósforo, A.C.

COMPENDIO

**Efecto de la Coinoculación *Pseudomonas putida*/*Glomus* spp. Sobre la
Absorción de Nitrógeno y Fósforo en Trigo (*Triticum aestivum* L.)
Cultivado en Suelo Calcáreo**

Por

BLANCA ALMA VALDIVIA URDIALES

DOCTORADO EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

ÁREA: SISTEMAS DE PRODUCCIÓN

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. AGOSTO DE 2000

Dr. Juan Manuel Sánchez Yáñez -Asesor -

Palabras clave: *Pseudomonas putida*, *Glomus* spp., trigo, suelos calcáreos, fósforo, ¹⁵N.

Se establecieron experimentos de invernadero y de campo en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro para analizar el efecto de la coinoculación con *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp., aislados de la rizosfera de malezas de la región, sobre la eficiencia de absorción de nitrógeno y fósforo, así como sobre el crecimiento y rendimiento del trigo en suelos calcáreos. Para ello, se coinocularon semillas de trigo var. Pavón F-76, se fertilizaron con

diferentes niveles de nitrógeno y fósforo y se evaluó el peso seco, contenido de nitrógeno y fósforo total en diferentes partes de la planta y su rendimiento. El destino del nitrógeno en la planta, se registró mediante un análisis isotópico con ^{15}N -urea y se calculó la eficiencia de absorción de nitrógeno en el vástago y grano del trigo.

Los resultados muestran que, en invernadero, la coinoculación, con el 50 por ciento de N y P (60kgN ha^{-1} y 40 kgP ha^{-1}), incrementó el peso seco total del trigo con un valor de 68.3 por ciento, en comparación con el peso seco del trigo usado como control relativo (sin inocular y con 120 kgN ha^{-1} y 80 kgP ha^{-1}). El efecto benéfico de la coinoculación se cree deriva de la acción sinérgica entre *P. putida* y *Glomus* spp., que aumentaron el área de exploración radical y la sensibilización al nitrógeno y fósforo. La aplicación de 60 kgN ha^{-1} y 80 kgP ha^{-1} en el trigo coinoculado, no aumentó el peso seco total, en comparación con el peso del trigo control relativo, lo que sugiere que el cambio en la concentración de fósforo en el suelo modificó la producción de exudados radicales y, en consecuencia, la actividad benéfica de los microorganismos sobre la planta. En campo, la coinoculación incrementó la absorción y la translocación del nitrógeno y del fósforo en el vástago y el grano del trigo con 60 kgN ha^{-1} y 40 kgP ha^{-1} . La coinoculación, además, incrementó en un 45.8 por ciento, el Nt en el vástago del trigo sin fertilizar, en comparación con el Nt del trigo no inoculado, mientras que el Pt fue similar al trigo usado como control relativo. En el grano, la coinoculación, con 60 kgN ha^{-1} y 40 kgP ha^{-1} , incrementó el Nt 24.4 por ciento y el Pt, 31.25 por ciento, en comparación con el

Nt y el Pt en el trigo usado como control relativo. El incremento de Nt y Pt, indica que los microorganismos mejoraron la eficiencia de absorción radical del nitrógeno y el fósforo del suelo o del fertilizante aplicado. El efecto positivo de la coinoculación se apoyó en el análisis isotópico con ^{15}N -urea, el cual confirmó el incremento en la eficiencia de absorción, pues a 60 kgN ha^{-1} y 40 kgP ha^{-1} , la planta asimiló 54.5 y 18.4 por ciento más nitrógeno en el vástago y en el grano, respectivamente, que lo observado en el trigo usado como control relativo. El efecto de *P. putida*+*Glomus* spp., también se manifestó en el rendimiento del trigo, pues con 60 kgN ha^{-1} y 40 kgP ha^{-1} , éste fue estadísticamente igual ($P < 0.01$) al rendimiento del trigo control relativo, aunque con 120 kgN ha^{-1} y 80 kgP ha^{-1} , se redujo, probablemente porque la alteración en la concentración de nitrógeno y fósforo en el suelo, cambió la calidad y cantidad de los exudados radicales, lo cual disminuye su conversión en fitohormonas por *P. putida* y esto, a su vez, afectó negativamente la infección y la actividad benéfica de *Glomus* spp.; en consecuencia, disminuyó la absorción radical de nitrógeno y fósforo. Los resultados permiten concluir que la necesidad fisiológica del trigo por un elemento no disponible, es un factor limitante para la interacción entre *P. putida* y *Glomus* spp. y entre éstos y la raíz del trigo. Desde el punto de vista agronómico, la coinoculación, en combinación con niveles reducidos de nitrógeno y fósforo, puede ser una estrategia adecuada para mantener el rendimiento del trigo a un nivel comparable al que se obtiene en el trigo no inoculado y fertilizado con la dosis recomendada de nitrógeno y fósforo, lo cual permite reducir el costo de producción, el deterioro de la fertilidad del suelo y la contaminación ambiental.

ABSTRACT

Effect of *Pseudomonas putida*/*Glomus* spp. Coinoculation on Nitrogen and Phosphorus Uptake in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivated in a Calcareous Soil

By

BLANCA ALMA VALDIVIA URDIALES

DOCTOR OF AGRICULTURAL SCIENCES

AREA: PRODUCTION SYSTEMS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. AUGUST, 2000

Dr. Juan Manuel Sánchez Yáñez -Advisor-

Key words: *Pseudomonas putida*, *Glomus* spp., wheat, calcareous soils, phosphorus, ¹⁵N.

Greenhouse and field experiments were established at the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro to analyze the effect of the coinoculation with *Pseudomonas putida* and *Glomus* spp., isolated from the rhizosphere of regional weeds, on the uptake efficiency of wheat grown in a calcareous soil. Wheat var. Pavon F-76 seeds were coinoculated and fertilized with different levels of

nitrogen and phosphorus and dry weight, total nitrogen and phosphorus in different plant organs and yield were evaluated. The fate of nitrogen in the plant was registered by isotopic analysis with ^{15}N -urea and uptake efficiency in shoot and grain was determined.

The results show that, in the greenhouse, coinoculation and 50 per cent N and P (60 kgN ha^{-1} and 40 kgP ha^{-1}), increased total dry weight 68.3 per cent, compared with wheat utilized as a relative control (uninoculated and with 120 kgN ha^{-1} and 80 kgP ha^{-1}). The beneficial effect of the coinoculation is possibly due to a synergic action between *P. putida* and *Glomus* spp., which increased the root exploration area and nitrogen and phosphorus sensitiveness. Sixty kgN ha^{-1} and 80 kgP ha^{-1} did not increase total dry weight in the coinoculated wheat, compared with the weight of the relative control wheat, which suggests that changes in the soil phosphorus concentration modified the production of root exudates, and consequently, the beneficial microbial activity. In the field, coinoculation increased the uptake and translocation of nitrogen and phosphorus in wheat shoot and grain with 60 kgN ha^{-1} and 40 kgP ha^{-1} . Coinoculation also increased shoot Nt in the unfertilized wheat 45.8 per cent compared with the Nt in the uninoculated and unfertilized wheat, while shoot Pt was similar to the relative control wheat. Coinoculation together with 60 kgN ha^{-1} and 40 kgP ha^{-1} increased grain Nt 24.4 per cent and Pt 31.25 per cent compared with the Nt and Pt in the relative control wheat. The increase in Nt and Pt suggests that the microorganisms increased the root's uptake efficiency of nitrogen and phosphorus from the soil or from the applied fertilizer. The

beneficial effect of the coinoculation was based on isotopic analysis with ^{15}N -urea which confirmed the increased uptake efficiency because with 60 kgN ha^{-1} and 40 kgP ha^{-1} , wheat plants absorbed 54.5 and 18.4 per cent more nitrogen in shoot and grain, respectively, than the wheat used as a relative control. The effect of *P. putida*+ *Glomus* spp. was also observed in wheat yield with 60 kgN ha^{-1} and 40 kgP ha^{-1} , which was statistically equal ($P < 0.01$) to the yield in the relative control wheat although 120 kgN ha^{-1} and 80 kgP ha^{-1} reduced it, probably due to changes in soil nitrogen and phosphorus concentrations that modified the quality and the quantity of the root exudates, which in turn negatively affected the infection and beneficial activity of *Glomus* spp., curtailing nitrogen and phosphorus root uptake. The results show that the plant's physiological requirements for a non available mineral is a limiting factor in the *P. putida* and *Glomus* spp. interaction and between these microorganisms and the wheat's roots. From an agronomic perspective, coinoculation together with reduced nitrogen and phosphorus levels may be an adequate strategy to maintain wheat yield at a level similar to the yield obtained with uninoculated wheat fertilized with the nitrogen and phosphorus recommended dose, which in turn would reduce cost production, soil deterioration and environmental contamination.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS	xvii
ÍNDICE DE FIGURAS	xx
INTRODUCCIÓN	1
Hipótesis	4
Objetivos	5
REVISIÓN DE LITERATURA	6
Trigo	6
Características generales	6
Requerimientos del cultivo	7
Nitrógeno	8
Nitrógeno en el suelo	8
Transformaciones del nitrógeno en el suelo	9
Función del nitrógeno en la planta	11
Fósforo	12
Fósforo en el suelo	12
Fosfatos en suelos calcáreos	14
Función del fósforo en la planta	16
Rizosfera	17
Características generales	17
Efecto rizosfera	18
Rizobacterias	19
Características generales	19
Mecanismos de acción	20
<i>Pseudomonas</i> spp.	21
Endomicorrizas vesículo arbusculares (VAM)	23
Características generales	23
Mecanismos de acción	26
<i>Glomus</i> spp.	28

Inoculación con <i>Pseudomonas</i> y <i>Glomus</i>	30
Técnicas isotópicas en los estudios de asimilación de fertilizantes N	31
Isótopos del nitrógeno	32
MATERIALES Y MÉTODOS	34
☉ Material vegetal y microbiológico	34
☉ Suelo	35
☉ Fertilizantes.	35
Solución nutritiva de Jensen.	36
Experimento en invernadero	36
Selección de rizobacterias benéficas para trigo aisladas de malezas	36
Origen de las rizobacterias	36
Sistema semihidropónico jarra Leonard.	37
Inoculación de trigo	38
Diseño experimental y análisis estadístico	39
Efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. sobre el peso seco de trigo en invernadero.	40
Identificación de <i>Pseudomonas putida</i>	40
Aislamiento de endomicorrizas vesículo arbus- culares	40
Evaluación de la capacidad de infección de las VAM e identificación de esporas.	41
Coinoculación de trigo con <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp.	43
Determinación del porcentaje de infección VAM en la raíz del trigo inoculado	43
Diseño experimental y análisis estadístico.	44
Experimento de campo	45
Efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. sobre la absorción de nitrógeno y fósforo y rendi-	

miento de trigo en campo.	45
Localización y descripción del sitio experimental. . .	45
Análisis de suelo	45
Preparación del terreno.	46
Marcaje de <i>Pseudomonas putida</i>	47
Preparación del inoculante.	47
Preparación del inoculante VAM.	48
Inoculación y siembra de trigo.	48
Fertilización	49
Riego y control de plagas.	50
Detección de <i>Pseudomonas putida</i> en el rizoplaneo del trigo inoculado.	50
Variables evaluadas.	51
Eficiencia de asimilación radical de ¹⁵ N urea	52
Diseño experimental y análisis estadístico.	53
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
Experimento de invernadero.	56
Aislamiento y selección de rizobacterias benéficas para trigo aisladas de malezas	56
Efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. sobre el peso seco de trigo en invernadero.	68
Experimento de campo	79
Efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. sobre la asimilación de nitrógeno y fósforo y rendi- miento de trigo.	79
Análisis físico y químico del suelo	79
Contenido de nitrógeno total en vástago	79
Contenido de fósforo total en vástago.	83
Peso seco de vástago	87
Contenido de nitrógeno total en grano	90
Eficiencia de absorción radical de ¹⁵ N.	95

Contenido de fósforo total en grano	99
Rendimiento de Trigo	102
Detección de <i>Pseudomonas putida</i> en el rizoplano del trigo inoculado.	107
CONCLUSIONES	110
RESUMEN	112
LITERATURA CITADA	116
APÉNDICE	128

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
2.1.	Compuestos orgánicos detectados en los exudados radicales de trigo.	18
3.1.	Tratamientos para evaluar el efecto de la inoculación de trigo var. Pavón F-76 con rizobacterias aisladas de malezas en invernadero.	40
3.2.	Tratamientos para evaluar el efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. en trigo var. Pavón F-76 en invernadero.	43
3.3.	Características físicas y químicas del suelo sembrado con trigo coinoculado con <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp.	46
3.4.	Tratamientos para evaluar el efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. en trigo fertilizado a tres niveles de N y dos de P en campo.	49
3.5.	Tratamientos para evaluar la eficiencia de asimilación de ¹⁵ N en el trigo inoculado con <i>Pseudomonas putida</i> y <i>Glomus</i> spp. y fertilizado con una dosis de N y dos P en campo.	53
4.1.	Comparación de medias de la respuesta peso seco de la raíz del trigo var. Pavón F-76 inoculado con rizobacterias en invernadero.	56
4.2.	Comparación de medias de la respuesta peso seco del tallo del trigo var. Pavón F.76 inoculado con rizobacterias en invernadero.	59
4.3.	Comparación de medias de la respuesta peso seco de la hoja del trigo var. Pavón F.76 inoculado con rizobacterias en invernadero.	59
4.4.	Relación entre el peso seco de la raíz y de la hoja del trigo var. Pavón F-76 inoculado con rizobacterias en invernadero al amacollamiento.	62
4.5.	Comparación de medias de la respuesta peso seco de la espiga del trigo var. Pavón F.76 inoculado con rizobacterias en invernadero.	63

4.6.	Comparación de medias de la respuesta peso seco total del trigo var. Pavón F.76 inoculado con rizobacterias en invernadero.	65
4.7.	Relación entre el peso seco de la raíz y del vástago del trigo var. Pavón F-76 inoculado con rizobacterias en invernadero al espigamiento.	67
4.8.	Comparación de medias de la respuesta peso seco de la raíz del trigo var. Pavón F.76 inoculado con <i>Pseudomonas putida</i> y <i>Glomus</i> spp., a 60 kgN ha ⁻¹ y dos dosis de P en invernadero.. .	68
4.9.	Comparación de medias de la respuesta peso seco del vástago del trigo var. Pavón F.76 inoculado con <i>Pseudomonas putida</i> y <i>Glomus</i> spp., a 60 kgN ha ⁻¹ y dos dosis de P en invernadero.. .	72
4.10.	Comparación de medias de la respuesta peso seco total del trigo var. Pavón F.76 inoculado con <i>Pseudomonas putida</i> y <i>Glomus</i> spp., a 60 kgN ha ⁻¹ y dos dosis de P en invernadero.. .	74
4.11.	Relación entre el peso seco de la raíz y el vástago del trito var. Pavón F-76 inoculado con <i>Pseudomonas putida</i> y <i>Glomus</i> spp., a 60 kgN ha ⁻¹ y dos dosis de P en invernadero.	77
4.12.	Efecto de la inoculación <i>Pseudomonas putida</i> y <i>Glomus</i> spp. sobre el porcentaje de colonización de <i>Glomus</i> en el trigo var. Pavón F-76, a 60 kgN ha ⁻¹ y dos dosis de P en invernadero . . .	78
4.13.	Comparación de medias de la respuesta contenido de nitrógeno total en el vástago del trigo var. Pavón F-76 coinoculado con <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. en campo.	80
4.14.	Correlación entre las variable evaluadas en el vástago del trigo var. Pavón F-76 coinoculado con <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp., y la fertilización nitrogenada y fosforada en campo.	83
4.15.	Comparación de medias de la respuesta contenido de fósforo total en el vástago del trigo var. Pavón F-76 coinoculado con <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. en campo.	84
4.16.	Comparación de medias de la respuesta peso seco del vástago del trigo var. Pavón F-76 coinoculado con <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. en campo.	88
4.17.	Comparación de medias de la respuesta contenido de nitrógeno total en el grano del trigo var. Pavón F-76	

	coinoculado con <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. en campo. .	91
4.18.	Correlación entre las variable evaluadas en el grano del trigo var. Pavón F-76 coinoculado con <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp., y la fertilización nitrogenada y fosforada en campo.	94
4.19.	Efecto de la inoculacion con <i>Pseudomonas putida</i> y <i>Glomus</i> spp. sobre la eficiencia de absorción de ¹⁵ N en el vástago y grano del trigo var. Pavón F-76 en campo.	95
4.20.	Comparación de medias de la respuesta contenido de fósforo total en el grano del trigo var. Pavón F-76 coinoculado con <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. en campo.	100
4.21.	Comparación de medias de la respuesta rendimiento del trigo var. Pavón F-76 coinoculado con <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. en campo.	103
4.22.	Densidad poblacional de <i>Pseudomonas putida</i> en el rizoplaneo del trigo coinoculado con <i>P. putida</i> + <i>Glomus</i> spp. en campo. . . .	107
4.23.	Comparación del costo de la producción del trigo sin inocular y con 100 por ciento de N y P y el coinoculado con <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. y con 50 por ciento de N y P.	109

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
2.1. Ciclo del nitrógeno en la naturaleza.	9
3.1. Sistema semihidropónico jarra Leonard.	38
4.1. Efecto de la inoculación con rizobacterias aisladas de malezas sobre el peso seco de la raíz del trigo var. Pavón F-76 en invernadero.	57
4.2. Efecto de la inoculación con rizobacterias aisladas de malezas sobre el peso seco del tallo del trigo var. Pavón F-76 en invernadero.	60
4.3. Efecto de la inoculación con rizobacterias aisladas de malezas sobre el peso seco de la hoja del trigo var. Pavón F-76 en invernadero.	61
4.4. Efecto de la inoculación con rizobacterias aisladas de malezas sobre el peso seco de la espiga del trigo var. Pavón F-76 en invernadero	64
4.5. Efecto de la inoculación con rizobacterias aisladas de malezas sobre el peso seco total del trigo var. Pavón F-76 en invernadero.	66
4.6. Efecto de la inoculación con <i>Pseudomonas putida</i> y <i>Glomus</i> spp. sobre el peso seco de la raíz del trigo var. Pavón F-76, con 60 kgN ha ⁻¹ y dos dosis de P en invernadero.	69
4.7. Efecto de la inoculación con <i>Pseudomonas putida</i> y <i>Glomus</i> spp. sobre el peso seco del vástago del trigo var. Pavón F-76, con 60 kgN ha ⁻¹ y dos dosis de P en invernadero.	73
4.8. Efecto de la inoculación con <i>Pseudomonas putida</i> y <i>Glomus</i> spp. sobre el peso seco total del trigo var. Pavón F-76, con 60 kgN ha ⁻¹ y dos dosis de P en invernadero.	75
4.9. Efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. sobre el nitrógeno total en el vástago del trigo a diferentes niveles de N y P en campo.	81

4.10.	Efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. sobre el fósforo total en el vástago del trigo a diferentes niveles de N y P en campo.	85
4.11.	Efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. sobre el peso seco del vástago del trigo a diferentes niveles de N y P en campo.	89
4.12.	Efecto de la inoculación con <i>Pseudomonas putida</i> y <i>Glomus</i> spp. sobre el nitrógeno total en el grano del trigo a diferentes niveles de N y P en campo.	92
4.13.	Efecto de la inoculación con <i>Pseudomonas putida</i> y <i>Glomus</i> spp. sobre la eficiencia de absorción de ¹⁵ N-urea en el vástago del trigo a 60 kgN ha ⁻¹ y dos niveles de P.	96
4.14.	Efecto de la inoculación con <i>Pseudomonas putida</i> y <i>Glomus</i> spp. sobre la eficiencia de absorción de ¹⁵ N-urea en el grano del trigo a 60 kgN ha ⁻¹ y dos niveles de P.	98
4.15.	Efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. sobre el fósforo total en el grano del trigo a diferentes niveles de N y P en campo.	101
4.16.	Efecto de la coinoculación <i>Pseudomonas putida</i> / <i>Glomus</i> spp. sobre el rendimiento del trigo a diferentes niveles de N y P en campo.	104

INTRODUCCION

En algunas zonas del norte de México, los suelos calcáreos limitan la disponibilidad de nitrógeno y fósforo, lo cual, aunado a la escasez de agua, ocasiona un rendimiento de trigo inferior al promedio de otras zonas del país. El estado de Coahuila, tiene un rendimiento promedio de trigo de 2.5 t ha^{-1} bajo riego, 55 por ciento menor que otras regiones de mayor producción de la república (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática –INEGI-, 1996). Una de las posibles alternativas para mantener la producción de trigo, es la aplicación de inoculantes y la posterior reducción y fraccionamiento de fertilizante nitrogenado y fosforado. Esta estrategia puede mejorar la baja tasa (24 a 50 por ciento) de absorción radical del trigo (Van Cleemput y Hera, 1996) y evitar un rendimiento no proporcional a la dosis de fertilización, a la vez que disminuye los compuestos de nitrógeno, como NO_3^- y N_2O , que contaminan los mantos freáticos y la atmósfera. Este problema es más crítico en los suelos calcáreos, pues parte del fósforo inorgánico aplicado se precipita o adsorbe al calcio o magnesio de las arcillas, limitando aún más su disponibilidad y, en consecuencia, reduce el crecimiento y disminuye el rendimiento del trigo. Lo anterior, eleva el costo de producción, deteriora el suelo y contamina el ambiente.

La inoculación de semillas a la siembra con bacterias promotoras del crecimiento vegetal (BPCV), en combinación con hongos endomicorrízicos vesículo arbusculares (VAM), y la posterior aplicación de una dosis reducida y fraccionada del fertilizante, influyen fundamentalmente sobre el crecimiento y rendimiento de la planta. La combinación microbiana anterior, también llamada coinoculación, supone un efecto sinérgico, semejante al observado en las interacciones biológicas de los ecosistemas naturales, que facilita el crecimiento de las plantas a dosis reducidas de nitrógeno y fósforo. Las BPCV frecuentemente utilizadas para mejorar la eficiencia de absorción radical de gramíneas, han sido *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum* y *Azotobacter* (Ferrera, 1989 y García *et al.*, 1995). Algunas de estas bacterias solubilizan el fósforo (Tinker, 1984) o el hierro (Lankford, 1993), otras son antagónicas de fitopatógenos radicales (Beachamp *et al.*, 1991) y ciertos tipos producen fitorreguladores para aumentar la absorción radical mineral (Marschner, 1995).

Con respecto a las VAM, se ha reportado que el trigo inoculado con *Glomus*, incrementó la absorción radical de N, P, Cu y Zn y, en consecuencia, el crecimiento, en comparación con el trigo sin inocular (Xavier y Germida, 1997). Estos efectos se atribuyen a diversas acciones de las VAM sobre la fisiología radical: incremento de la superficie de absorción de las raíces, liberación de ácidos orgánicos y enzimas fosfatasas y aumento en el almacenamiento del fósforo absorbido (Baker *et al.*, 1998). Por lo anterior, se supuso que la coinoculación de trigo con *Pseudomonas+Glomus*, podría

incrementar la absorción radical de nitrógeno y fósforo y, por lo tanto, su crecimiento y posterior rendimiento (Fester *et al.*, 1999).

Una práctica para seleccionar un candidato para la inoculación de un cultivo vegetal específico, es el aislamiento de un microorganismo nativo de la zona y asociado al cultivo. Esto se basa en el hecho de que el microorganismo está adaptado al tipo de exudado radical de la planta y a las condiciones fisicoquímicas del suelo, lo que supone un efecto de la inoculación más favorable para la planta que la introducción de microorganismos foráneos (Rennie *et al.*, 1993). Sin embargo, la práctica ha demostrado que esta forma de selección no resuelve la respuesta inconsistente de la planta en términos de crecimiento y rendimiento vegetal (De Freitas *et al.*, 1982 y Bashan *et al.*, 1996). Una idea poco explorada establece que, si se aísla un microorganismo de una planta silvestre, es posible que éste ofrezca mejores ventajas que un microorganismo seleccionado a partir de plantas domésticas (Sánchez *et al.*, 1997), debido a que las plantas silvestres han desarrollado, paralelamente con los microorganismos, mecanismos muy eficientes para enfrentar diferentes tipos de estrés: hídrico, nutricional, de enfermedades y temperatura, entre otros, para los cuales las plantas domésticas requieren protección humana. Al mismo tiempo, se sabe que ninguna planta desarrollada en un ambiente natural está libre de microorganismos. Esto significa que el éxito de las plantas silvestres se debe a dos caracteres fundamentales, el primero, es su origen e información genética, y el segundo, es el tipo de interacción que establece con diferentes microorganismos del ambiente. Un ejemplo de lo anterior, son las malezas, las

que se consideran perjudiciales para la agricultura tradicional, por lo que se han hecho innumerables esfuerzos para eliminarlas. Existe evidencia de que algunos de los microorganismos asociados a sus raíces son benéficos para el crecimiento y rendimiento de gramíneas domésticas, como el trigo (Sánchez *et al.*, 1998 y Valdivia *et al.*, 1999). La acción benéfica de los microorganismos se puede explicar con base en varios criterios: i) flexibilidad para adaptarse a diferentes exudados radicales; ii) alta competitividad para colonizar raíces y suelo; y iii) diversos mecanismos de persistencia en el ambiente, especialmente en suelos con evidentes problemas de desequilibrio nutricional como se ha demostrado al inocular trigo con rizomicroorganismos aislados de malezas (Nava y Sánchez, 1996 y Galván *et al.*, 1997).

Con base en lo anterior, se realizó el presente trabajo con microorganismos benéficos aislados de la rizosfera de malezas asociadas al trigo. Los objetivos del trabajo fueron: (1) evaluar el efecto de la coinoculación *Pseudomonas putida*+*Glomus* spp. sobre la eficiencia de absorción radical de nitrógeno (N) y fósforo (P) en trigo, y; (2) aumentar el uso óptimo de la dosis de N y P sin alterar negativamente el rendimiento de trigo en suelos calcáreos.

Hipótesis

La coinoculación de trigo con rizobacterias y endomicorrizas vesículo arbusculares de malezas, favorece la eficiencia de absorción radical de N y P, a

dosis inferiores a las recomendadas, sin afectar negativamente el rendimiento del cultivo.

Objetivo General

Evaluar el efecto de la coinoculación sobre el uso óptimo de N y P en el trigo sin afectar negativamente su rendimiento.

Objetivos Específicos

- Aislar rizobacterias benéficas y endomicorrizas vesículo arbusculares de malezas asociadas al trigo.
- Seleccionar las rizobacterias y endomicorrizas vesículo arbusculares que mejoren la eficiencia de absorción de N y P.
- Evaluar el efecto de la coinoculación *Pseudomonas putida*+*Glomus* spp. y la dosis de N y P sobre el rendimiento del trigo.

REVISION DE LITERATURA

Trigo

Características Generales

El trigo, por su superficie sembrada, es el cultivo comercial más extendido en el mundo, ocupando el primer lugar en producción. Esto se debe a que tiene una amplia flexibilidad de adaptación y es un cultivo de elevado consumo en la mayoría de los países de clima templado y frío.

El trigo ocupa el segundo lugar en la alimentación de los mexicanos, superado sólo por el maíz. Es un cereal que se cultiva en la mayor parte de los estados de México, adaptable a suelos de fertilidad pobre o rica, a zonas húmedas, subhúmedas y secas, y a altitudes desde el nivel del mar hasta 3000 msnm.

En el estado de Coahuila, se cosechan anualmente, bajo regímenes de riego, 17,765 hectáreas de trigo, con un rendimiento promedio de 2.5 t ha⁻¹ (INEGI, 1996), aunque en el norte del estado, la producción apenas alcanza 1.5 t ha⁻¹, debido a las condiciones edáficas de la región, que limitan la disponibilidad de minerales, en especial de nitrógeno (N) y fósforo (P) (Torres, 1980).

Requerimientos de Cultivo

Pocos cultivos se desarrollan con éxito en tan amplia gama de condiciones ambientales como el trigo, que se produce en regiones templadas y frías, con una precipitación anual de 800 a 1250 mm. La germinación ocurre, por lo general, entre 4 y 37 °C (Robles, 1990) y el crecimiento entre 3 a 40 °C, con una óptima de 30 a 32 °C (Leonard y Martin, 1967). El requerimiento de agua del trigo, es de 450 a 650 mm, dependiendo del clima y de la duración del período vegetativo (Dorrembos y Kassan, 1979). Las plantas de trigo requieren más agua al inicio de la floración y de la formación de grano.

El trigo se cultiva con éxito en una amplia diversidad de tipos de suelo, aunque se adapta mejor a suelos limosos y a migajón arcillosos fértiles, bien drenados, con buen contenido de materia orgánica y un rango de pH del suelo es 6.5 a 8.5 (Robles, 1990).

La dosis de fertilización nitrogenada para trigo es variada, pues depende de la concentración del N y de otros minerales (P y K) en el suelo de cada región agrícola; en Coahuila, la dosis recomendada es 120-80-60 (INEGI, 1996). La cantidad de N disponible regula la concentración de proteína en el trigo. Si el suelo es pobre en N, el grano producido es suave y amiláceo, mientras que si el suelo contiene el nivel de N adecuado para el cultivo, el grano es duro y con alta concentración de proteína, cualidad deseada por la industria panificadora (Kirchner *et al.*, 1987).

La siembra de trigo debe efectuarse a una profundidad de tres a seis centímetros, según el tipo de suelo. Su densidad de siembra va desde 100 a 150 kg ha⁻¹, incluso menor de acuerdo con la fecha de siembra, fertilidad del suelo, preparación del terreno, características de la variedad y calidad de la semilla (Colín, 1992).

Nitrógeno

Nitrógeno en el Suelo

El nitrógeno en el suelo se encuentra en forma orgánica o inorgánica. La orgánica representa del 97 al 98 por ciento del N total del suelo y está conformada por los aminoácidos de las proteínas, aminoácidos libres, glucosaminas y otros compuestos nitrogenados complejos (INPOFO, 1998). El N inorgánico, generalmente representa el dos o tres por ciento del N total del suelo e incluye NH₄⁺, NO₃⁻, NO₂⁻, N₂O, NO y nitrógeno molecular. Las primeras tres formas son las más comunes y se relacionan con la fertilidad del suelo; se derivan de la mineralización aeróbica de compuestos nitrogenados complejos, o se liberan de la transformación de fertilizantes nitrogenados comerciales (Tisdale y Nelson, 1982).

Transformaciones del Nitrógeno en el Suelo

El N es un elemento muy móvil que circula entre la atmósfera, el suelo y los seres vivos (Figura 2.1). Se sabe que las raíces vegetales absorben la

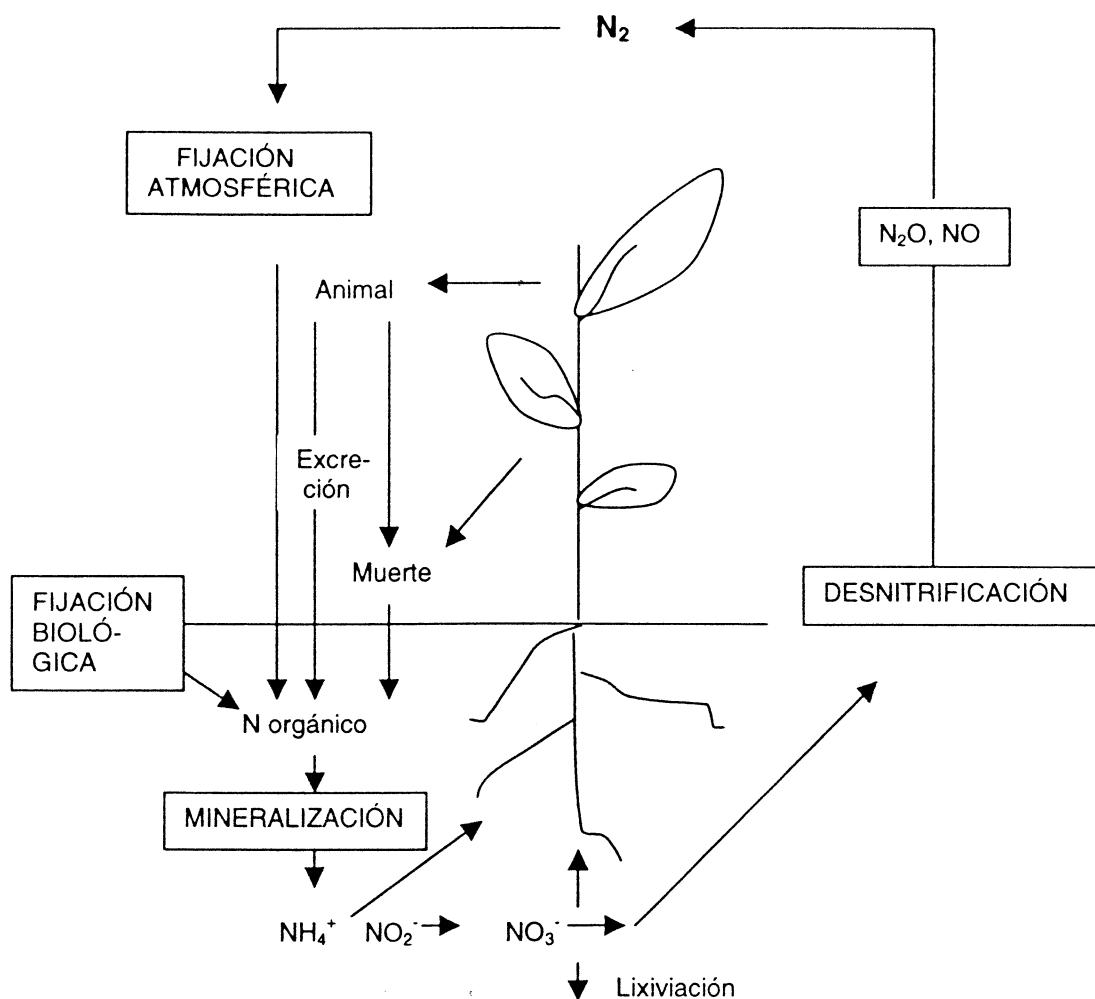


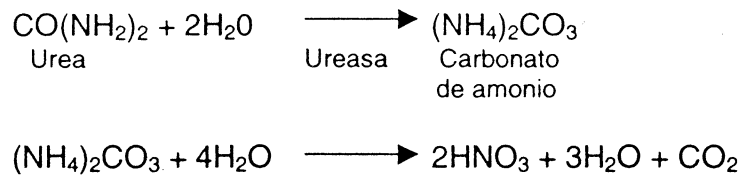
Figura 2.1. Ciclo del nitrógeno en la naturaleza.

mayor parte del N en forma de NH_4^+ o NO_3^- (Alexander, 1977). Sin embargo, la concentración y disponibilidad de estos iones, depende de la actividad microbiana de mineralización de los compuestos orgánicos, que incluye fertilizantes orgánicos. Esta actividad está asociada con la concentración y tipo de C orgánico del suelo. Si la cantidad de C orgánico es mayor que la cantidad de N, como en el caso de la paja de trigo, sólo será posible su mineralización si existe suficiente NH_4^+ o NO_3^- en el suelo (Atlas y Bartha, 1981). Mediante la

mineralización del N orgánico, los microorganismos obtienen energía y nutrimentos. Este proceso (Fig. 2.1), se presenta en tres etapas; (a) hidrólisis de las proteínas, con liberación de aminas; (b) amonificación, o producción de NH_4^+ , a partir de aminas, y; (c) nitrificación, o conversión del amonio a nitritos y nitratos (Mengel y Kirby, 1982). La mineralización tiene impacto porque el NH_4^+ y NO_3^- liberados son utilizados inmediatamente por los microorganismos y las raíces vegetales. Una parte del NH_4^+ , se adsorbe a las arcillas del suelo por sustitución de iones Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ o H^+ y otra, se nitrifica. La nitrificación produce NO_3^- soluble y, por tanto, fácilmente lixiviable. El N transformado por la actividad microbiana del suelo, también se puede perder por desnitrificación, que ocurre cuando las bacterias del suelo reducen los NO_3^- y NO_2^- a gases nitrogenados (N_2O , NO) que se liberan a la atmósfera (Marschner, 1995).

La mineralización de la materia orgánica suministra casi todo el N del suelo, pero la mayoría de los suelos contienen poca materia orgánica, generalmente menos de dos por ciento. Por esta razón, es necesario adicionar fertilizantes nitrogenados orgánicos o inorgánicos. Entre los primeros, se encuentra la urea, que es una buena fuente de N debido a que contiene 46 por ciento de este elemento. Sin embargo, su solubilidad la hace perderse fácilmente por lixiviación. En el suelo, la urea se hidroliza rápidamente en carbonato de amonio, que se disocia en iones de carbonato y de amonio, como se muestra en la siguiente ecuación (Tisdale y Nelson, 1982). El amonio es

adsorbido por el suelo donde, por vía biológica, se nitrifica. Ya que la hidrólisis rápida de la urea produce amoníaco que se pierde por volatilización, es necesario incorporarla en el suelo o aplicarla en banda. Asimismo, la concentración de amoníaco en el suelo, causa deterioro en las plántulas, por ello, la urea debe colocarse a cierta distancia de las semillas (INPOFO, 1998).



Función del Nitrógeno en la Planta

El N es vital en la nutrición de las plantas porque se utiliza en la síntesis de compuestos nitrogenados: aminoácidos, proteínas y vitaminas. La concentración de N en los tallos y hojas alcanza su máximo nivel al espigamiento y después disminuye, mientras que en el grano, aumenta desde su formación hasta su madurez (Taiz y Zeiger, 1991). En el trigo, el suministro adecuado de N, genera hojas de color verde oscuro con mayor absorción de energía lumínica, que el trigo con bajos niveles de N. La deficiencia de N reduce la cantidad de aminoácidos y ácidos nucleicos y, en consecuencia, de proteínas, ADN y ARN; la planta se atrofia, o crece lentamente y produce menos macollos (Jacob, 1973). Si el trigo no recibe suficiente N y P, se reduce el crecimiento de la hoja bandera y disminuye la producción de los fotosintatos que se utilizan para la síntesis de carbohidratos. La deficiencia de N, aumenta

la producción de ácido abscísico que, a la vez, genera granos pequeños, aunque un exceso de N, causa plantas suculentas, susceptibles a enfermedades fúngicas y al acame (Tisdale y Nelson, 1982). La concentración de N también afecta la calidad y el valor nutricional del grano de trigo, pues el componente de la calidad del grano es la proteína gluteína (Rodríguez, 1992), que a la vez, está relacionada con el contenido de vitaminas, especialmente del grupo B (Marschner, 1995).

Fósforo

Fósforo en el Suelo

El fósforo elemental (P), no se encuentra en estado libre en la naturaleza, porque se oxida fácilmente y forma fosfatos con diferentes minerales. El ácido fosfórico (H_3PO_4), del cual se derivan los diferentes fosfatos, requiere tres H^+ para alcanzar el equilibrio iónico (Teuscher y Adler, 1987). Cualquiera de estos iones, reemplazado por cationes en el intercambio de bases, forma sales de distinto grado de solubilidad.

Según Mengel y Kirby (1982) existen tres estados principales de fósforo en el suelo.

- Fósforo en solución o fosfato disuelto en la solución del suelo.

- Fósforo lábil o fosfato sólido unido a los compuestos de las arcillas, carbonatos, óxidos, apatita y aluminio, en equilibrio dinámico con el fosfato de la solución del suelo.
- Fósforo no lábil o fosfato insoluble, constituido principalmente por apatita; se libera muy lentamente y puede pasar al reservorio del fósforo lábil.

La cantidad de fosfato en la solución del suelo es baja con relación al fosfato adsorbido, el cual excede el fosfato de la solución del suelo de 100 a 1,000 veces. Los iones más importantes que contienen fósforo son el ortofosfato primario (H_2PO_4^-) y el ortofosfato secundario (HPO_4^{2-}) (Tisdale y Nelson, 1982). Así, el factor crítico para la asimilación vegetal de los fosfatos en el suelo, es el pH. A pH de 6.0 a 7.8, el fosfato dicálcico es de los más asimilables por las plantas. Un pH del suelo menor a este intervalo, aumenta la solubilidad de los compuestos de hierro y aluminio y forma fosfato de hierro y aluminio, insolubles, mientras que a pH superior a 7.8, forma fosfato tricálcico, insoluble (Teuscher y Adler, 1987). Esto explica que las plantas sólo absorben de 10 a 30 por ciento de los fosfatos del fertilizante añadido (Buckman y Brady, 1966). La disponibilidad del fósforo también depende del pH en la superficie de la raíz, el cual puede ser de una (Hauter y Mengel, 1988) a dos (Marschner, 1995) unidades mayores o menores que en el resto del suelo por la absorción de cationes y aniones de las raíces. La tasa de absorción de aniones está relacionada con la liberación de OH^- y H^+ de la raíz que, a su vez, depende del tipo de fertilizante nitrogenado aplicado. Las raíces de las plantas alimentadas

con N amoniacal, liberan H^+ y acidifican el suelo, y las que reciben NO_3^- , liberan OH^- , alcalinizando el suelo (Raven, 1986). Otra forma de solubilización de P, se debe a los exudados radicales que contienen ácidos orgánicos, como acético, propiónico, butírico y valérico. Noghimi *et al.* (1978) encontraron que las raíces del trigo, liberan ácido glucónico que solubiliza cantidades considerables de fosfato.

La mineralización de la materia orgánica, es otro factor que influye el pH del suelo y, consecuentemente, la solubilidad del fósforo. La acción microbiana sobre la materia orgánica produce ácidos orgánicos y CO_2 , que se equilibran con el agua del suelo y liberan iones hidrógeno que disminuyen el pH del suelo. La mineralización de la materia orgánica nitrogenada, produce amonio y sulfuro de hidrógeno que se oxidan hasta ácidos fuertes, reduciendo el pH del suelo (Marschner, 1995).

Fosfatos en Suelos Calcáreos

La intemperización de materiales calizos, comunes en climas áridos y semiáridos, origina la formación de suelos calcáreos o calizos (Balderas, 1990). Su pH oscila entre 7.5 y 8.5, debido a la hidrólisis de carbonato de calcio, en donde la liberación de OH^- , por la disociación del hidróxido de calcio, es mayor que los H^+ procedentes del ácido carbónico débil (Cepeda, 1983). El exceso de calcio en estos suelos disminuye la disponibilidad de P, Zn, Fe, Mn y Bo y dificulta el crecimiento vegetal (Tisdale y Nelson, 1982).

La solubilidad de cualquier fuente de fósforo depende de las propiedades físicas y químicas del suelo, de la naturaleza física del fertilizante y de las necesidades nutricionales del cultivo vegetal. Los fosfatos reaccionan con los componentes del suelo liberando compuestos "suelo-fertilizante", que determinan la concentración de fósforo disponible para el cultivo vegetal (Tisdale y Nelson, 1982). Por ello, se emplean fertilizantes fosforados de diferente tamaño de partícula y solubilidad que, aplicados en banda, aseguran el mayor beneficio para la planta (INPOFO, 1998).

La roca fosfórica es la fuente principal de fertilizante fosforado, de la cual se obtienen diversos tipos: ácido fosfórico (H_3PO_4) y los ortofosfatos de calcio, como el superfosfato triple, con 44 a 52 por ciento de P_2O_5 , y el fosfato monocálcico (Mengel y Kirby, 1982). Sin embargo, la transformación del superfosfato en suelos calcáreos, libera compuestos menos solubles que el fosfato monocálcico. Cuando el superfosfato triple se aplica al suelo, el vapor de agua entra al gránulo, reacciona con el fosfato monocálcico y lo libera. La solución que sale del gránulo está saturada de fosfato mono y dicálcico, es extremadamente ácida (pH 1.8) y reacciona con los diferentes minerales y arcillas del suelo. En suelos calcáreos, el alto contenido de calcio depende de la concentración de $CaCO_3$ y $MgCO_3$ libres, que reducen la solubilidad del fertilizante fosfatado. Esta disminución se debe a la precipitación de fosfato dicálcico y las pequeñas cantidades de apatita en las partículas de carbonato de calcio. La cantidad del precipitado depende de: (1) actividad química del calcio; (2) cantidad y tamaño del carbonato de calcio en el suelo; y (3) el

porcentaje de arcilla. Se precipita más fósforo del fertilizante si los suelos contienen calcio, así como elevadas concentraciones de carbonato de calcio finamente dividido y un alto por ciento de arcillas saturadas con calcio (Mengel y Kirby, 1982).

La reacción suelo-fertilizante ocurre rápidamente cuando el superfosfato se aplica como polvo, por contacto entre el fertilizante y el suelo. Para reducir este efecto, se aplica el superfosfato granular y en banda, que satura la capacidad de adsorción de fosfato del suelo fácilmente y aumenta la concentración de fosfatos en la solución del suelo (Instituto Nacional de la Potasa y el Fósforo –INPOFO-, 1998).

Función del Fósforo en la Planta

El fósforo, como fosfato, es un componente integral de las células vegetales, como los fosfogliceratos, usados en la respiración y fotosíntesis, y de los fosfolípidos, constituyentes de las membranas vegetales. El fósforo es esencial en los ácidos nucleicos (ADN y ARN) y en los nucleótidos y coenzimas utilizados en el metabolismo energético (ATP) (Bidwell, 1979), promueve la formación temprana y el crecimiento de las raíces de trigo, acelera la madurez del grano y mejora su calidad (Kirchner *et al.*, 1987). En la planta, la concentración de P es más alta en la semilla que en ninguna otra parte de la planta madura (Mengel y Kirby, 1982).

En trigo, las deficiencias de fósforo causan senescencia prematura de la hoja bandera, en consecuencia, disminuye la actividad fotosintética y el rendimiento del trigo hasta un 40 por ciento, y el contenido de fósforo en grano, hasta un 75 por ciento (Batten *et al.*, 1986). El contenido de almidón en el grano disminuye porque no se sintetiza la enzima ADP glucosa pirofosfatasa, que regula la síntesis de almidón (Rijven y Gifford, 1983).

Rizosfera

Características Generales

La absorción de N y P, no depende solamente de la naturaleza química y las propiedades del suelo; la rizosfera también participa activamente en este proceso. La rizosfera fue definida por Hiltner en 1904, como la zona alrededor de las raíces de las plantas que estimulaba el crecimiento bacteriano (Box y Hammond, 1990). Esta definición se ha ampliado y en la actualidad, comprende tres zonas: (1) la ectorrizosfera o zona alrededor de la raíz; (2) el rizoplano, que es la superficie de la raíz; y (3) la endorrizosfera o interior de las raíces (Ferrera, 1989). La interacción entre las diferentes zonas de la rizosfera con los microorganismos del suelo, o efecto rizosfera, se debe a los compuestos orgánicos (Cuadro 2.1) exudados por la raíz durante su crecimiento que, directa o indirectamente, afectan el tipo, densidad y actividad de la población microbiana (Elliot *et al.*, 1984).

Cuadro 2.1. Compuestos orgánicos detectados en los exudados radicales de gramíneas.

Tipo de Compuesto	Componentes del exudado
Azúcares	Glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa, galactosa, ribosa, arabinosa.
Compuestos aminados	Asparagina, alanina, glutamina, ácido aspártico, serina, ácido aminobutírico, metionina, lisina, tirosina, arginina.
Ácidos orgánicos	Tartárico, oxálico, cítrico, málico, acético, propiónico, butírico, fumárico, valérico, malónico.
Ácidos grasos y esteroides	Palmítico, oléico, linoléico, colesterol.
Factores de crecimiento	Biotina, tiamina, niacina, colina, inositol.
Nucleótidos, flavonoides y enzimas	Adenina, guanina, uridina, fosfatasa, invertasa, amilasa, proteinasa.

Curl y Truelove, 1986

Los exudados radicales, por tanto, favorecen el crecimiento microbiano en o cerca de la raíz. La microflora del suelo puede responder de varias formas: causando daño a la planta, como los fitopatógenos, o beneficiándola, como *Rhizobium* spp., las micorrizas y las bacterias promotoras del crecimiento vegetal. El tipo y cantidad de los exudados radicales depende de la especie vegetal y el estado nutricional de la planta. Rovira (1956) reportó diferencias entre los patrones de exudados radicales de avena (*Avena sativum*) y chícharo (*Pisum sativum*) y encontró que el chícharo excreta 22 compuestos aminados y la avena 14, aunque ambas plantas excretan glucosa y fructuosa. Bokhari *et al.* (1979) analizaron los compuestos exudados por pastizales en diferentes etapas de desarrollo fenológico y encontraron que las plantas jóvenes y maduras

liberan más compuestos nitrogenados que las plantas en etapas intermedias de desarrollo, mientras que las plantas maduras excretan más azúcares que las plantas jóvenes. Estos investigadores atribuyen los cambios en los compuestos de los exudados radicales a la asimilación de diferentes concentraciones de minerales, según la etapa de desarrollo de la planta.

Rizobacterias

Características Generales

El término rizobacteria designa a las bacterias de la rizosfera capaces de colonizar activamente las raíces en respuesta a los exudados radicales (Schroth y Hancock, 1982; Weller, 1984). Las rizobacterias forman parte del nicho ecológico de la rizosfera que incluye, tanto a las bacterias unidas físicamente a la raíz, como aquellas que están en su área de influencia (Kloepper *et al.*, 1985). Las rizobacterias (RB) pueden tener un efecto positivo o negativo sobre el crecimiento de las plantas; las que ejercen una acción benéfica, reciben el nombre de promotoras del crecimiento vegetal (BPCV) (Kloepper y Schroth, 1978). Los géneros de BPCV más frecuentes en la rizosfera son *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Flavobacterium* y *Mycobacterium*, entre otros (Ferrera, 1995).

Mecanismos de Acción

Las rizobacterias contribuyen al crecimiento vegetal mediante diversos mecanismos (Marschner, 1995).

- Fijación de nitrógeno. Este proceso lo llevan a cabo los rhizobios y las bacterias diazotróficas de vida libre como *Azospirillum*, *Azotobacter* y *Pseudomonas*, principalmente (Bashan *et al.*, 1996).
- Solubilización de minerales. Es de particular interés la solubilización de fósforo, proceso que realizan bacterias como *Pseudomonas* y *Bacillus*, mediante la producción de ácidos orgánicos que convierten la apatita ($\text{Ca}_2(\text{PO}_4)_2$) en fosfatos di y monocálcicos, accesibles para las raíces (Alexander, 1977).
- Síntesis de sustancias que promueven el crecimiento vegetal. Las rizobacterias utilizan sustratos específicos de los exudados radicales para sintetizar hormonas. Por ejemplo, L-metionina, para etileno, L-triptofano, para ácido indol acético y adenina, para citocininas (Marschner, 1995). Las hormonas producidas modifican la morfología de las raíces e incrementan su capacidad de absorción de minerales (Tinker, 1984).
- Antagonismo a patógenos. Se ha observado que las rizobacterias disminuyen el número y la actividad de patógenos, como *Fusarium oxysporum* en papa (Beauchamp *et al.*, 1991), *Alternaria* en girasol (Hebbar

et al., 1991) y nemátodos en soya (Kloepper *et al.*, 1992), lo cual incrementa el crecimiento de la raíz.

- Producción de sideróforos. Son compuestos producidos por algunas rizobacterias; actúan como quelantes de hierro y aumentan su solubilidad (Kloepper y Schroth, 1981). Se ha observado que los sideróforos reducen el efecto de algunos microorganismos patógenos, como *Fusarium*, debido a que les limitan la disponibilidad del hierro, por lo que se les ha propuesto como agentes de control biológico (Kloepper, 1993).

Pseudomonas spp.

El género *Pseudomonas* es el grupo gram-negativo más abundante en el suelo. Son bacilos de 1.5 a 4 μm de largo con flagelos polares, aerobios estrictos, excepto las especies desnitrificadoras que utilizan el NO_3^- como aceptor de electrones, tienen versatilidad nutricional y son capaces de degradar diversos tipos de substratos naturales y artificiales (Atlas, 1984).

Un grupo especializado de *Pseudomonas* se asocia a las raíces vegetales. Este grupo tiene características, como altas tasas de crecimiento, movilidad (Weger *et al.*, 1987) y quimiotaxis a los exudados radicales (Arora *et al.*, 1983 y Scher *et al.*, 1985), que favorecen la colonización activa de las raíces. Se ha reportado que algunas *Pseudomonas*, solubilizan fósforo y benefician a la planta por las auxinas que producen. Leinhos (1994) analizó el efecto del pH y la concentración de glucosa en la producción de ácido indol

acético en *Pseudomonas* aislada de trigo y centeno, y reportó que sintetiza mayor cantidad de auxinas a pH 7 con uno por ciento de glucosa, concluyendo que los factores nutricionales radicales influyen en la producción de auxinas en rizobacterias. Muñoz-García y Valdés (1995) encontraron que *Pseudomonas putida*, aislada de la rizosfera de maíz, sintetiza ácido indol acético, giberelinas y sideróforos. Esta bacteria, inoculada en plántulas de maíz en suelo sin N adicionado, incrementó 23 por ciento el peso seco de vástago, con respecto al maíz sin inocular pero con N, y atribuyeron el efecto benéfico a la estimulación hormonal de origen bacteriano que aumentó el número y longitud de los pelos radicales, para una mayor exploración de N y P del suelo.

Trabajos sobre la solubilización de P con *Pseudomonas* spp. (Dubey, 1997) muestran que en campo, la inoculación de semillas de soya con *P. striata*, a 30 kg de P ha⁻¹, incrementó la eficiencia de absorción de P, en comparación con la soya inoculada y con 60 kg de P ha⁻¹. El aumento en la absorción de P, se debió a que *P. striata* incrementó el área de exploración de las raíces de soya y ello, aumentó el peso seco de vástago y el contenido en N y P, así como el rendimiento. Alagawadi y Gaur (1992) reportaron que en campo, la coinoculación de semillas de sorgo con *Pseudomonas striata* y *Azospirillum brasilense*, aumentó la solubilidad de P en la rizosfera, en consecuencia, encontraron un incremento de 47 por ciento en la absorción de P, 64 por ciento en materia seca y 40 por ciento de rendimiento, en comparación con las plantas inoculadas con cada bacteria por separado.

Lo anterior muestra que existe una relación de dependencia entre la absorción de N y P, pues cuando la planta absorbe uno de estos elementos, se estimula la incorporación del otro, resultando un mayor desarrollo y rendimiento vegetal. Estudios en campo, realizados por Khalid *et al.* (1997) muestran que la inoculación de semillas de trigo con *Pseudomonas*, incrementó el contenido de N y de P total, 65 y 42 por ciento, respectivamente, así como el peso seco del vástago (14.2 por ciento) y el rendimiento de grano (20.14 por ciento), comparado con en el trigo sin inocular.

Endomicorriza Vesículo Arbuscular

Características Generales

Otros microorganismos de las raíces son las micorrizas. El término micorriza significa, literalmente, hongo-raíz y se refiere a la estructura, estudiada desde principios del siglo XX, que resulta de la asociación entre los pelos radicales de una planta y hongos no patógenos específicos del suelo. Se considera a la micorriza como un órgano morfológica y funcionalmente distinto a la raíz no micorrizada. En todas las micorrizas mutualistas, el hongo contribuye significativamente a la asimilación mineral de la planta hospedera a cambio de fotosintatos (Baker *et al.*, 1998). Las micorrizas se encuentran ampliamente distribuidas en el reino vegetal, el 83 por ciento de las dicotiledóneas y el 79 por ciento de las monocotiledóneas las poseen, y todas las Gimnospermas están micorrizadas (Wilcox, 1991).

Existen dos grandes grupos de micorrizas según las alteraciones anatómicas que los hongos ocasionan en las raíces colonizadas, las ectomicorrizas y las endomicorrizas. Las endomicorrizas se subdividen en vesículo-arbusculares (VAM), ericoides y orquidáceas. Los últimos dos tipos tienen poca influencia sobre la absorción mineral de las plantas (Tinker *et al.*, 1992). Por el contrario, la mayoría de los cultivos de importancia agrícola, incluyendo el maíz, trigo, papa, frijol, soya, tomate, fresa, manzano, naranjo, vid, algodón, té, café y caña de azúcar, entre otros, forman asociaciones VAM (Atlas, 1984).

Las VAM pertenecen al orden de los Glomales e incluyen un número limitado de géneros (*Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora* y *Scutellospora*). En la actualidad, su taxonomía se basa principalmente en las características morfológicas de sus esporas, pues no es posible estudiarlos *in vitro* ya que no crecen en cultivos puros (Bonfante y Perotto, 1994).

Las hifas de los hongos VAM, crecen fuera y dentro de la raíz de la planta hospedera. Fuera de la raíz, el conjunto de hifas o micelio, puede extenderse varios centímetros hacia el suelo (García y Ocampo, 1989), mientras que, dentro de la raíz, las hifas crecen dentro y entre las células radicales. La característica distintiva de las VAM, es que dentro de las células de la raíz, las hifas forman dos tipos de estructuras, unas ramificadas, conocidas como arbusculos y otras ovoides o esféricas, llamadas vesículas. La principal función de los arbusculos es transferir minerales entre el hongo y la

planta hospedera. Gianinazzi *et al.* (1983) encontraron que la transferencia se debe a que la pared celular de la raíz de la planta, en el punto de contacto con los arbusculos, es extremadamente delgada, lo cual genera una zona fisiológicamente compleja, que permite la actividad de ATPasas y fosfatasas del hongo para intercambiar minerales con la planta. Las vesículas, cuya función es almacenar nutrimentos, se forman después de los arbusculos, cuando se hincha la punta terminal de una hifa y su desarrollo continúa aún después de que los arbusculos entran en senescencia (Buwalda *et al.*, 1984).

El primer paso para que se establezca la simbiosis VAM, es la germinación de las esporas del hongo endomicorrízico y el desarrollo de las hifas. Algunas esporas tienen periodos de letargo que requieren baja temperatura y humedad. Después de la germinación, las condiciones que favorecen el crecimiento radical, son adecuadas para el desarrollo de las hifas (Siqueira *et al.*, 1985). Durante su desarrollo, las hifas son atraídas por los exudados de la raíz, como los flavonoides (Becard y Piche, 1989). Cuando las hifas se establecen en la superficie de la raíz, forman un apresorio, a través del cual penetran a las células de la epidermis y la hipodermis y se extienden a la corteza, donde forman una matriz fúngica o unidad infecciosa. La concentración de P en la solución del suelo, el tipo de exudados radicales y la concentración de CO₂, afectan el desarrollo de la unidad infecciosa (Mosse, 1981). Simultáneo al crecimiento intrarradical del hongo, las hifas se desarrollan exteriormente por el suelo y dan lugar a una red de micelio sobre el que se forman las esporas. Las hifas externas, por lo tanto, actúan como soporte para las estructuras

reproductivas del hongo y como medio de transporte de nutrimentos (Brundrett *et al.*, 1985).

Mecanismos de Acción

Los beneficios de las VAM son el resultado de interacciones complejas y dinámicas entre el hongo micorrízico, la raíz de la planta y las propiedades físicas y químicas del suelo, en especial la concentración de N y P. Entre los beneficios más comunes para la planta, está el incremento de la absorción de macro y micronutrimentos y, por tanto, una mayor tolerancia al estrés hídrico y patógenos.

Durante la asociación VAM, la planta proporciona carbono orgánico al hongo y, en respuesta, la VAM extiende el área de exploración de la raíz, facilitando la absorción de agua y minerales, como P, N, Ca, K, Mg, Zn y Cu de la solución del suelo (Guzmán y Ferrera, 1990). Las VAM también incrementan la tolerancia a la sequía, al estrés salino y a los metales pesados (Aziz y Sylvia, 1991).

Uno de los efectos más estudiados de las VAM sobre el crecimiento vegetal es el aumento en la disponibilidad y absorción de P. Las plantas micorrizadas absorben más P debido a que: (a) hay mayor exploración física del suelo; (b) se incrementa la transferencia del elemento a las raíces; y (c) hay una utilización más eficiente del P dentro de la planta (Bolan, 1991). Además, al

igual que las raíces de las plantas hospedadas, las hifas VAM tienen actividad fosfatasa y, por lo tanto, tienen acceso al fósforo orgánico. Todos estos mecanismos, pueden explicar por qué la tasa de absorción de P en las raíces micorrizadas generalmente es dos a tres veces mayor que en las raíces no micorrizadas (Tarafdar y Marschner, 1994).

En los suelos calcáreos, la tasa de respiración (producción de CO₂) de las raíces con VAM, comparado con las raíces sin VAM, aumenta la solubilidad de los fosfatos de calcio e incrementa la eficiencia de absorción radical de P (Knight *et al.*, 1989). El efecto de las VAM sobre el crecimiento vegetal es evidente en suelos donde el P es un factor limitante, ya que elevadas concentraciones de P en el suelo inhiben la colonización de la raíz por los hongos VAM, así como la longitud y actividad de las hifas externas (Ferrera, 1989).

Aunque las VAM tienen efecto positivo sobre la absorción de N en plantas, su influencia es menor que sobre la absorción de P. Ames *et al.* (1983) encontraron que las VAM proporcionan el 20 por ciento del N en plantas no leguminosas, como el apio, debido a las altas tasas de transporte de N reducido (arginina o glutamina), que se moviliza junto con los polifosfatos en las hifas. Sin embargo, otros investigadores (Kothari *et al.*, 1990) consideran que el incremento de N se debe al efecto que tienen las VAM sobre el desarrollo general de la planta y la mayor absorción de agua, que moviliza minerales como los NO₃⁻.

Con respecto a la mayor tolerancia de las plantas micorrizadas al estrés hídrico, comparado con las plantas no micorrizadas, Augé y Stodola (1990), explican que esta respuesta se debe a los cambios en la morfología radical (número y ramificación de las raíces) que inducen las VAM. Otros investigadores (Davies *et al.*, 1992), han reportado que los cambios en la estructura del suelo, producidos por las hifas VAM, aumentan la extracción de agua, debido a una mayor conductividad hidráulica del suelo.

Las VAM también ejercen un efecto de supresión de los patógenos fúngicos y bacterianos de las raíces. Perrin (1990) considera que este efecto se debe al mejor estado nutricional de la planta por el incremento en la absorción de P, Zn y Cu. Sin embargo, Waschki *et al.* (1994) reportaron que las VAM reducen el ataque de *Pseudomonas fluorescens* en plántulas de vid porque modifican la fisiología de la raíz (reacciones de defensa).

Glomus spp.

La inoculación de cultivos agrícolas con hongos endomicorrízicos vesículo arbusculares, como *Glomus* spp., puede incrementar el crecimiento vegetal en suelos con escasa disponibilidad de P (Kuo y Huang, 1982). *Glomus* se encuentra libre en el suelo o formando esporocarpos y presenta clamidosporas que nacen terminalmente en una hifa. Existen más de 20 especies de *Glomus*, pero en la actualidad, a nivel comercial se utilizan

principalmente *G. fasciculatum*, *G. fistulosum*, *G. mosseae* y *G. intraradices* para inocular cultivos agrícolas (Brundrett *et al.*, 1985).

En invernadero, Majjigudda y Screenivisa (1998) inocularon trigo con *Glomus* y fertilizaron con 0, 50, 75 y 100 por ciento de la dosis de P recomendada para la región, correspondiente a 75 kg P ha⁻¹. La inoculación aumentó significativamente el porcentaje de colonización radical de los hongos efectivos porque compitieron con los hongos VAM inefectivos nativos del suelo. La infección VAM efectiva aumentó el rendimiento del trigo inoculado y fertilizado con 75 por ciento de P, con relación a las plantas sin inocular y con 100 por ciento de P. También se ha estudiado el efecto de la inoculación sobre el establecimiento de VAM efectivas en campo. Medina *et al.* (1990) inocularon las leguminosas forrajeras *Macroptilium atropurpurem* y *Aeschynomene american* con *Glomus* y fertilizaron con 30, 90 y 120 kg de P ha⁻¹. Estos investigadores encontraron que las leguminosas inoculadas y fertilizadas con 30 y 90 kg de P ha⁻¹, tenían un peso seco de vástago y contenido de N y P significativamente mayor que las leguminosas colonizadas por VAM inefectivas nativas y fertilizadas con 120 kg de P ha⁻¹.

Sylvia *et al.* (1993) estudiaron en campo, el efecto de *Glomus* y diferentes niveles de humedad sobre el crecimiento y rendimiento de maíz. Aplicaron el inóculo en banda al suelo (1500 propágulos m⁻¹), y sembraron y fertilizaron según las practicas convencionales de la región. La inoculación aumentó significativamente las concentraciones de P y Cu en el vástago y

grano de maíz, comparado con las plantas de maíz sin inocular, debido a una mayor colonización VAM de las raíces durante los primeros estadios de desarrollo del maíz.

Inoculación con *Pseudomonas* y *Glomus*

Con el fin de aprovechar el efecto benéfico que las rizobacterias y las VAM tienen sobre el crecimiento vegetal, se han realizado inoculaciones conjuntas, o coinoculaciones, con *Pseudomonas* y *Glomus* para estudiar la acción sinérgica de ambos microorganismos, en un intento de reproducir la interrelación bacteria-hongo-planta que se observa en la naturaleza. En este sentido, Germida y Walley (1997) coinocularon semillas de trigo con cinco especies de *Pseudomonas* (10^7 - 10^8 unidades formadoras de colonia [ufc] semilla⁻¹) y *Glomus* spp. y observaron que algunas de las interacciones bacteria-hongo, fueron positivas pero otras disminuyeron el crecimiento de trigo. El rendimiento de las plantas coinoculadas con *P. putida*+*Glomus* fue significativamente mayor que en el trigo sin inocular, mientras que otras especies de *Pseudomonas* inhibieron la colonización por *Glomus* y, consecuentemente, disminuyó la longitud y la distribución de las raíces del trigo.

Sattar y Gaur (1989) evaluaron, en invernadero, el efecto de la coinoculación con *P. striata* y *G. fasciculatum* en trigo fertilizado con 30 y 60 kg P ha⁻¹, aplicado como roca fosfórica. Estos investigadores reportaron que las plantas inoculadas y con 30 kg de P, asimilaron 41 por ciento más fósforo que

las plantas sin inocular, pero cuando se aplicó 60 kg de P, se redujo el contenido de fósforo 38 por ciento. Los autores atribuyen este efecto a la dosis alta de fósforo que disminuyó la actividad solubilizadora de *P. fluorescens* y, consecuentemente, redujo la absorción de P por las hifas de *G. fasciculatum*.

Técnicas Isotópicas en los Estudios de Absorción de Fertilizantes N

El estudio de la dinámica del N en el suelo es un reto para los investigadores agrícolas, debido a la variedad de los compuestos nitrogenados formados por los microorganismos del suelo y a su efecto sobre el ambiente. Por ello, es más práctico evaluar el destino del fertilizante mediante el contenido de N en el cultivo, utilizando fertilizantes marcados con isótopos de N (Bowen y Zapata, 1991). Las técnicas isotópicas constituyen un valioso instrumento en la investigación agrícola porque proporcionan información rápida y específica sobre la absorción del fertilizante por la planta (Cioban, 1996).

La mayoría de los elementos minerales esenciales de los cultivos agrícolas tienen, cuando menos, dos isótopos estables, de los cuales el más pesado (átomo con mayor masa), suele utilizarse como marcador en los sistemas biológicos. El isótopo estable se encuentra en pequeñas cantidades en la naturaleza, y su relación con los isótopos ligeros, conocida como composición isotópica estable, se mide por espectrometría de masas o de emisión óptica. La cantidad del isótopo pesado se expresa en átomos por ciento en exceso de la abundancia natural (Axmann y Zapata, 1990). El

fertilizante marcado se aplica en microparcels que abarcan la superficie más pequeña posible, para obtener una muestra representativa. En el caso de trigo, la microparcels es de 1.0 m² (Hardarson y Danso, 1990).

Isótopos del Nitrógeno

El nitrógeno tiene dos isótopos estables, el ¹⁴N y el ¹⁵N. La composición isotópica de ¹⁵N en la atmósfera, es aproximadamente 0.366 por ciento del nitrógeno total en la atmósfera, mientras que el ¹⁴N, forma 99.634 por ciento. Es decir, por cada átomo de ¹⁵N, existen 272 átomos de ¹⁴N que producen 0.3663 átomo por ciento de ¹⁵N.

La relación ¹⁴N/¹⁵N en la atmósfera, permite que los materiales de nitrógeno artificialmente enriquecidos en ¹⁵N, se utilicen como trazadores biológicos. Puesto que el ¹⁵N y ¹⁴N no son radiactivos, su uso en la investigación, no constituye un riesgo para la salud y, además, su naturaleza estable permite realizar experimentos a largo plazo. Por esta razón, el ¹⁵N se ha convertido en un isótopo de amplia aplicación en las investigaciones relacionadas con los fertilizantes nitrogenados en los sistemas agrícolas.

Como ya se mencionó, la medición de la relación isotópica ¹⁵N/¹⁴N, se realiza mediante espectrometría de masas o de emisión óptica. En ambos casos, sólo puede usarse el nitrógeno gaseoso para el análisis, por lo que los compuestos nitrogenados de la muestra deben convertirse en nitrógeno

gaseoso. Para ello, se puede utilizar el método de Kjeldahl-oxidación Rittenberg o el método Dumas de combustión en seco (Zapata, 1990). Los métodos espectrométricos detectan los tres tipos de moléculas nitrogenadas que se forman cuando se unen los átomos de nitrógeno; los átomos ^{14}N y ^{15}N forman moléculas de $^{14}\text{N}-^{14}\text{N}$, $^{14}\text{N}-^{15}\text{N}$ y $^{15}\text{N}-^{15}\text{N}$, que se representan como $^{28}\text{N}_2$, $^{29}\text{N}_2$ y $^{30}\text{N}_2$, respectivamente. El porcentaje de abundancia de ^{15}N (a) de una muestra, que representa la proporción de átomos de ^{15}N con respecto al número total de nitrógeno, se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$a = \frac{(^{30}\text{N}_2) + \frac{1}{2} ^{29}\text{N}_2}{(^{28}\text{N}_2 + ^{29}\text{N}_2 + ^{30}\text{N}_2)} \times 100$$

MATERIALES Y METODOS

La investigación constó de dos experimentos, uno de invernadero y otro de campo. Bajo condiciones de invernadero, se probó el efecto de las rizobacterias y VAM aislados en el laboratorio sobre el crecimiento de la planta de trigo, y bajo condiciones de campo, se evaluó el efecto de los microorganismos seleccionados sobre la absorción de N y P y sobre el rendimiento del cultivo.

Materiales

Material Vegetal y Microbiológico

Se utilizó el trigo (*Triticum aestivum* L.) como planta testigo porque es una gramínea importante en la alimentación del pueblo mexicano y su cultivo en suelos calcáreos está limitado por la disponibilidad de N y P. La variedad utilizada, Pavón F-76, es un trigo harinero de hábito de primavera que resulta de la cruce de VICAM S71 x CIANO S siete cerrus-kalyan bluebird y fue proporcionado por el Departamento de Cereales de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). La planta florece a los 88 días en el campo,

alcanza su madurez fisiológica a los 136 días y presenta una altura de 1.10 a 1.15 m.

Los microorganismos utilizados para inocular el trigo fueron *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp., aislados de malezas de la región como se describe en la sección correspondiente.

Suelo

El suelo fue tomado de los terrenos dedicados al cultivo agrícola de la UAAAN, Saltillo, Coah. Es un suelo clasificado como Xerosol háplico, de origen sedimentario, de color claro, debido al contenido de calcio, y textura migajón arcilloso. Las características físicas y químicas del suelo se muestran en la sección correspondiente.

Fertilizantes

Fuente de N. Urea ($(\text{NH}_2)_2 \text{CO}$) con 46 por ciento de N. Además, en la etapa de campo, se aplicó ^{15}N -urea para seguir el destino del N en el trigo.

Fuente de P. Superfosfato triple, con 46 por ciento de P_2O_5 , uno por ciento de impurezas de ácido fosfórico y 17 a 20 por ciento de CaO.

Fuente de K. Sulfato de potasio, con 44.8 por ciento de K.

Solución nutritiva de Jensen

Es una fuente de minerales para plantas cultivadas en sistemas hidropónicos. Su composición química se describe en la sección correspondiente.

Experimento en Invernadero

Se partió de la premisa de que las raíces de las malezas poseen una población microbiana adaptada a las condiciones ambientales de la región y de que esta población favorece el crecimiento de la planta. Así, se aislaron dos clases de microorganismos, rizobacterias y hongos VAM de malezas asociadas al cultivo de trigo, sembrado en los terrenos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), Saltillo, Coah., México.

Selección de Rizobacterias Benéficas Para Trigo Aisladas de Malezas

Origen de las Rizobacterias

Se seleccionaron e identificaron (Villarreal, 1983) cuatro malezas asociadas al cultivo de trigo en el área de influencia de la UAAAN, *Reseda luteola* (gualda), *Asphodelus fistulosus* L. (cebollín), *Eruca sativa* Mill (nabo silvestre) y *Aristida* spp L. (tres barbas). Se colectaron tres plantas de cada especie, incluyendo la rizosfera, se colocaron dentro de bolsas de polietileno y

se transportaron al Laboratorio de Microbiología de Suelos del Departamento de Suelos de la UAAAN. Se separó el sistema radical y se mantuvo a 5° C por un periodo no mayor de 24 horas previo a su procesamiento. Se prepararon diluciones del material rizosférico (raíz y suelo) de cada planta y se sembró 0.1 ml en cajas Petri con medio Ashby (g l⁻¹: manitol, 1.5 g; K₂HPO₄, 0.02 g; MgSO₄·7H₂O, 0.02 g; NaCl, 0.02 g; CaSO₄·2H₂O, 0.01 g; CaCO₃, 0.5 g; agar, 1.6 g y pH final, 7). Las muestras se incubaron a 30° C durante 48 h y se resembraron por estría en el mismo medio hasta obtener cultivos axénicos. De cada maleza, se seleccionó la bacteria más abundante en el medio de aislamiento que formaba colonias lisas, de color crema y con alta producción de mucílago. Se asignó una clave de identificación a cada bacteria, según la maleza de procedencia: RB1 aislada de *R. luteola*, RB2, de *A. fistulosus*, RB3, de *E. sativa* y RB4 de *Aristida* spp. Las bacterias se propagaron en caldo nutritivo (Bioxon), en un agitador rotatorio (150 rpm), a 30° C por 48 h, para tomar una alícuota que se diluyó en solución salina estéril hasta obtener una suspensión bacteriana con una densidad de 9.8×10^3 ufc ml⁻¹ por la técnica de cuenta viable. Esta suspensión se utilizó como inóculo bacteriano.

Sistema Semihidropónico “Jarra Leonard”

Se probó el efecto de las rizobacterias sobre el peso seco de trigo fertilizado con el 50 por ciento de la dosis de urea recomendada para la región, que corresponde a 120 kgN ha⁻¹ (INEGI, 1996). Para esto, se utilizó el sistema semihidropónico o jarra Leonard (Figura 3.1) que facilita la exposición a la luz,

humedad y nutrientes para las plantas y un control microbiológico (Luna y Sánchez-Yáñez, 1991). En la parte superior de la jarra, se colocó el sustrato, formado por una mezcla estéril (120 °C/20 min) de suelo-arena en proporción 1:4 y en el reservorio, 500 ml de solución nutritiva estéril de Jensen (g l^{-1} : CaHPO_4 , 0.1 g; K_2HPO_4 , 0.02 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.02 g; NaCl , 0.02 g; FeCl_3 , 0.01 g; pH, 7; ml l^{-1} de solución de micronutrientes: H_3BO_3 , 0.05 g; MnSO_4 , 0.05 g; ZnSO_4 , 0.005 g; Na_2MoO_4 , 0.005 g y CuSO_4 , 0.002 g), enriquecida con 60 kgN ha^{-1} , en forma de urea.

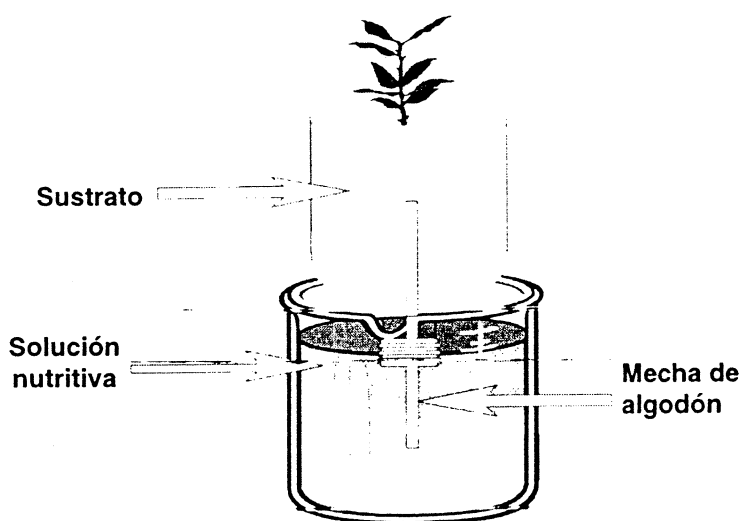


Figura 3.1. Sistema semihidropónico jarra Leonard.

Inoculación del Trigo

Se utilizaron semillas de trigo (*Triticum aestivum* L.) var. Pavón F-76 del ciclo otoño-primavera. Previo a la siembra, se desinfectaron las semillas con hipoclorito de sodio al 1.2 por ciento, durante 15 minutos, se lavaron cinco

veces con agua destilada estéril y se germinaron en agar-agua en cajas Petri, para evitar interferencias ajenas de contaminación.

Se colocaron cuatro plántulas en cada jarra Leonard y posteriormente se aclaró a una por unidad. A la emergencia, se inocularon las plántulas con dos ml de cada suspensión bacteriana por separado, o una combinación de las mismas (Cuadro 3.1), y se mantuvieron en invernadero con temperatura diurna de 25° C y nocturna de 19° C . Se regó con la solución nutritiva de Jensen para mantener suficientemente húmedo el suelo.

Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Los tratamientos se distribuyeron en el invernadero en un diseño completamente al azar. Se realizaron dos muestreos, el primero, al amacollamiento, o etapa cinco de la escala de Feeke (Large, 1954) y el segundo, al espigamiento, o etapa 10.5 de la misma escala. En cada muestreo, se separaron las raíces, hojas, tallos y, en su caso, las espigas, para secarlas a 70° C y determinar peso seco.

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza con siete tratamientos y tres repeticiones para evaluar el efecto de las rizobacterias sobre el peso seco de trigo cultivado en invernadero. Las diferencias entre tratamientos se obtuvieron por comparación de medias según el método DMS (diferencia mínima significativa) con $P < 0.05$.

Cuadro 3.1. Tratamientos para evaluar el efecto de la inoculación de trigo var. Pavón F-76 con rizobacterias aisladas de malezas en invernadero.

Tratamiento ^a	Tipo de rizobacteria	Origen de la rizobacteria
1(c.r.)	Sin inocular	
2	RB1	<i>Reseda luteola</i> L. (gualda)
3	RB2	<i>Asphodelus fistulosus</i> L. (cebollín)
4	RB3	<i>Eruca sativa</i> Mill (nabo silvestre)
5	RB4	<i>Aristida</i> spp. (tres barbas)
6	RB1 + RB2	
7	RB3 + RB4	

^a Tres repeticiones por tratamiento. c.r., control relativo (sin inocular y con 100% de urea).

Efecto de la Coinoculación *Pseudomonas putida*/Glomus spp. sobre el Peso Seco de Trigo en Invernadero

Identificación de *Pseudomonas putida*

Con base en los resultados del experimento anterior, se seleccionó la rizobacteria que mayor efecto tuvo sobre el peso seco de trigo y se utilizó en los ensayos de coinoculación con el hongo endomicorrízico *Glomus* spp. La rizobacteria seleccionada fue identificada como *Pseudomonas putida*, mediante el sistema de caracterización bacteriológico BIOLOG^{MR}.

Aislamiento de Endomicorrizas Vesículo Arbusculares

Para determinar la presencia de hongos endomicorrízicos vesículo arbusculares (VAM) en malezas asociadas al trigo, se procedió de manera

similar a la descrita en el aislamiento de rizobacterias. Se colectaron tres plantas de cada especie de maleza (*Reseda luteola* L., *Asphodelus fistulosus* L., *Eruca sativa* Mill y *Aristida* spp.) y se trasladaron al laboratorio, como se describió anteriormente. Después, se separó el suelo de las raíces para la extracción de esporas y se lavaron las raíces con agua de la llave para su tinción y observación microscópica.

La tinción de las VAM se realizó mediante la técnica de Phillips y Hayman (1970) en donde las raíces se cubrieron con KOH al 10 por ciento y se calentaron durante 10 minutos, a 10 atmósferas de presión. Después de eliminar el exceso de KOH y lavar las raíces con agua destilada estéril, se trataron con H₂O₂ al 10 por ciento, durante tres minutos, y se lavaron nuevamente. Las raíces se acidificaron con HCl al 10 por ciento, durante tres minutos, y se lavaron y tiñeron con azul de tripano al 0.05 por ciento en lactoglicerol, que se dejó actuar durante 10 minutos, a 10 atmósferas de presión. Se decoloraron las raíces con lactoglicerol limpio y se observaron al microscopio, encontrando arbuscúlos y vesículas en las raíces de las cuatro especies de maleza colectadas.

Evaluación de la Capacidad de Infección de las VAM e Identificación de Esporas

Para determinar la infectividad de las VAM en las raíces del trigo, se realizó un ensayo utilizando como inóculo micorrízico las raíces de las malezas,

previamente desinfectadas con kanamicina, secadas y molidas por separado en un mortero (Luna y Sánchez, 1991). Posteriormente, se desinfectaron semillas de trigo como se describió, se mezclaron con un adherente (sacarosa 10 por ciento) y se cubrieron con 0.1g del inóculo VAM de cada una de las cuatro malezas. Las semillas inoculadas se sembraron en macetas con suelo estéril en invernadero por 30 días. Las plantas se cosecharon y se separaron sus raíces para teñirlas y observarlas al microscopio. Así, se encontró que las VAM de las malezas *Reseda luteola* y *Eruca sativa* infectaron las raíces del trigo, por lo que se seleccionaron para los experimentos posteriores.

Para identificar las VAM que infectaron el trigo, se aislaron sus esporas por el método de tamizado y decantación de Gerdeman y Nicolson (1963) para lo cual se diluyeron 100 g de suelo rizosférico por tratamiento en 1000 ml de agua, se agitó mecánicamente durante cinco minutos y se dejó reposar tres minutos, con la finalidad de eliminar partículas grandes por sedimentación. La suspensión se pasó a través de tres tamices de diferente calibre, colocados uno sobre el otro, de menor a mayor número de malla (200, 230 y 325). Se trasladó la fracción de suelo obtenida en cada tamiz a frascos de vidrio para aislar las esporas con tubos capilares. Se realizó un examen microscópico de las esporas y, después de considerar su forma, textura y color, se identificaron como *Glomus* spp. (Morton, 1988). Se designó como G1 a *Glomus* aislado de *Reseda luteola* y como G2 al proveniente de *Eruca sativa*.

Coinoculación de Trigo con *Pseudomonas putida*/*Glomus* spp.

Las semillas de trigo se desinfectaron como se describió, se mezclaron con un adherente (sacarosa 10 por ciento) y se cubrieron con 0.1 g del inóculo micorrízico de *R. luteola* o *E. sativa* (Cuadro 3.2). Las semillas inoculadas se colocaron en jarras Leonard, en el cual se usó como sustrato una mezcla estéril de suelo-arena (1:4) y solución nutritiva estéril de Jensen, enriquecida con 50 por ciento de la dosis de N recomendada para la región (120 kgN ha^{-1}) aplicada como urea y 50 y 100 por ciento de la dosis de P recomendada para la región (80 kgP ha^{-1}) aplicada como superfosfato triple. A la emergencia se inocularon las plántulas con 2 ml de la suspensión de *P. putida* ($8.5 \times 10^4 \text{ ufc ml}^{-1}$). Las plantas se conservaron en invernadero ($25^\circ \text{ C}/19^\circ \text{ C}$) y se repuso la solución nutritiva Jensen para mantener el suelo suficientemente húmedo.

Cuadro 3.2. Tratamientos para evaluar el efecto de la inoculación con *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp. en el trigo var. Pavón F-76 en invernadero.

Tratamiento	Inoculación ^a	Fertilización ^b	
		kgN ha ⁻¹	kgP ha ⁻¹
1 (c.a.)	0	0	0
2 (c.r.)	0	120	80
3	G1	60	80
4	G1	60	40
5	G2	60	80
6	G2	60	40
7	G1 + G2	60	80
8	G1 + G2	60	40
9	P.p + G1	60	80
10	P.p + G1	60	40
11	P.p + G2	60	80
12	P.p + G2	60	40
13	P.p + G1 + G2	60	80
14	P.p + G1 + G2	60	40

c.a., control absoluto; c.r., control relativo. ^a P.p, *Pseudomonas putida*; G1, *Glomus* aislado de *Reseda luteola*; G2, *Glomus* aislado de *Eruca sativa*. ^b N, aplicado como urea, dosis recomendada, 120 kgN ha^{-1} ; P, aplicado como superfosfato triple, dosis recomendada, 80 kgP ha^{-1} .

Determinación del Porcentaje de Infección VAM en la Raíz de Trigo Inoculado

Esta variable se evaluó a la cosecha, para lo cual se obtuvo una muestra de raíces de cada jarra Leonard y se tiñeron según la técnica de Phillips y Hayman (1970) previamente descrita. Se colocaron 10 segmentos, de un centímetro de longitud, de raíz teñida sobre un portaobjetos y se cubrieron con una gota de lactoglicerol limpio. Los segmentos se observaron al microscopio óptico en el aumento de 100x y se asignó el valor de uno a los segmentos que contenían hifas, vesículas y/o arbusculos, independientemente de la intensidad de la micorrización (Ferrera *et al.*, 1993). Se calculó el porcentaje de colonización VAM total según la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de colonización total} = \frac{\text{Número de segmentos colonizados}}{\text{Número de segmentos totales}} \times 100$$

Diseño Experimental y Análisis Estadístico

El experimento se realizó bajo un diseño completamente al azar con 14 tratamientos y tres repeticiones. Se incluyó un tratamiento con trigo sin inocular ni fertilizar (control absoluto) y otro con trigo sin inocular y fertilizado con 120 kgN ha⁻¹ y 80 kgP ha⁻¹ (control relativo). El trigo se cosechó al inicio del espigamiento (etapa 10.5 de la escala de Feeke), se cuantificó el peso seco (70 °C/72 h) de la raíz y del vástago y el porcentaje de colonización VAM. Los datos obtenidos se

sometieron a un análisis de varianza y a una comparación de medias según Tukey ($P < 0.05$).

Experimento de Campo

Efecto de la Coinoculación *Pseudomonas putida*+*Glomus* spp. sobre la Absorción de Nitrógeno y Fósforo de Trigo y sobre el Rendimiento del Cultivo en Campo

Localización y Descripción del Sitio Experimental

El estudio se realizó en el campo experimental de la UAAAN, localizada a siete kilómetros al sur de la ciudad de Saltillo, Coahuila, en las coordenadas 25° 25' 41" latitud norte y 100° 57' 57" longitud oeste y altitud de 1742 msnm. La región tiene un clima seco, semicálido, con invierno fresco y extremoso. Las lluvias en verano y la precipitación invernal, superan el 10 por ciento de la precipitación total anual. La temperatura y precipitación media anual es de 16.9° C y 497.8 mm, respectivamente (INEGI, 1996).

Análisis de Suelo

Previo al establecimiento del experimento se tomaron muestras de suelo del campo experimental a una profundidad de 30 cm para su análisis físico y químico. Los resultados se muestran en el Cuadro 3.3.

Cuadro 3.3. Características físicas y químicas del suelo sembrado con trigo coinoculado con *Pseudomonas putida*/*Glomus* spp.

Característica	Método de determinación	Valor	Interpretación
Textura	Hidrómetro de Bouyoucos	Arena 52.8% Limo 24.0% Arcilla 22.5%	Migajón arcilloso
pH	Potenciómetro	8.3	Medianamente alcalino
Conductividad eléctrica (CE)	Puente de Wheastone	0.27 S m ⁻¹	Ligeramente salino
Materia orgánica (MO)	Walkley-Black	1.92 %	Mediano
Nitrógeno total (Nt)	Kjeldahl	0.12%	Medianamente Pobre
Capacidad de intercambio catiónico (CIC)	Acetato de amonio	30.6 cmol kg ⁻¹	
Carbonatos totales (CaCO ₃)	NaOH 1N	36.3%	Mediano
Fósforo aprovechable	Olsen	32.5 mg kg ⁻¹	Mediano
Densidad aparente (Da)	Probeta	1.3 g cm ³ ⁻¹	

Departamento de Suelos de la UAAAN

Preparación del Terreno

El terreno, con una superficie total de 1,060 m², se preparó con tractor según las prácticas culturales recomendadas para la región, que incluyen barbecho, rastra cruzada, nivelación, surcado y bordeo. Se trazaron parcelas de rendimiento de 4 m² (2 x 2 m) con cinco surcos cada una, separadas 30 cm.

Se consideró como parcela útil el área de 1.0 m² formada por los tres surcos centrales.

Marcaje de *Pseudomonas putida*

Se marcó *Pseudomonas putida* por el método de resistencia a antibióticos para registrar su colonización en la rizosfera de trigo en el experimento de campo. Para ello, se propagó la bacteria en caldo nutritivo en un agitador rotatorio (150 rpm) a 30° C por 24 h. Posteriormente, se introdujo un hisopo estéril en el medio de propagación y con él se hicieron estrías sobre agar nutritivo contenido en cajas Petri para obtener un crecimiento uniforme. Sobre el crecimiento bacteriano, se colocó un multidiscos Gram(-) (Senofi) para determinar la sensibilidad de *P. putida* a 12 antibióticos. Se observó la mayor resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol (Bactrin, Roche), que se utilizó para preparar un medio selectivo con 200 mg ml⁻¹ en caldo nutritivo.

Preparación del Inoculante

Se cultivó *Pseudomonas putida* en caldo nutritivo, en un agitador rotatorio (150 rpm), a 25° C durante 24 h, o hasta obtener una densidad bacteriana de 10³ ufc ml⁻¹. Como soporte para el inoculante se utilizó turba (peat moss) canadiense, molida en un molino eléctrico (marca Thomas Williams, malla de 2 mm) y esterilizada en autoclave a 120° C por 2 h. Se eliminó el exceso de humedad de la turba estéril en una estufa a 60° C, se dejó enfriar y se colocó en bolsas de polietileno. En condiciones asépticas, se

impregnó la turba con *P. putida* y se dejó madurar a 20-25° C durante 15 a 20 días, hasta que presentó una densidad bacteriana de 3.5×10^4 ufc g⁻¹.

Preparación del Inoculante VAM

Se utilizaron las VAM previamente identificadas como G1 (aislada de *Reseda luteola* L.) y G2 (aislada de *Eruca sativa* Mill). Las raíces de las malezas se desinfectaron, se secaron a temperatura ambiente y se molieron por separado en un mortero. El inóculo micorrízico obtenido se guardó en bolsas de papel, hasta su uso posterior.

Inoculación y Siembra de Trigo

La inoculación de las semillas de trigo con *Glomus* spp. y *P. putida* se realizó 12 h antes de la siembra. Las semillas se cubrieron con un adherente (sacarosa 10 por ciento), se impregnaron con 0.2 g del inoculante VAM de la maleza respectiva (Cuadro 3.4) y se mezclaron con 40 g del inoculante bacteriano. Se prepararon bolsas de polietileno con 60 g de la semilla coinoculada para cada tratamiento. La siembra se realizó por el método de chorrillo, con una densidad de 150 kg ha⁻¹, a principios del mes de febrero de 1998 y durante las primeras horas del día con el fin de evitar daños a los inoculantes por radiación solar.

Cuadro 3.4. Tratamientos para evaluar el efecto de la coinoculación *Pseudomonas putida*/*Glomus* spp. en trigo var. Pavón F-76, fertilizado a tres niveles de N y dos de P en campo.

Tratamiento	Fertilización (kg ha ⁻¹) ^a		Inoculación ^b	Tratamiento	Fertilización (kg ha ⁻¹)		Inoculación
	N	P			N	P	
1	0	0	0	19	120	0	0
2	0	0	P.p + G1	20	120	0	P.p + G1
3	0	0	P.p + G2	21	120	0	P.p + G2
4	0	40	0	22	120	40	0
5	0	40	P.p + G1	23	120	40	P.p + G1
6	0	40	P.p + G2	24	120	40	P.p + G2
7	0	80	0	25	120	80	0
8	0	80	P.p + G1	26	120	80	P.p + G1
9	0	80	P.p + G2	27	120	80	P.p + G2
10	60	0	0	28	180	0	0
11	60	0	P.p + G1	29	180	0	P.p + G1
12	60	0	P.p + G2	30	180	0	P.p + G2
13	60	40	0	31	180	40	0
14	60	40	P.p + G1	32	180	40	P.p + G1
15	60	40	P.p + G2	33	180	40	P.p + G2
16	60	80	0	34	180	80	0
17	60	80	P.p + G1	35	180	80	P.p + G1
18	60	80	P.p + G2	36	180	80	P.p + G2

^a N, aplicado como urea, dosis recomendada, 60 kgN ha⁻¹; P, aplicado como superfosfato triple, dosis recomendada, 80 kgP ha⁻¹. ^b P.p, *Pseudomonas putida*; G1, *Glomus* spp aislado de *Reseda luteola*; *Glomus* spp aislado de *Eruca sativa*.

Fertilización

Con base en la dosis de fertilización recomendada para la región, 120-80-60 (INEGI, 1996) se probaron 0, 60, 120 y 180 kgN ha⁻¹, aplicado como urea, y 0, 40 y 80 kgP ha⁻¹, aplicado como superfosfato triple (Cuadro 3.4). Asimismo, se adicionó potasio como sulfato de potasio a razón de 60 kgK ha⁻¹ en todos los tratamientos. Los fertilizantes se fraccionaron en tres partes iguales, aplicándose manualmente en banda, durante las etapas críticas de desarrollo del trigo (amacollamiento, anthesis e inicio de llenado de grano).

Riego y Control de Plagas

Se aplicaron seis riegos por rodado y aspersión en las etapas de germinación, amacollamiento, encañe, formación de la hoja bandera, durante la floración y al inicio del llenado de grano. El deshierbado y la escardada se efectuaron manualmente cuando el cultivo lo requirió y se aplicó un insecticida (Folidol 1 l ha⁻¹) para el control de araña roja y pulgón.

Detección de *Pseudomonas putida* en el Rizoplano de Trigo Inoculado

Dos meses después de la siembra (etapa 10.5 de la escala de Feeke), se cuantificó la población de *Pseudomonas putida* en el rizoplano del trigo inoculado. Para esto, se colectaron tres plantas de la parcela útil de cada repetición de los tratamientos y se colocaron en bolsas de polietileno para su traslado al laboratorio, donde se separó la raíz y se mantuvo en refrigeración (5° C) por un periodo no mayor de 24 h. Las raíces se lavaron con agua de la llave y se prepararon diluciones del rizoplano en agua destilada estéril. Se tomó una alícuota de 0.1 ml de las diluciones para inocular cajas de Petri con el medio selectivo previamente diseñado (200 mg ml⁻¹ de trimetoprim-sulfametoxazol en agar nutritivo). Las muestras se incubaron a 30° C por 24 h y se cuantificaron las colonias por gramo de raíz de trigo.

VARIABLES EVALUADAS

La cosecha se realizó manualmente cuando el trigo de la parcela útil alcanzó la madurez fisiológica. Las plantas se transportaron a un solarío para su secado, donde permanecieron hasta que su peso fue constante. Después, se utilizó una trilladora mecánica para separar el grano del vástago y se pesaron ambas partes. Se molieron porciones de grano y vástago en un molino eléctrico para su análisis químico.

Las variables evaluadas fueron: (a) contenido de N y P total (porcentaje de N y P) y peso seco de vástago ($t\ ha^{-1}$); (b) contenido de N y P total en grano; y (c) rendimiento de grano ($t\ ha^{-1}$).

El contenido de N total se determinó por el método de micro Kjeldahl que se basa en la digestión o conversión del N orgánico en N mineral (amonificación) mediante el calentamiento prolongado con ácido sulfúrico (digestión). Después, se destiló el N en forma de amonio mediante la acción de hidróxido de sodio, que se recogió en una solución de ácido bórico (López y López, 1990). El contenido de P total se determinó por el método de Olsen, modificado para plantas, en el cual se digiere con ácido clorhídrico la muestra calcinada y se suspende en una solución de molibdato de amonio y ácido ascórbico (Watanabe y Olsen, 1965). Se determinó la absorbancia de la muestra en un espectrofotómetro, a una longitud de onda de 660 nm.

Eficiencia de Absorción Radical de ^{15}N Urea

Para determinar el efecto de la coinoculación sobre la eficiencia de absorción del fertilizante en trigo, se aplicó ^{15}N -urea, con 10 por ciento de átomos en exceso de ^{15}N , en siete microparcels de 1.0 m² cada una. Se inocularon las semillas de trigo, como se señaló, con *Pseudomonas putida*, *Glomus* spp. o una combinación de ambos, y se fertilizó con 60 kgN ha⁻¹, aplicado como urea+ ^{15}N -urea, y 40 y 80 kgP ha⁻¹, aplicado como superfosfato triple (Cuadro 3.5). Debido al costo de la ^{15}N -urea, en este ensayo no se incluyeron repeticiones de los tratamientos ni se realizó un análisis estadístico de los resultados obtenidos. A la madurez fisiológica, se cosecharon 20 plantas de la microparcels (Zapata, 1990) y se secaron en un solarío hasta peso constante. Se trillaron las plantas mecánicamente para separar el vástago del grano, y ambas porciones se molieron hasta partículas de 1.0 mm. Las muestras se sometieron a una digestión ácida para convertir el N proteico en sales de amonio y posteriormente, en N molecular para obtener el por ciento de ^{15}N átomos en exceso en vástago y grano de trigo por espectrometría de masas, que se realizó en el CINVESTAV, unidad Irapuato, Guanajuato. La eficiencia de absorción de ^{15}N , se calculó mediante la fórmula recomendada por Zapata (1990):

$$\text{Nddf} = \frac{\% \text{ de átomos de } ^{15}\text{N} \text{ en exceso en la planta}}{\% \text{ de átomos de } ^{15}\text{N} \text{ en exceso en el fertilizante} - 0.36} \times 100$$

Nddf = Nitrógeno en la planta derivado del fertilizante.
0.36 = Abundancia natural de ^{15}N .

Cuadro 3.5. Tratamientos para evaluar la eficiencia de asimilación de ^{15}N en el trigo inoculado con *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp. y fertilizado con una dosis de N y dos de P en campo.

Tratamiento	Inoculación ^a	Fertilización ^b	
		N+ ¹⁵ N (kgN ha ⁻¹)	P (kg ha ⁻¹)
1 (c.r.)	0	120	80
2	G1	60	40
3	G2	60	80
4	P.p + G1	60	40
5	P.p + G2	60	80
6	P.p + G1 + G2	60	80
7	P.p + G1 + G2	60	40

c.r., control relativo. ^a P.p, *Pseudomonas putida*; G1, *Glomus* sp. aislado de *Reseda luteola*; G2, *Glomus* sp. aislado de *Eruca sativa*. ^b N, aplicado como urea; P, aplicado como superfosfato triple.

Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Se estableció el experimento bajo un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de los tratamientos y cuatro repeticiones; cuatro niveles de N, tres niveles de P y tres categorías de inoculación (sin inocular, inoculado con *P. putida* + G1 o *P. putida* + G2). Esto resultó en un total de 144 parcelas o unidades experimentales. Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANVA), un análisis de correlación lineal y una comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($P < 0.01$).

El modelo estadístico utilizado para esta investigación se ajusta a la fórmula:

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

donde:

Y_{ij} = Valor observado.

μ = Efecto de la media general.

A_i = Efecto del i-ésimo nivel de inoculación.

β_j = Efecto del j-ésimo nivel de nitrógeno.

C_k = Efecto del k-ésimo nivel de fósforo.

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

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

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

$(ABC)_{ijk}$ = Interacción del i-ésimo nivel de inoculación por el j-ésimo nivel de nitrógeno por el k-ésimo nivel de fósforo.

Σ_{ijkl} = Efecto del error experimental.

Se realizó el análisis de correlación entre los niveles de fertilización nitrogenada y fosforada y las variables evaluadas en el trigo (porcentaje de N y P total, peso seco y rendimiento) en diferentes categorías (sin inocular y coinoculado con *P. putida*+G1 y *P. putida*+G2). El modelo aplicado se muestra a continuación. Se estimó la significancia de los valores obtenidos con base en la tabla de valores significativos de r (Steel y Torrie, 1985):

$$r = \frac{\sum xy - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}}{\sqrt{\left(\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}\right) \left(\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n}\right)}}$$

donde:

r = coeficiente de correlación

x = niveles de fertilización

y = variable evaluada

n = número de pares

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados corresponden a los dos experimentos que se realizaron, el de invernadero y el de campo.

Experimento de Invernadero

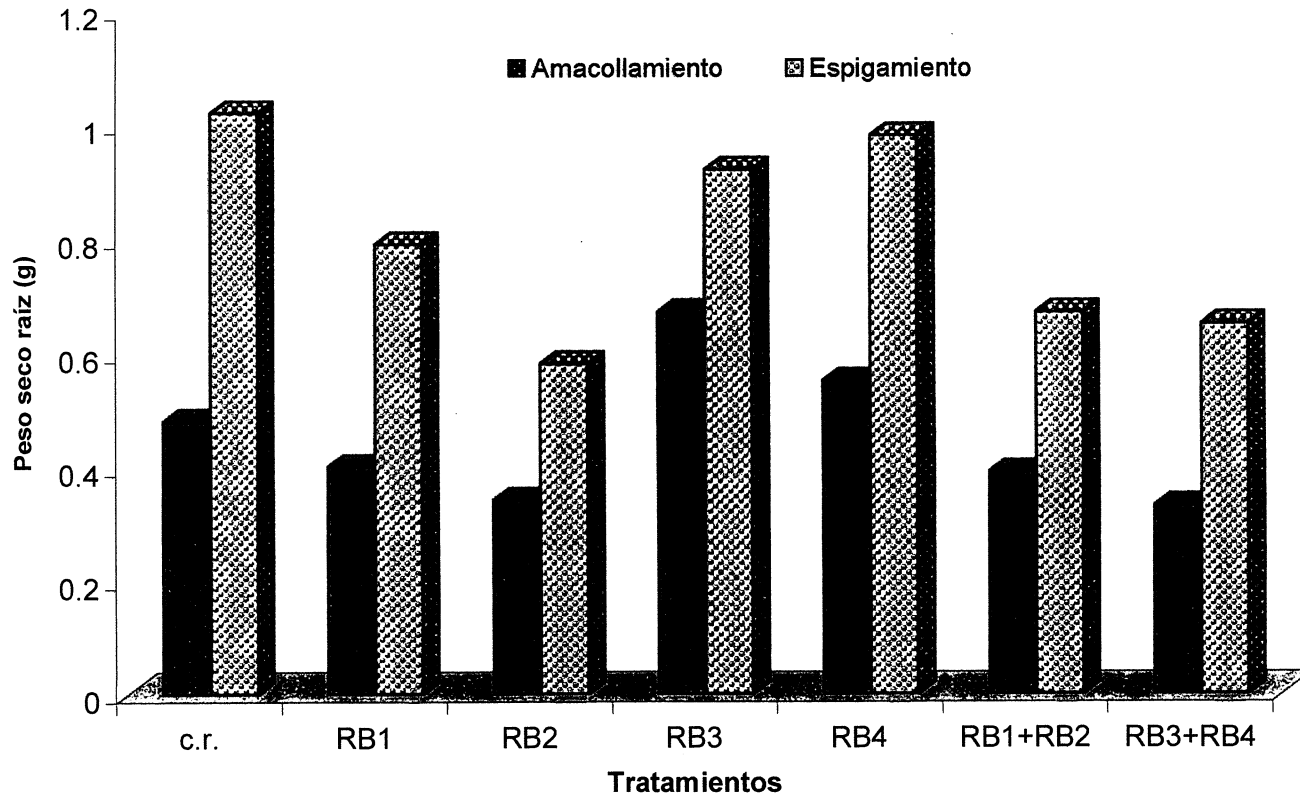
Aislamiento y Selección de Rizobacterias Benéficas para Trigo de Malezas

En el Cuadro 4.1 y la Figura 4.1 se muestran los resultados del efecto de la inoculación con rizobacterias (RB) aisladas de malezas, sobre el peso seco radical del trigo con 60 kgN ha⁻¹. En ellos, se observa que al

Cuadro 4.1. Comparación de medias de la respuesta peso seco de la raíz del trigo var. Pavón F-76, inoculado con rizobacterias en invernadero.

Tratamiento	Inoculación ^a	Peso seco (g) ^b	
		Amacollamiento	Espigamiento
1 (c.r.)	0	0.48 ± 0.12 b	1.02 ± 0.11 a
2	RB1	0.40 ± 0.09 b	0.79 ± 0.21 bc
3	RB2	0.34 ± 0.17 c	0.58 ± 0.16 c
4	RB3	0.67 ± 0.15 a	0.92 ± 0.31 ab
5	RB4	0.55 ± 0.03 ab	0.98 ± 0.26 a
6	RB1+RB2	0.39 ± 0.14 b	0.67 ± 0.08 bc
7	RB3+RB4	0.33 ± 0.09 c	0.65 ± 0.35 bc

c.r., control relativo (sin inocular y con 60 kgN ha⁻¹). ^a Aislados: RB1, de *Reseda luteola*; RB2, de *Asphodelus fistulosus*; RB3, de *Eruca sativa*; RB4, de *Aristida* spp. ^b Media y error estándar corresponden a tres repeticiones. Valores con la misma literal, son estadísticamente iguales (DMS P<0.05).



c.r., control relativo (sin inocular y con 60 kgN ha^{-1}); aislados: RB1. de *Reseda luteola*, RB2, de *Asphodelus fistulosus*, RB3, de *Eruca sativa* y RB4, de *Aristida* spp.

Figura 4.1. Efecto de la inoculación con rizobacterias aisladas de malezas sobre el peso seco de la raíz del trigo var. Pavón F-76, en invernadero.

amacollamiento, este peso aumentó; RB3 causó un incremento de 39.5 por ciento y RB4, de 14.5 por ciento, en comparación con el peso radical del trigo usado como control relativo (sin inocular y con el 60 kgN ha⁻¹). El incremento observado en el trigo inoculado, se atribuye a un aumento en la eficiencia de absorción radical por la transformación de exudados en fitohormonas. Estos resultados concuerdan con los reportados por Lippmann *et al.* (1995) quienes encontraron que, en invernadero, el incremento en la longitud y el número de raicillas laterales en plántulas de maíz inoculadas con *Pseudomonas* spp. se debe al ácido indolacético sintetizado por la bacteria. Sin embargo, al espigamiento, el peso radical del trigo inoculado fue estadísticamente igual o inferior al trigo usado como control relativo, posiblemente porque en esta etapa fenológica, se modifica la cantidad y tipo de exudados radicales y, en consecuencia, su posterior conversión en hormonas. Este resultado coincide con Breland y Baken (1991) quienes analizaron la liberación de exudados de raíces de centeno, pastizales y trébol y reportaron que las plantas en la fase juvenil, generan mayor cantidad de exudados que en la madurez, lo que, a su vez, estimula una mayor actividad bacteriana en la etapa juvenil.

El Cuadro 4.2 y la Figura 4.2 presentan el efecto de las rizobacterias sobre el peso seco del tallo del trigo. La RB4 aumentó el peso seco 34 por ciento, con respecto al peso del trigo control relativo, lo que indica un efecto regulatorio, probablemente derivado de su capacidad para transformar los exudados del trigo en fitohormonas (Schmidt *et al.*, 1993 y Brito *et al.*, 1995).

Cuadro 4.2. Comparación de medias de la respuesta peso seco del tallo del trigo var. Pavón F-76, inoculado con rizobacterias en invernadero.

Tratamiento	Inoculación	Peso seco (g)
1 (c.r.)	0	0.82 ± 0.13 ab
2	RB1	0.70 ± 0.25 abc
3	RB2	0.44 ± 0.08 bcd
4	RB3	0.42 ± 0.03 bcd
5	RB4	1.10 ± 0.32 a
6	RB1+RB2	0.31 ± 0.12 cd
7	RB3+RB4	0.23 ± 0.08 d

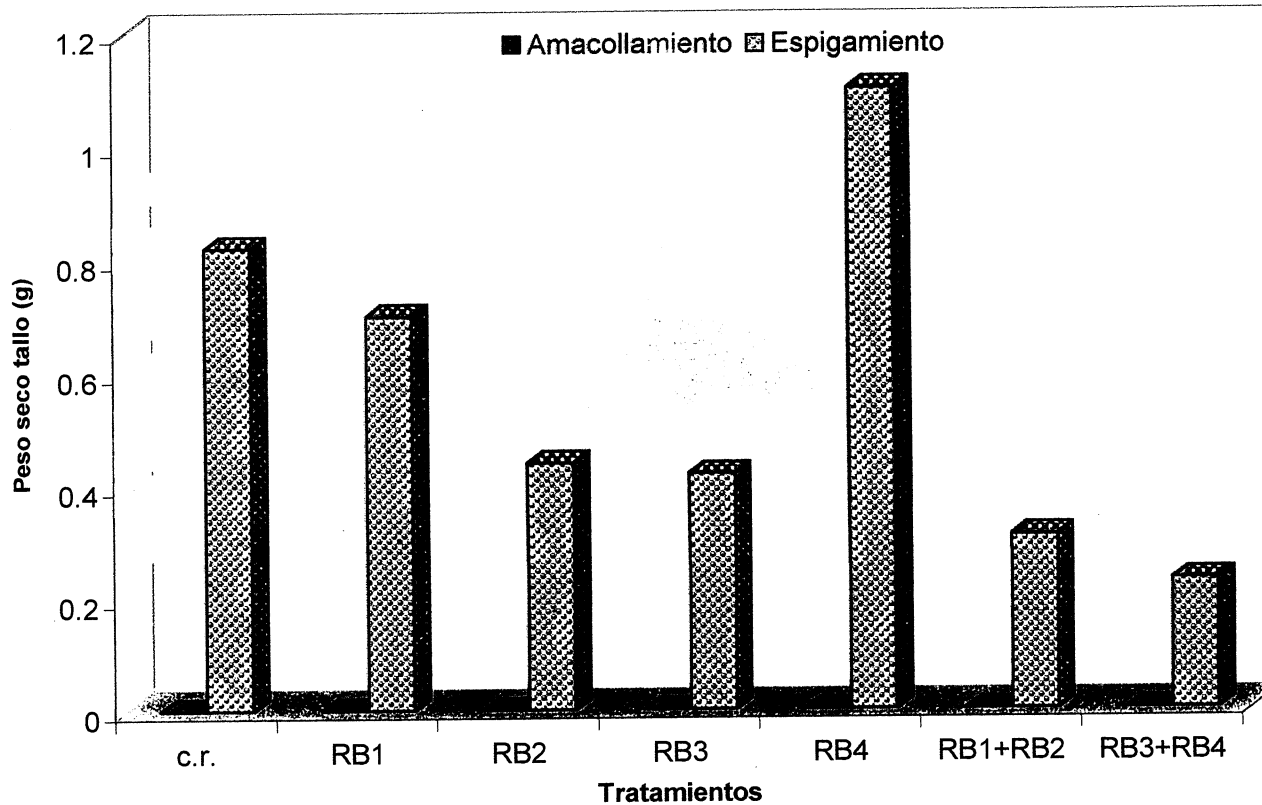
c.r., control relativo (sin inocular y con 60 kgN ha⁻¹). Aislados: RB1, de *Reseda luteola*; RB2, de *Asphodelus fistulosus*; RB3, de *Eruca sativa*; RB4, de *Aristida* spp. Media y error estándar corresponden a tres repeticiones. Valores con la misma literal, son estadísticamente iguales (DMS P<0.05).

En el Cuadro 4.3 y la Figura 4.3 se muestra el efecto de la inoculación de rizobacterias sobre el peso seco de la hoja del trigo. En ellos se observa que tanto al amacollamiento como al espigamiento, la RB4 estimuló mayor incremento en el peso seco que el medido en el trigo usado como control relativo, lo que indica que la bacteria aumentó la absorción de N.

Cuadro 4.3. Comparación de medias de la respuesta peso seco de la hoja del trigo var. Pavón F-76, inoculado con rizobacterias en invernadero.

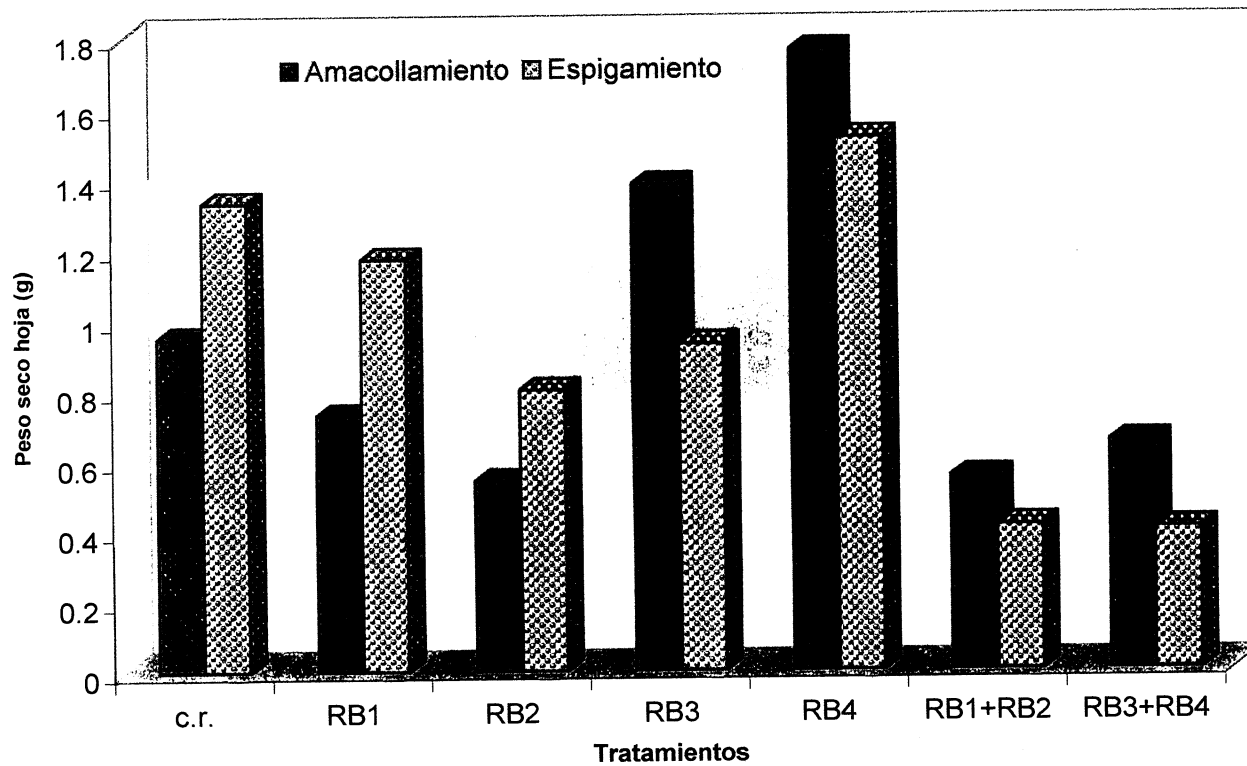
Tratamiento	Inoculación	Peso seco (g)	
		Amacollamiento	Espigamiento
1 (c.r.)	0	0.95 ± 0.18 abc	1.33 ± 0.03 ab
2	RB1	0.73 ± 0.14 bc	1.17 ± 0.07 ab
3	RB2	0.54 ± 0.26 c	0.80 ± 0.18 bc
4	RB3	1.38 ± 0.41 a	0.93 ± 0.49 ab
5	RB4	1.76 ± 0.35 ab	1.51 ± 0.33 a
6	RB1+RB2	0.55 ± 0.10 c	0.41 ± 0.09 c
7	RB3+RB4	0.65 ± 0.35 bc	0.40 ± 0.15 c

c.r., control relativo (sin inocular y con 60 kgN ha⁻¹). Aislados: RB1, de *Reseda luteola*; RB2, de *Asphodelus fistulosus*; RB3, de *Eruca sativa*; RB4, de *Aristida* spp. Media y error estándar corresponden a tres repeticiones. Valores con la misma literal, son estadísticamente iguales (DMS P<0.05).



c.r., control relativo (sin inocular y con 60 kgN ha^{-1}); aislados: RB1, de *Reseda luteola*, RB2, de *Asphodelus fistulosus*, RB3, de *Eruca sativa* y RB4, de *Aristida* spp.

Figura 4.2. Efecto de la inoculación con rizobacterias aisladas de malezas sobre el peso seco del tallo del trigo var. Pavón F-76, en invernadero.



c.r., control relativo (sin inocular y con 60 kgN ha⁻¹); aislados: RB1. de *Reseda luteola*, RB2, de *Asphodelus fistulosus*, RB3, de *Eruca sativa* y RB4, de *Aristida* spp.

Figura 4.3. Efecto de la inoculación con rizobacterias aisladas de malezas sobre el peso seco de la hoja del trigo var. Pavón F-76, en invernadero.

En el Cuadro 4.4 se muestra la relación entre el peso seco de la raíz y la hoja del trigo inoculado. En él se observa que el trigo inoculado con RB4, presentó la menor relación raíz/hoja pero la mayor relación hoja/peso seco total. Lo anterior confirma que la RB4 aumentó la capacidad de absorción radical del trigo y tuvo un efecto regulatorio sobre el desarrollo de su sistema foliar.

Cuadro 4.4. Relación entre el peso seco de la raíz y de la hoja del trigo var. Pavón F-76, inoculado con rizobacterias en invernadero al amacollamiento

Trata- miento	Inoculación ^a	Peso seco (g) ^b			Relación (%)		
		Raíz	Hoja	Total	Raíz/hoja	Raíz/total	Hoja/total
1 (c.r.)	0	0.48	0.95	1.43	50	33	66
2	RB1	0.40	0.73	1.13	55	35	65
3	RB2	0.34	0.54	0.88	63	39	61
4	RB3	0.67	1.38	2.05	48	33	67
5	RB4	0.55	1.76	2.31	31	24	76
6	RB1+RB2	0.39	0.55	0.94	71	41	58
7	RB3+RB4	0.33	0.65	0.98	51	34	66

c.r., control relativo (sin inocular y con 60 kgN ha⁻¹). ^a Aislados: RB1, de *Reseda luteola*; RB2, de *Asphodelus fistulosus*; RB3, de *Eruca sativa*; RB4, de *Aristida* spp. ^b Media corresponde a tres repeticiones.

En el Cuadro 4.5 y la Figura 4.4 se presenta un efecto positivo similar de la RB4 sobre peso seco de la espiga, en comparación con el peso del trigo usado como control relativo. El aumento de peso seco se supone fue debido al reconocimiento de los exudados radicales y su transformación en fitohormonas, lo cual mejoró la eficiencia de absorción radical y, posiblemente, la translocación del nitrógeno al tejido vegetal. Lo anterior se apoya en el hecho

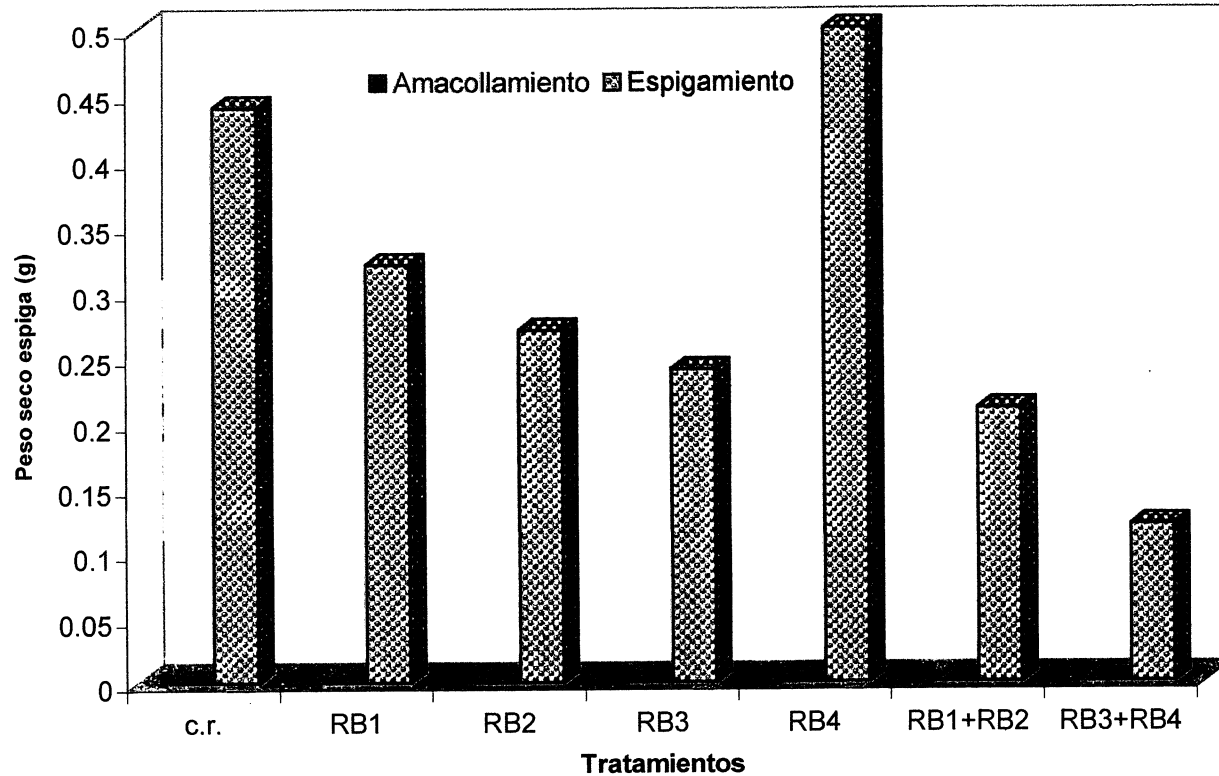
de que el trigo y *Aristida* spp. son gramíneas, por lo que parcialmente comparten un patrón de exudados radicales.

Cuadro 4.5. Comparación de medias de la respuesta peso seco de la espiga del trigo var. Pavón F-76 inoculado con rizobacterias en invernadero.

Tratamiento	Inoculación	Peso seco (g)
1 (c.r.)	0	0.44 ± 0.13 ab
2	RB1	0.32 ± 0.15 bc
3	RB2	0.27 ± 0.14 bc
4	RB3	0.24 ± 0.12 cd
5	RB4	0.50 ± 0.07 a
6	RB1+RB2	0.21 ± 0.16 cd
7	RB3+RB4	0.12 ± 0.12 d

c.r., control relativo (sin inocular y con 60 kgN ha⁻¹). Aislados: RB1, de *Feseda luteola*; RB2, de *Asphodelus fistulosus*; RB3, de *Eruca sativa*; RB4, de *Aristida* spp. Media y error estándar corresponden a tres repeticiones. Valores con la misma literal, son estadísticamente iguales (DMS P<0.05).

El trigo inoculado con las combinaciones de RB, tuvo un peso seco inferior de la hoja y la espiga, que el trigo usado como control relativo, lo que indica una competencia entre las RB por los exudados radicales, los minerales del suelo y/o la colonización de la raíz, lo que en consecuencia, disminuyó su acción benéfica sobre la planta, como reportaron otros autores en maíz y trigo inoculados con rizobacterias (García *et al.*, 1995 y Caracheo y Sánchez, 1996). Sin embargo, la competencia detectada entre las rizobacterias sirvió para seleccionar objetivamente el grupo benéfico para el trigo.



c.r., control relativo (sin inocular y con 60 kgN ha⁻¹); aislados: RB1. de *Reseda luteola*, RB2, de *Aphodelus fistulosus*, RB3, de *Eruca sativa* y RB4, de *Aristida* spp.

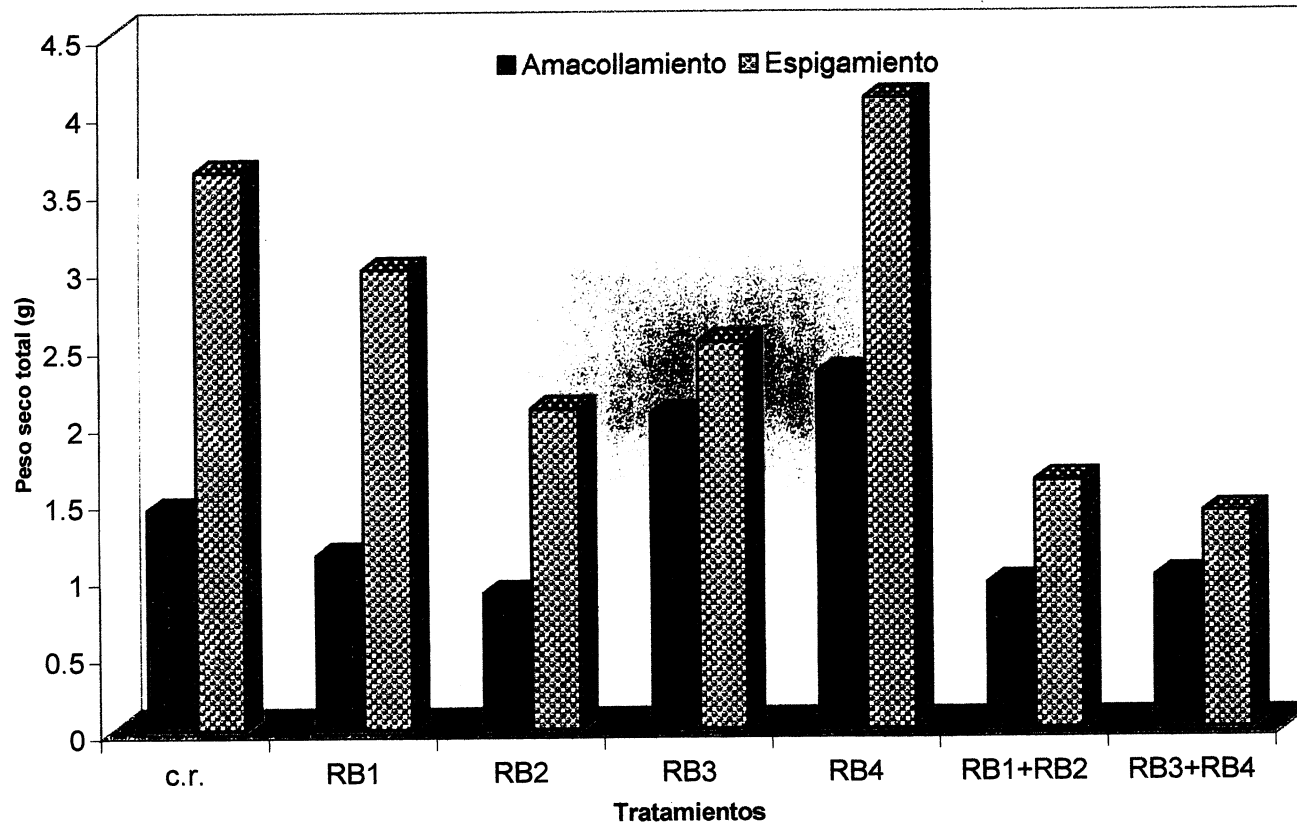
Figura 4.4. Efecto de la inoculación con rizobacterias aisladas de malezas sobre el peso seco de la espiga del trigo var. Pavón F-76, en invernadero.

El Cuadro 4.6 y la Figura 4.5 presentan el resultado del efecto de la inoculación del trigo sobre el peso seco total. Se reafirma el efecto positivo de la RB4, que causó un incremento de 61.5 por ciento en el peso seco total del trigo al amacollamiento y 13 por ciento al espigamiento, en comparación con el trigo utilizado como control relativo (Valdivia *et al.*, 1997). Este incremento del peso seco, se atribuye al reconocimiento de la RB4 de los exudados radicales que transforma en sustancias promotoras de crecimiento que mejoraran la eficiencia de absorción y translocación de N, como reportaron Rennie *et al.* (1993) al inocular trigo de primavera con rizobacterias. La RB4 fue aislada de *Aristida* spp, gramínea silvestre considerada una maleza, lo que apoya la teoría de que las malezas que tienen éxito para enfrentar condiciones adversas, son una fuente potencial de microorganismos benéficos para cultivos agrícolas.

Cuadro 4.6. Comparación de medias de la respuesta peso seco total del trigo var. Pavón F-76, inoculado con rizobacterias en invernadero.

Tratamiento	Inoculación	Peso seco (g)	
		Amacollamiento	Espigamiento
1 (c.r.)	0	1.43 ± 0.12 abc	3.61 ± 0.31 ab
2	RB1	1.13 ± 0.38 bc	2.98 ± 0.24 abc
3	RB2	0.88 ± 0.13 c	2.08 ± 0.51 cd
4	RB3	2.05 ± 0.47 ab	2.51 ± 0.14 bcd
5	RB4	2.31 ± 0.29 a	4.08 ± 0.19 a
6	RB1+RB2	0.94 ± 0.08 bc	1.61 ± 0.22 cd
7	RB3+RB4	0.98 ± 0.14 bc	1.40 ± 0.17 d

c.r., control relativo (sin inocular y con 60 kgN ha⁻¹). Aislados: RB1, de *Reseda luteola*; RB2, de *Asphodelus fistulosus*; RB3, de *Eruca sativa*; RB4, de *Aristida* spp. Media y error estándar corresponden a tres repeticiones. Valores con la misma literal, son estadísticamente iguales (DMS P<0.05).



c.r., control relativo (sin inocular y con 60 kgN ha^{-1}); aislados: RB1, de *Reseda luteola*, RB2, de *Asphodelus fistulosus*, RB3, de *Eruca sativa* y RB4, de *Aristida* spp.

Figura 4.5. Efecto de la inoculación con rizobacterias aisladas de malezas sobre el peso seco total del trigo var. Pavón F-76, en invernadero.

En el Cuadro 4.7 se presenta la relación entre el peso seco de la raíz y el vástago del trigo inoculado con rizobacterias el espigamiento. En él se observa que el trigo inoculado con RB4, obtuvo una relación raíz/vástago menor y vástago/total mayor que el trigo usado como control relativo, lo que pudiera deberse al desarrollo de un sistema radical altamente eficiente en la absorción de agua y N, que permitió un mayor crecimiento de la hoja, tallo y espiga.

Cuadro 4.7. Relación entre el peso seco de la raíz y del vástago del trigo var. Pavón F-76, inoculado con rizobacterias en invernadero, al espigamiento.

Trata- miento	Inoculación ^a	P e s o s e c o (g) ^b					Relación (%)		
		Raíz	Hoja	Tallo	Espiga	Total	Raíz/ vástago	Raíz/ total	Vástago/ total
1 (c.r.)	0	1.02	1.33	0.82	0.44	3.61	39	28	72
2	RB1	0.79	1.17	0.70	0.32	2.98	36	26	73
3	RB2	0.58	0.80	0.44	0.27	2.08	38	28	72
4	RB3	0.92	0.93	0.42	0.24	2.51	58	37	63
5	RB4	0.98	1.51	1.10	0.50	4.08	32	24	76
6	RB1+RB2	0.67	0.41	0.31	0.21	1.61	72	42	58
7	RB3+RB4	0.65	0.40	0.23	0.12	1.40	87	46	53

c.r., control relativo (sin inocular y con 60 kgN ha⁻¹). ^a Aislados: RB1, de *Reseda luteola*; RB2, de *Asphodelus fistulosus*; RB3, de *Eruca sativa*; RB4, de *Aristida* spp. ^b Media corresponde a tres repeticiones.

Los resultados muestran que en las malezas existen RB benéficas para plantas domésticas como el trigo, particularmente en aquellas que están genéticamente asociadas con esta planta, como *Aristida* spp., de donde se aisló RB4, que estimuló su crecimiento a dosis reducidas de N, como sucede en la naturaleza (Bashan, 1998). Una posible estrategia en la producción sustentable de trigo requiere de una reducción y, a la vez, un uso óptimo de la dosis nitrogenada, previa inoculación con microorganismos que respondan a la

condición de estrés nutricional del trigo, como sucede naturalmente (Sánchez *et al.*, 1997). La RB4, que posteriormente fue identificada como *Pseudomonas putida* se utilizó en los experimentos subsecuentes porque causó mayor efecto positivo sobre el crecimiento del trigo que las otras RB probadas (Valdivia *et al.*, 1999).

Efecto de la Coinoculación *Pseudomonas putida*/Glomus spp. sobre el Peso Seco de Trigo en Invernadero

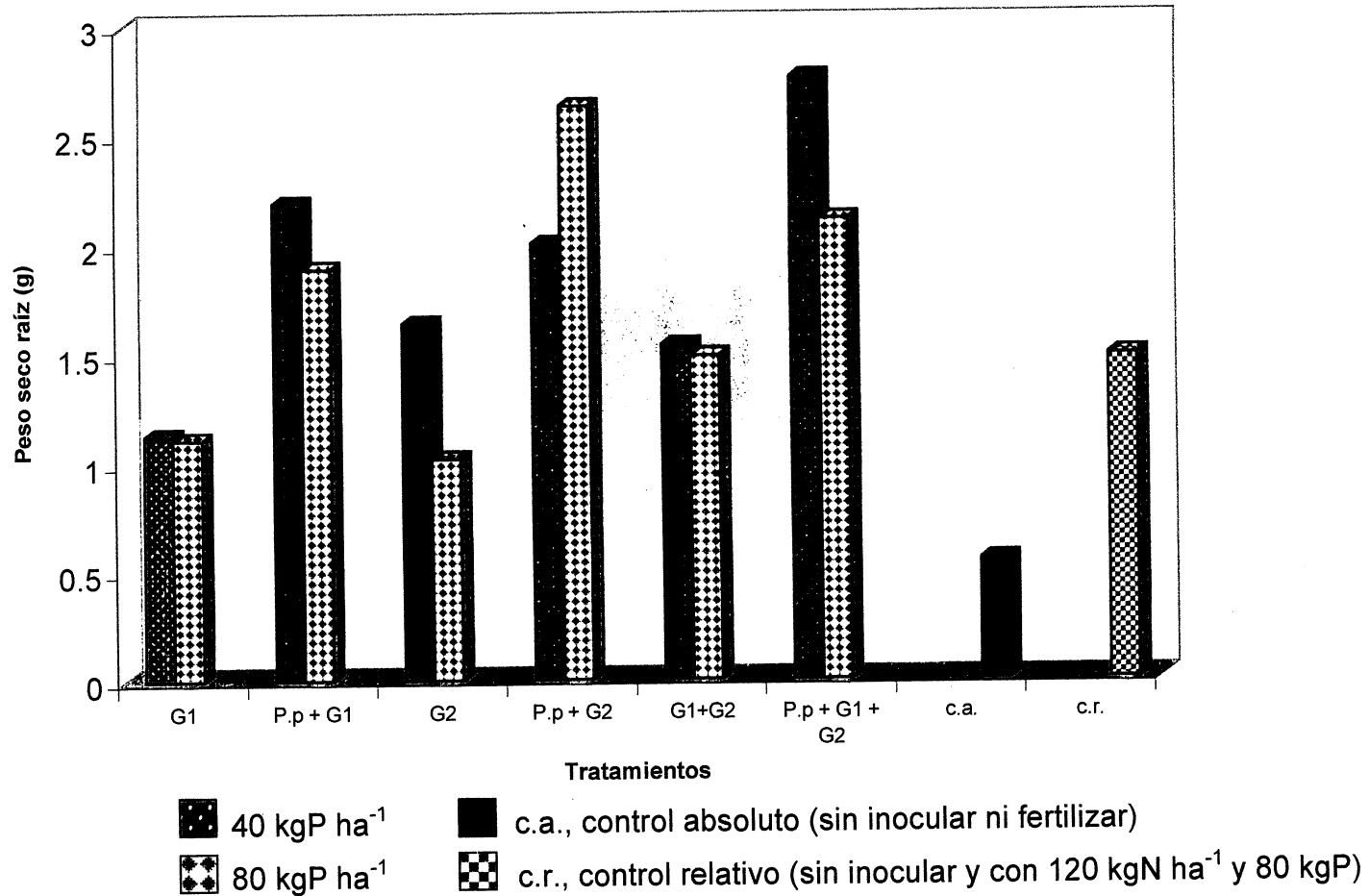
Peso Seco del Trigo Inoculado

El Cuadro 4.8 y la Figura 4.6 muestran el resultado de la inoculación individual y combinada de *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp. sobre el peso seco radical del trigo con 60 kgN ha⁻¹ y 40 y 80 kgP ha⁻¹. En ellos se observa

Cuadro 4.8. Comparación de medias de la respuesta peso seco de la raíz del trigo var. Pavón F-76 inoculado con *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp. a 60 kgN ha⁻¹ y dos dosis de P en invernadero.

Tratamiento	Inoculación ^a	kgP ha ⁻¹	Peso seco (g) ^b
1. (c.a.)	0	0	0.55 ± 0.14 d
2. (c.r.)	0	80	1.49 ± 0.43 bcd
3.	G1	40	1.17 ± 0.20 cd
4.	G1	80	1.11 ± 0.18 cd
5.	<i>P. putida</i> + G1	40	2.19 ± 0.55 abc
6.	<i>P. putida</i> + G1	80	1.89 ± 0.36 abc
7.	G2	40	1.64 ± 0.19 bcd
8.	G2	80	1.02 ± 0.22 cd
9.	<i>P. putida</i> + G2	40	2.00 ± 1.02 abc
10.	<i>P. putida</i> + G2	80	2.63 ± 0.14 a
11.	G1 + G2	40	1.54 ± 0.18 bcd
12.	G1 + G2	80	1.49 ± 0.43 bcd
13.	<i>P. putida</i> + G1 + G2	40	2.76 ± 0.27 a
14.	<i>P. putida</i> + G1 + G2	80	2.11 ± 0.64 abc

c.a., control absoluto (sin inocular ni fertilizar); c.r., control relativo (sin inocular y con 120 kgN ha⁻¹ y 80 kgP ha⁻¹). ^a Aislados: G1, *Glomus* spp. de *Reseda luteola*; G2, *Glomus* spp. de *Eruca sativa*. Media y error estándar corresponden a tres repeticiones. ^b Valores con la misma literal, son estadísticamente iguales (Tukey, P<0.01).



Aislados: G1, *Glomus* de *Reseda luteola*; G2, *Glomus* de *Eruca sativa*. P.p, *Pseudomonas putida*.

Figura 4.6. Efecto de la inoculación con *Pseudomonas putida* y *Glomus spp.* sobre el peso seco de la raíz del trigo var. Pavón F-76, con 60 kgN ha⁻¹ y dos dosis de P, en invernadero.

que *Glomus*, aislado de *Reseda luteola* (G1) y *Glomus*, aislado de *Eruca sativa* (G2) o la combinación de ambos, con 40 kgP ha⁻¹, causaron un incremento del peso seco radical del trigo equivalente al trigo utilizado como control relativo (sin inocular y con 120 kgN ha⁻¹ y 80 kgP ha⁻¹), lo que indica que ambas especies mejoraron la absorción radical de N y P, como reportaron Schweiger *et al.* (1995) quienes observaron que en campo, los pastizales con *Glomus* spp. y dosis bajas de fertilizante N y P, tienen mayor absorción de N, P y Zn que aquéllos con *Glomus* spp. y altos niveles de estos fertilizantes. Cuando se usó la combinación *P. putida* y *Glomus* spp., y 40 kgP ha⁻¹, el incremento en el peso radical fue más evidente. Esto supone que el efecto benéfico de la coinoculación fue dependiente de la especificidad entre los microorganismos y la raíz. Ello explica por qué las plantas inoculadas con *P. putida*+G1, con 40 kgP ha⁻¹ incrementaron su peso seco 47 por ciento, comparado con el trigo usado como control relativo, mientras que con *P. putida*+G2, el incremento fue de 34 por ciento y con *P. putida*+G1+G2, 85 por ciento. Esto sugiere que *P. putida* hace susceptible a las raíces a la infección de *Glomus* spp. y, en consecuencia, se incrementó la absorción radical de N y P, como reportaron Chanway *et al.* (1991) al estudiar, en campo, las interrelaciones entre los microorganismos de la rizosfera. Estos autores encontraron que algunas cepas de *Pseudomonas* estimulan la infección de la raíz por el hongo VAM y, en consecuencia, incrementan la absorción radical de minerales, como N, P y Cu.

El trigo coinoculado con *P. putida*+*Glomus* spp a 60 kgN ha⁻¹ y 80 kgP ha⁻¹ alcanzó, en general, un peso seco radical igual o inferior al trigo coinoculado y con 60 kgN ha⁻¹ y 40 kgP ha⁻¹. Esta respuesta del trigo a la coinoculación, sugiere que con 60 kgN ha⁻¹ y 80 kgP ha⁻¹, se modifica la producción de exudados radicales, que la bacteria posteriormente utiliza para la síntesis de hormonas. Al respecto, Ferrera y Pérez (1994) reportaron que, al incrementar las dosis de P en plantas inoculadas con VAM, disminuye la infección de *Glomus*, lo que a la vez, reduce la eficiencia de absorción de P y el peso seco vegetal.

Es evidente que la combinación *P. putida*+G2, a 60 kgN ha⁻¹ y 80 kgP ha⁻¹, fue más eficiente en la absorción de N y P que *P.putida*+G1. El trigo con *P.putida*+G1, igualó el peso seco del trigo control relativo, mientras que el coinoculado con *P.putida*+G2, alcanzó un peso significativamente superior ($P<0.05$) al mismo control. Esta diferencia podría atribuirse a que, por ser la fuente de VAM malezas diferentes, se trata de dos especies de *Glomus*.

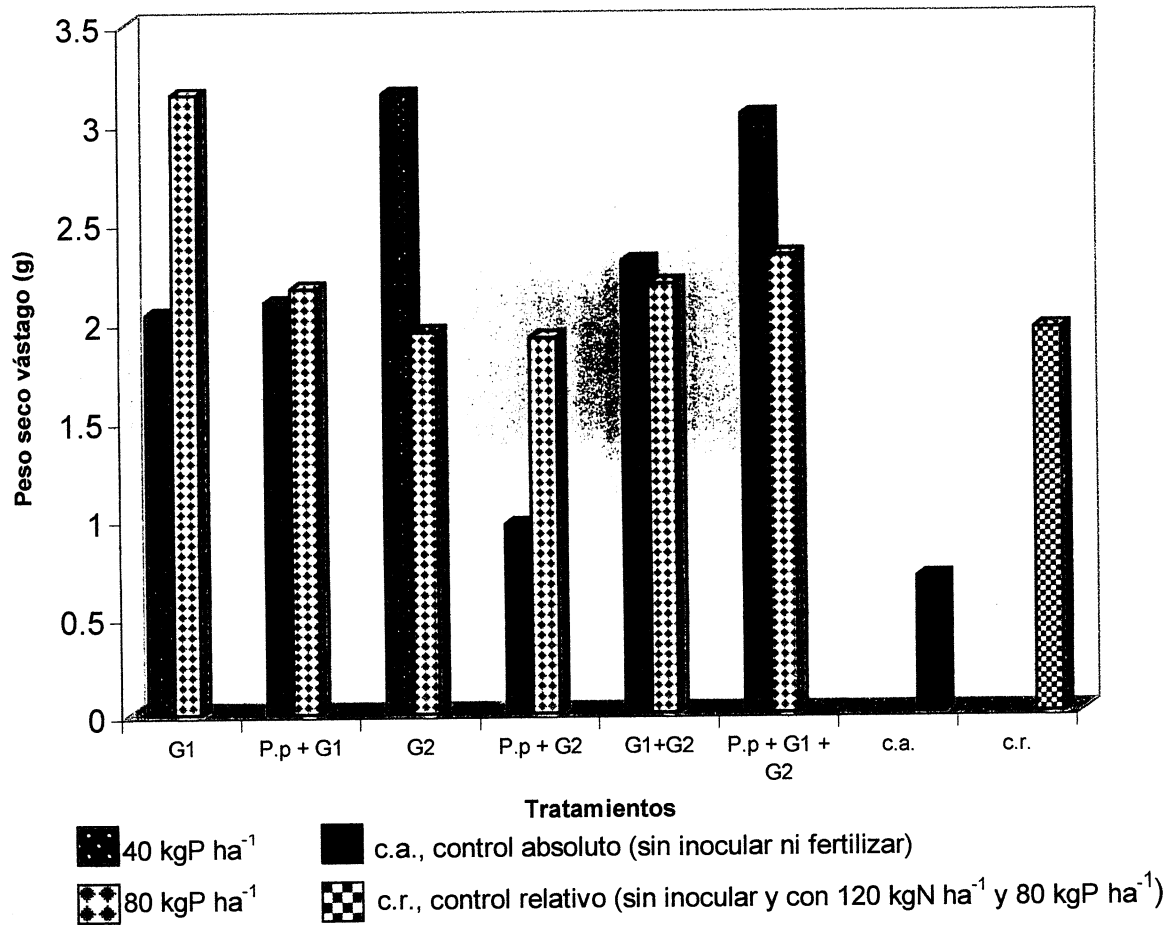
En el Cuadro 4.9 y la Figura 4.7 se presentan los resultados de la inoculación sobre el peso seco del vástago de trigo. En ellos se observa que, el trigo con G2 o con *P. putida*+G1+G2, ambos con 60 kgN ha⁻¹ y 40 kgP ha⁻¹, alcanzó un peso seco 55 por ciento superior al trigo usado como control relativo, debido a un incremento en la eficiencia de absorción radical y translocación de N y P. Sin embargo, con 80 kgP ha⁻¹, se redujo el efecto benéfico de la inoculación, pues sólo las plantas con G1 alcanzaron un peso

superior al trigo control relativo. La relación entre los microorganismos y los diferentes niveles de P, refuerza lo observado en el peso radical del trigo, ya que las dosis altas de P modifican el estado fisiológico de la planta y alteran la producción de exudados radicales, lo cual afecta negativamente la simbiosis microorganismo-raíz e impide una absorción eficiente de N y P. Lo anterior concuerda con Knight *et al.* (1989) quienes analizaron el efecto de las VAM sobre el crecimiento de trigo a diferentes niveles de P en invernadero y encontraron que las altas concentraciones de este elemento reducen la infección y colonización de la raíz por las VAM, así como la longitud y actividad de las hifas.

Cuadro 4.9. Comparación de medias de la respuesta peso seco del vástago del trigo var. Pavón F-76 inoculado con *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp., a 60 kgN ha⁻¹ y dos dosis de P en invernadero.

Tratamiento	Inoculación	kgP ha ⁻¹	Peso seco (g)
1. (c.a.)	0	0	0.69 ± 0.27 d
2. (c.r.)	0	80	1.95 ± 0.33 abc
3.	G1	40	2.03 ± 0.48 abc
4.	G1	80	3.14 ± 1.04 a
5.	<i>P. putida</i> + G1	40	2.09 ± 1.12 abc
6.	<i>P. putida</i> + G1	80	2.16 ± 0.87 ab
7.	G2	40	3.14 ± 0.91 a
8.	G2	80	1.94 ± 0.71 bcd
9.	<i>P. putida</i> + G2	40	0.96 ± 0.15 cd
10.	<i>P. putida</i> + G2	80	1.91 ± 0.52 bcd
11.	G1 + G2	40	2.29 ± 1.08 ab
12.	G1 + G2	80	2.18 ± 0.19 ab
13.	<i>P. putida</i> + G1 + G2	40	3.03 ± 0.99 a
14.	<i>P. putida</i> + G1 + G2	80	2.32 ± 0.54 ab

c.a., control absoluto (sin inocular ni fertilizar); c.r., control relativo (sin inocular y con 120 kgN ha⁻¹ y 80 kgP ha⁻¹). Aislados: G1, *Glomus* spp. de *Reseda luteola*; G2, *Glomus* spp. de *Eruca sativa*. Media y error estándar corresponden a tres repeticiones. Valores con la misma literal, son estadísticamente iguales (Tukey, P<0.01).



Aislados: G1, *Glomus* de *Reseda luteola*; G2, *Glomus* de *Eruca sativa*. P.p, *Pseudomonas putida*.

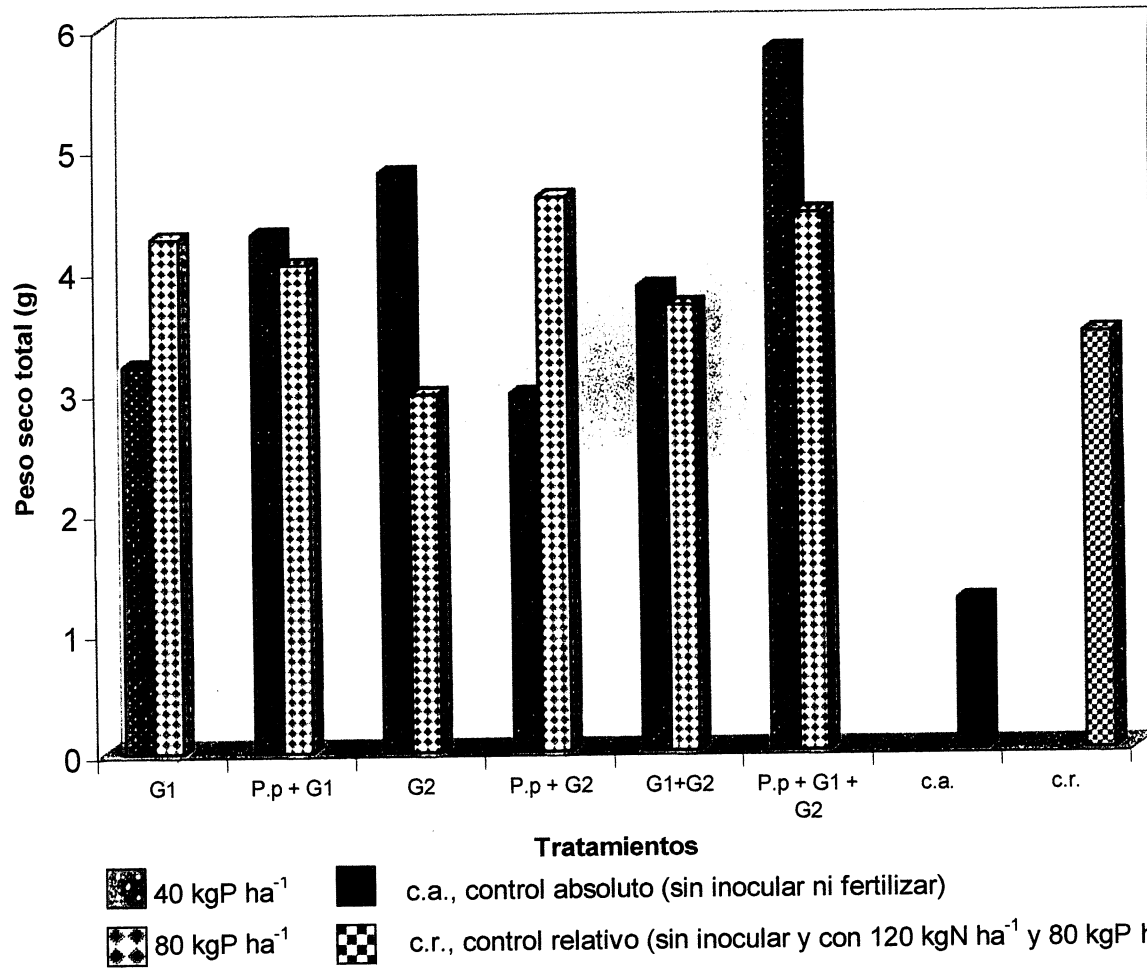
Figura 4.7. Efecto de la inoculación con *Pseudomonas putida* y *Glomus spp.* sobre el peso seco del vástago del trigo var. Pavón F-76, con 60 kgN ha⁻¹ y dos dosis de P en invernadero.

En el Cuadro 4.10 y la Figura 4.8 se observa que la combinación *P. putida*+G1+G2, incrementó 68.3 por ciento el peso seco total del trigo a 60 kgN ha⁻¹ y 40 kgP ha⁻¹, en comparación con trigo usado como control relativo. Esto sugiere una producción de hormonas por *P. putida*, como respuesta a los exudados radicales que, simultáneo a las modificaciones en la raíz originadas por *Glomus*, como el incremento en el área de exploración, aumentaron la absorción radical de N y P. Está documentado que *P. putida*, produce diversas sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, como auxinas (Prikryl *et al.*, 1985), citocininas (Nieto y Frankenberger, 1989) y etileno (Pazout *et al.*, 1981) que influyen positivamente en el desarrollo vegetal. Las auxinas, promueven la formación de raíces laterales y adventicias y la elongación de los tallos.

Cuadro 4.10. Comparación de medias de la respuesta peso seco total del trigo var. Pavón F-76 inoculado con *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp., a 60 kgN ha⁻¹ y dos dosis de P en invernadero.

Tratamiento	Inoculación	kgP ha ⁻¹	Peso seco (g)
1. (c.a.)	0	0	1.23 ± 0.50 d
2. (c.r.)	0	80	3.44 ± 1.12 cd
3.	G1	40	3.20 ± 1.03 cd
4.	G1	80	4.25 ± 0.93 bc
5.	<i>P. putida</i> + G1	40	4.28 ± 0.85 bc
6.	<i>P. putida</i> + G1	80	4.03 ± 0.71 bc
7.	G2	40	4.78 ± 1.16 bc
8.	G2	80	2.96 ± 1.07 cd
9.	<i>P. putida</i> + G2	40	2.96 ± 0.45 cd
10.	<i>P. putida</i> + G2	80	4.57 ± 0.89 bc
11.	G1 + G2	40	3.83 ± 1.48 bc
12.	G1 + G2	80	3.68 ± 0.74 bc
13.	<i>P. putida</i> + G1 + G2	40	5.79 ± 0.88 b
14.	<i>P. putida</i> + G1 + G2	80	4.44 ± 1.07 bc

c.a., control absoluto (sin inocular ni fertilizar); c.r., control relativo (sin inocular y con 120 kgN ha⁻¹ y 80 kgP ha⁻¹). Aislados: G1, *Glomus* spp. de *Reseda luteola*; G2, *Glomus* spp. de *Eruca sativa*. Media y error estándar corresponden a tres repeticiones. Valores con la misma literal, son estadísticamente iguales (Tukey, P<0.01).



Aislados: G1, *Glomus* de *Reseda luteola*; G2, *Glomus* de *Eruca sativa*. P.p, *Pseudomonas putida*.

Figura 4.8. Efecto de la inoculación con *Pseudomonas putida* y *Glomus spp.* sobre el peso seco total del trigo var. Pavón F-76, con 60 kgN ha⁻¹ y dos dosis de P en invernadero.

Las citocininas estimulan el movimiento de nutrimentos hacia dentro y fuera de las células y aceleran la formación de proteínas involucradas en la fotosíntesis, mientras que el etileno, induce la formación de raíces, hojas y tallos (Taiz y Zeiger, 1991). Asimismo, las VAM benefician a las plantas, debido a que extienden el área de exploración de la raíz y facilitan la absorción de N y P (Guzmán y Ferrera, 1990). La aplicación de 80 kgP ha^{-1} , no incrementó significativamente el peso seco total del trigo inoculado, en comparación con el trigo usado como control relativo, lo que sugiere que, al aumentar la concentración de P, se redujo la actividad hormonal, el crecimiento radical y la absorción de P y, en consecuencia, el crecimiento de trigo no fue proporcional al incremento de la dosis del fertilizante P.

En el Cuadro 4.11 se muestra la relación entre el peso seco de la raíz y del vástago del trigo inoculado. En él se observa que el trigo inoculado con G1, y con 80 kgP ha^{-1} , alcanzó la relación raíz/vástago menor que todos los tratamientos pero, la proporción vástago/total fue la mayor, lo que indica mayor eficiencia de absorción del sistema radical y mayor promoción del crecimiento del vástago, debido a que G1 aumentó el área de exploración de la raíz del trigo e incrementó la absorción de agua y N y P. El peso seco del trigo con G2, y 40 kgP ha^{-1} , fue ligeramente mayor que con G1 y 80 kgP ha^{-1} (Cuadro 4.10), aunque la relación raíz/vástago fue menor, lo que podría interpretarse como que el incremento del peso seco total se debió a G2 y el incremento en la eficiencia de absorción radical a G1.

Cuadro 4.11. Relación entre el peso seco de la raíz y el vástago del trigo var. Pavón F-76 inoculado con *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp., a 60 kgN ha⁻¹ y dos dosis de P en invernadero.

Trata- miento	Inoculación ^a	kgP ha ⁻¹	Peso seco (g) ^b			Relación (%)		
			Raíz	Vástago	Total	Raíz/ vástago	Raíz/ total	Vástago/ total
1. (c.a.)	0	0	0.55	0.69	1.23	80	44	56
2. (c.r.)	0	80	1.49	1.95	3.44	76	43	57
3.	G1	40	1.17	2.03	3.20	85	36	63
4.	G1	80	1.11	3.14	4.25	35	26	74
5.	<i>P. putida</i> + G1	40	2.19	2.09	4.28	105	51	49
6.	<i>P. putida</i> + G1	80	1.89	2.16	4.03	87	47	53
7.	G2	40	1.64	3.14	4.78	52	34	66
8.	G2	80	1.02	1.94	2.96	52	34	65
9.	<i>P. putida</i> + G2	40	2.00	0.96	2.96	208	67	32
10.	<i>P. putida</i> + G2	80	2.63	1.91	4.57	138	57	42
11.	G1 + G2	40	1.54	2.29	3.83	67	40	60
12.	G1 + G2	80	1.49	2.18	3.68	68	40	59
13.	<i>P. putida</i> + G1 + G2	40	2.76	3.03	5.79	91	48	52
14.	<i>P. putida</i> + G1 + G2	80	2.11	2.32	4.44	91	47	52

c.a., control absoluto (sin inocular ni fertilizar); c.r., control relativo (sin inocular y con 120 kgN ha⁻¹ y 80 kgP ha⁻¹). ^a Aislados: G1, *Glomus* spp. de *Reseda luteola*; G2, *Glomus* spp. de *Eruca sativa*. ^b Media corresponde a tres repeticiones.

Porcentaje de Colonización VAM en la Raíz del Trigo Inoculado

En el Cuadro 4.12 se presenta el porcentaje de colonización VAM en la raíz del trigo inoculado. En él se observa que la colonización del trigo coinoculado con *P. putida*+*Glomus* spp., fue significativamente mayor ($P<0.01$) que en el trigo inoculado con G1, G2 o la combinación de ambos. El incremento en el porcentaje, se atribuye a que *P. putida* estimula la formación del apresorio a través del cual penetran las hifas a las células de la corteza radical para formar la colonia VAM (Kluchnikov y Kozhevnik, 1990). Las raíces del trigo

inoculado con *Glomus* o coinoculado con *P. putida*+*Glomus*, a 80 kgP ha⁻¹, resultaron con un porcentaje de colonización inferior a las plantas con 40 kgP ha⁻¹, lo que prueba el efecto inhibitorio del P sobre la colonización VAM. Este resultado coincide con lo reportado por Bethlenfalvai (1992) quien señala que los niveles altos de P modifican la producción de exudados radicales los cuales afectan negativamente la infección y colonización de los hongos VAM. El incremento en el porcentaje de colonización en el trigo con 40 kgP ha⁻¹, se reflejó en el peso seco total de la planta, debido a que las hifas VAM aumentan el área de exploración de la raíz y, en consecuencia, se incrementa la absorción radical de N y P.

Cuadro 4.12. Efecto de la inoculación con *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp. sobre el porcentaje de colonización *Glomus* en el trigo var. Pavón F-76, a 60 kgN⁻¹ y dos dosis de P en invernadero.

Tratamiento	Inoculación ^a	Fertilización		% de colonización ^b
		kgN ha ⁻¹	kgP ha ⁻¹	
1. (c.a.)	0	0	0	0.0 g
2. (c.r.)	0	120	80	0.0 g
3.	G1	60	40	54 ± 3.8 f
4.	G1	60	80	49 ± 5.1 ef
5.	G2	60	40	53 ± 4.0 ef
6.	G2	60	80	48 ± 2.7 f
7.	G1 + G2	60	40	64 ± 7.5 def
8.	G1 + G2	60	80	58 ± 8.0 def
9.	P. p + G1	60	40	91 ± 8.8 a
10.	P. p + G1	60	80	73 ± 5.3 bcd
11.	P. p + G2	60	40	85 ± 9.1 abc
12.	P. p + G2	60	80	71 ± 7.3 cde
13.	P. p + G1 + G2	60	40	89 ± 6.6 ab
14.	P. p + G1 + G2	60	80	73 ± 5.4 bcd

c.a., control absoluto; c.r., control relativo. ^a P.p, *Pseudomonas putida*; G1, *Glomus* aislado de *Reseda luteola*; G2, *Glomus* aislado de *Eruca sativa*. ^b Media y error estándar corresponden a tres repeticiones. Valores con la misma literal, son estadísticamente iguales (Tukey, P<0.01).

Experimento de Campo

Efecto de la Coinoculación *Pseudomonas putida*/*Glomus* spp. sobre la Absorción de Nitrógeno y Fósforo del Trigo y sobre el Rendimiento del Cultivo

Análisis Físico y Químico del Suelo

El Cuadro 3.3 presenta el análisis físico y químico del suelo previo a la siembra. El suelo es de textura migajón arcilloso, pH alcalino, calcáreo, mediano en el contenido de materia orgánica, N total y P aprovechable. El alto contenido de carbonatos explica el pH alcalino que, según Tisdale y Nelson (1991) favorece la formación de trifosfatos de calcio y reduce la absorción radical de P, limitando el crecimiento vegetal y el rendimiento del cultivo.

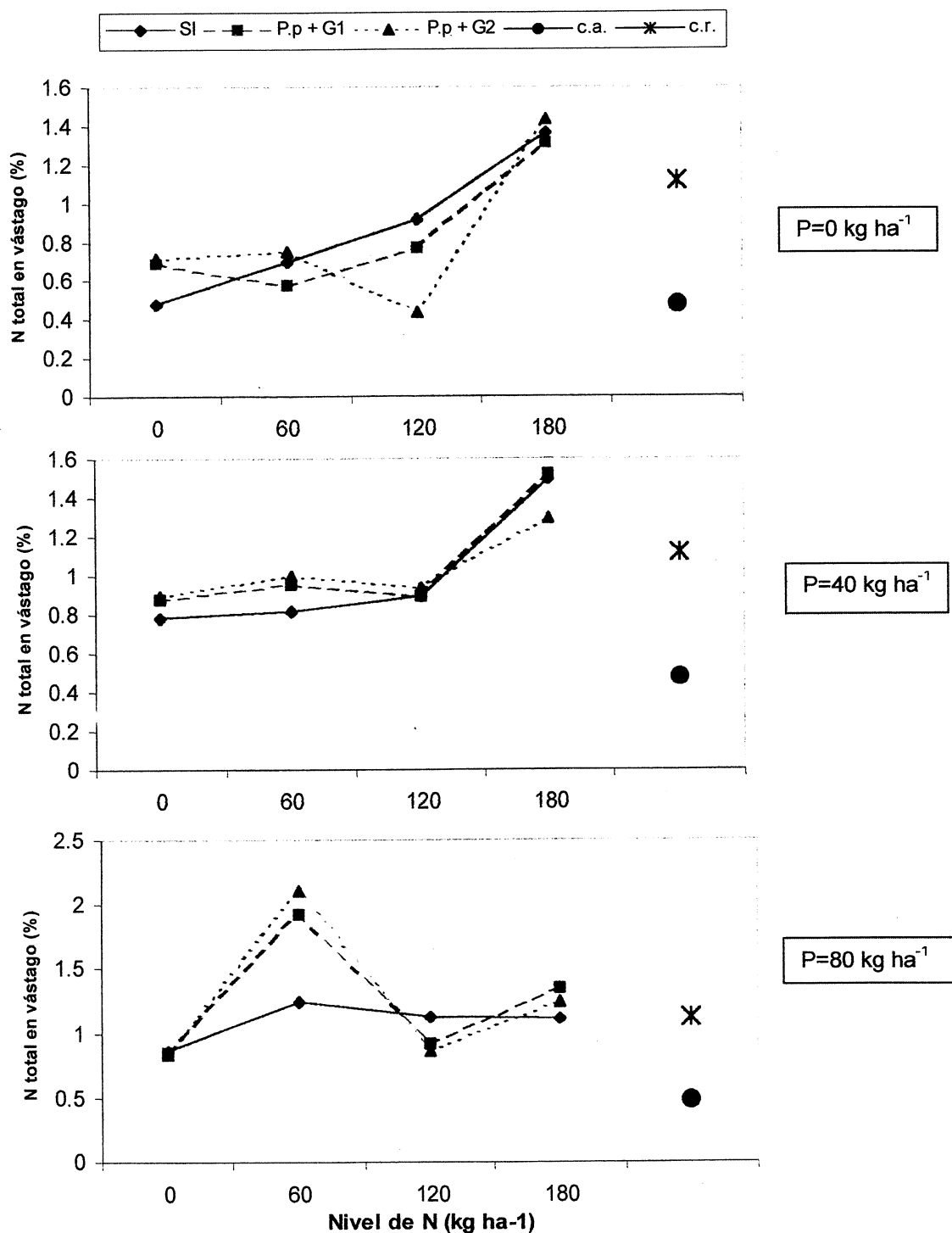
Contenido de Nitrógeno Total en Vástago

El Cuadro 4.13 y la Figura 4.9 muestran que en el trigo, la coinoculación y el esquema de fertilización causaron una respuesta que, al evaluarse estadísticamente, mostró diferencias significativas ($P < 0.01$) sobre la absorción de N en el vástago. El trigo coinoculado y sin N y P, alcanzó un nitrógeno total (Nt) 48.5 por ciento mayor que el trigo usado como control absoluto (sin inocular ni fertilizar). Esta respuesta del trigo, sugiere que *P. putida* mejoró la eficiencia de absorción radical del N del suelo, por un efecto hormonal que incrementó la superficie de absorción de la raíz. El incremento en la absorción de N, también puede atribuirse a la actividad de *Glomus* en la raíz, pues se ha reportado (Ames *et al.* 1983) que este género contribuye a la absorción radical de N, a través del transporte de arginina y glutamina, junto con los polifosfatos.

Cuadro 4.13. Comparación de medias de la respuesta contenido de nitrógeno total en el vástago de trigo var. Pavón F-76 coinoculado con *Pseudomonas putida*/*Glomus* spp. en campo.

Tratamiento	Inoculación ^a	Fertilización ^b		Nitrógeno total (%) ^c
		kgN ha ⁻¹	kgP ha ⁻¹	
1 (c.a.)	0	0	0	0.48 ± 0.16 lm
2	P. p + G1	0	0	0.69 ± 1.21 jkl
3	P. p + G2	0	0	0.72 ± 0.18 jkl
4	0	0	40	0.78 ± 0.11 ijk
5	P. p + G1	0	40	0.88 ± 0.04 fgh
6	P. p + G2	0	40	0.90 ± 0.13 fgh
7	0	0	80	0.87 ± 0.24 fgh
8	P. p + G1	0	80	0.85 ± 0.08 fgh
9	P. p + G2	0	80	0.84 ± 0.11 hij
10	0	60	0	0.70 ± 0.10 jkl
11	P. p + G1	60	0	0.58 ± 0.20 klm
12	P. p + G2	60	0	0.75 ± 0.13 ijk
13	0	60	40	0.82 ± 0.15 ijk
14	P. p + G1	60	40	0.96 ± 0.08 fgh
15	P. p + G2	60	40	1.00 ± 0.03 efg
16	0	60	80	1.25 ± 0.22 cde
17	P. p + G1	60	80	1.93 ± 0.05 a
18	P. p + G2	60	80	2.11 ± 0.09 a
19	0	120	0	0.92 ± 0.13 fgh
20	P. p + G1	120	0	0.77 ± 0.24 ijk
21	P. p + G2	120	0	0.44 ± 0.07 m
22	0	120	40	0.90 ± 0.14 fgh
23	P. p + G1	120	40	0.90 ± 0.08 fgh
24	P. p + G2	120	40	0.94 ± 0.13 fgh
25 (c.r.)	0	120	80	1.12 ± 0.04 def
26	P. p + G1	120	80	0.92 ± 0.07 fgh
27	P. p + G2	120	80	0.87 ± 0.12 fgh
28	0	180	0	1.36 ± 0.09 cd
29	P. p + G1	180	0	1.31 ± 0.11 cd
30	P. p + G2	180	0	1.43 ± 0.09 def
31	0	180	40	1.50 ± 0.15 c
32	P. p + G1	180	40	1.52 ± 0.56 c
33	P. p + G2	180	40	1.30 ± 0.08 cd
34	0	180	80	1.11 ± 0.05 def
35	P. p + G1	180	80	1.35 ± 0.07 cd
36	P. p + G2	180	80	1.25 ± 0.02 cde

c.a., control absoluto; c.r., control relativo. ^a P.p, *Pseudomonas putida*; G1, *Glomus* spp. aislado de *Reseda luteola*; G2, *Glomus* spp. aislado de *Eruca sativa*. ^b N aplicado como urea, dosis recomendada, 120 kgN ha⁻¹; P, aplicado como superfosfato triple, dosis recomendada, 80 kgP ha⁻¹. ^c Media y error estándar de cuatro repeticiones. Valores con la misma literal, son estadísticamente iguales (Tukey, P<0.01).



SI, sin inocular; P.p., *Pseudomonas putida*; G. *Glomus* spp.; c.a., control absoluto (sin inocular ni fertilizar; c.r., control relativo (sin inocular, y con 120 kgN ha⁻¹ y 80 kgP ha⁻¹).

Figura 4.9. Efecto de coinoculación *Pseudomonas putida* + *Glomus* spp. sobre el nitrógeno total en el vástago de trigo a diferentes niveles de N y P en campo.

En el trigo coinoculado y con 60 kgN ha^{-1} y 80 kgP ha^{-1} , se encontró mayor concentración de N en el vástago que en el trigo usado como control relativo (sin inocular y con 120 kgN ha^{-1} y 80 kgP ha^{-1}), aunque el incremento fue dependiente de la combinación microbiana: *P. putida*+G1, aumentó el Nt 72.3 por ciento y *P. putida*+G2, 88.4 por ciento. Esta respuesta del trigo, sugiere que la concentración de N y P del suelo, influye el estado fisiológico de la planta y modifica el patrón de producción de exudados radicales, que *P. putida* transforma en hormonas o que *Glomus* utiliza como fuente de carbohidratos. Sin embargo, cuando se aplicó 120 kgN ha^{-1} y cualquiera de los niveles de P, disminuyó el efecto de los inoculantes, que se manifestó en la reducción de Nt a valores inferiores al trigo usado como control relativo debido a que las interacciones raíz-microorganismo son reguladas por la concentración de elementos minerales esenciales, como el N y P, pues a medida que éstos aumentan, las interacciones se reducen.

El Cuadro 4.14 presenta los coeficientes de correlación entre los inoculantes y la fertilización N y P, con relación a las variables evaluadas en el vástago de trigo. En él, se observa una correlación significativa entre *P. putida*+G1 y la fertilización N y el Nt el trigo, lo que muestra que el incremento en el Nt está en relación directa a la acción de estos microorganismos. La correlación entre el Nt y la fertilización P, no fue significativa en el trigo coinoculado, lo que indica que la concentración de P del suelo puede inhibir el efecto benéfico de los inoculantes, ya que en el trigo sin inocular, la fertilización P mostró una correlación significativa con el Nt del vástago.

Cuadro 4.14. Correlación entre las variables evaluadas en el vástago del trigo var. Pavón F-76 coinoculado con *Pseudomonas putida*+*Glomus* spp., y la fertilización nitrogenada y fosforada en campo.

Inoculación ^a	Fertilización ^b	Coeficiente de correlación		
		Nitrógeno Total	Fósforo total	Peso seco
Sin inocular	N	.612 *	.597 *	.638 **
	P	.670 *	.083 NS	.750 **
P.p + G1	N	.696 **	.896 **	.753 **
	P	.476 NS	.601 *	.787 **
P.p + G2	N	.535 *	.210 NS	.068 NS
	P	.338 NS	.545 *	.585 *

^a P.p, *Pseudomonas putida*; Aislados: G1, *Glomus* de *Reseda luteola*, G2, *Glomus* de *Eruca sativa*. ^b Niveles de N = 0, 60, 120 y 180 kgN ha⁻¹; niveles de P = 0, 40 y 80 kgP ha⁻¹. NS = no significativo, * = significativo (P<0.05), ** altamente significativo (P<0.01).

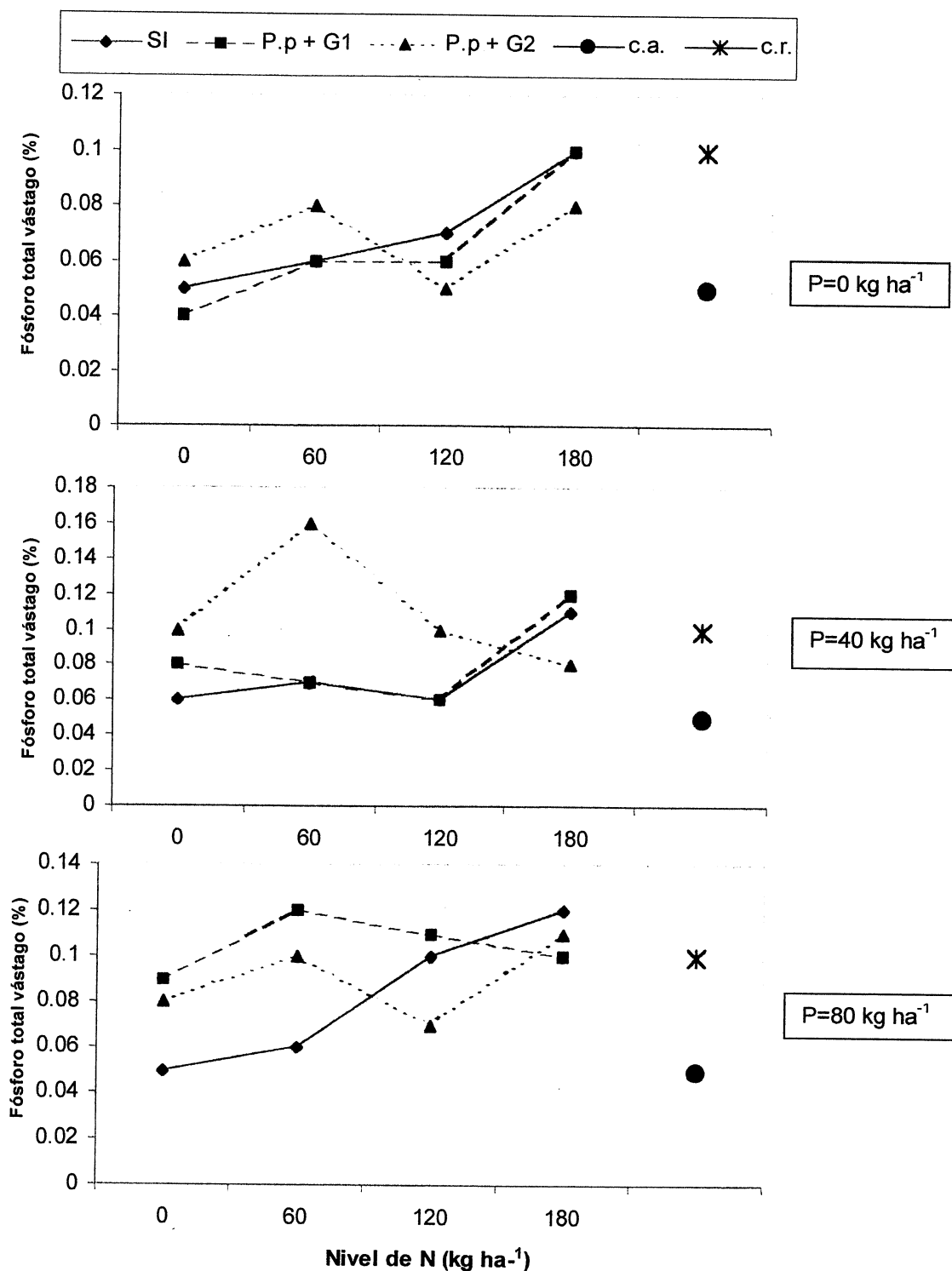
Contenido de Fósforo Total en Vástago

En el Cuadro 4.15 y la Figura 4.10 se muestra que la coinoculación aumentó la absorción de fósforo total (Pt) en el vástago de trigo. Con *P. putida*+G2, sin N ni P, el trigo asimiló una cantidad de Pt que estadísticamente igualó (P<0.01) al trigo usado como control relativo (sin inocular y con 120 kgN ha⁻¹ y 80 kgP ha⁻¹), lo que sugiere que *P. putida* solubilizó e incrementó la absorción radical del P del suelo. Lo anterior coincide con Alexander (1977) quien señala que algunas rizobacterias como *Pseudomonas*, producen ácidos orgánicos que, al acidificar el pH del suelo, convierten las formas insolubles de P en fosfatos di y monocálcicos, accesibles para las plantas. Los suelos alcalinos, retienen o precipitan hasta el 80 por ciento del P (Holford, 1997); por ello, la acción solubilizadora de *Pseudomonas* puede ayudar a aumentar la absorción radical de trigo.

Cuadro 4.15. Comparación de medias de la respuesta contenido de fósforo total en el vástago de trigo var. Pavón F-76 coinoculado con *Pseudomonas putida*/*Glomus* spp. en campo.

Tratamiento	Inoculación ^a	Fertilización ^b		Fósforo total (%) ^c
		kgN ha ⁻¹	kgP ha ⁻¹	
1 (c.a.)	0	0	0	0.05 + 0.01 cd
2	P. p + G1	0	0	0.04 + 0.00 d
3	P. p + G2	0	0	0.06 + 0.01 bcd
4	0	0	40	0.06 + 0.01 bcd
5	P. p + G1	0	40	0.08 + 0.00 bcd
6	P. p + G2	0	40	0.10 + 0.01 abc
7	0	0	80	0.05 + 0.00 cd
8	P. p + G1	0	80	0.09 + 0.01 abc
9	P. p + G2	0	80	0.08 + 0.00 bcd
10	0	60	0	0.06 + 0.01 bcd
11	P. p + G1	60	0	0.06 + 0.01 bcd
12	P. p + G2	60	0	0.08 + 0.01 bcd
13	0	60	40	0.08 + 0.02 bcd
14	P. p + G1	60	40	0.07 + 0.00 bcd
15	P. p + G2	60	40	0.16 + 0.02 a
16	0	60	80	0.06 + 0.01 bcd
17	P. p + G1	60	80	0.12 + 0.01 abc
18	P. p + G2	60	80	0.10 + 0.01 abc
19	0	120	0	0.07 + 0.02 bcd
20	P. p + G1	120	0	0.06 + 0.00 bcd
21	P. p + G2	120	0	0.05 + 0.00 d
22	0	120	40	0.06 + 0.00 bcd
23	P. p + G1	120	40	0.06 + 0.01 bcd
24	P. p + G2	120	40	0.10 + 0.01 abc
25 (c.r.)	0	120	80	0.10 + 0.01 abc
26	P. p + G1	120	80	0.11 + 0.00 abc
27	P. p + G2	130	80	0.07 + 0.01 bcd
28	0	180	0	0.10 + 0.00 abc
29	P. p + G1	180	0	0.10 + 0.00 abc
30	P. p + G2	180	0	0.08 + 0.00 bcd
31	0	180	40	0.11 + 0.01 abc
32	P. p + G1	180	40	0.12 + 0.01 abc
33	P. p + G2	180	40	0.08 + 0.01 abc
34	0	180	80	0.12 + 0.01 abc
35	P. p + G1	180	80	0.10 + 0.00 abc
36	P. p + G2	180	80	0.11 + 0.01 abc

Leyenda igual que en el Cuadro 4.13



SI, sin inocular; P.p., *Pseudomonas putida*; G. *Glomus* spp.; c.a., control absoluto (sin inocular ni fertilizar; c.r., control relativo (sin inocular, y con 120 kgN ha⁻¹ y 80 kgP ha⁻¹).

Figura 4.10. Efecto de coinoculación *Pseudomonas putida* + *Glomus* spp. sobre el fósforo total en el vástago de trigo a diferentes niveles de N y P en campo.

Glomus incrementó la absorción de P, posiblemente porque las hifas ampliaron el área de exploración radical de trigo. Fitter y Garbaye (1994) reportaron que si el N y P son limitantes, los exudados radicales producidos actúan como señales químicas que atraen a las rizobacterias que, a su vez, promueven la infección micorrízica, incrementando la exploración y absorción radical del P. La combinación *P. putida*+G2, con 60 kgN ha⁻¹ y 40 kgP ha⁻¹, causó un incremento de Pt en el vástago, 60 por ciento superior al observado en el trigo control relativo, lo que sugiere que la coinoculación, y la posterior aplicación de la dosis reducida de N y P, incrementaron la eficiencia de absorción radical de P. La aplicación de 80 kgP ha⁻¹, independientemente del nivel de N, afectó negativamente la asociación entre *P.putida* + G2, pues redujo el contenido de Pt en el vástago a un nivel inferior o igual al trigo usado como control relativo. Esta respuesta de la planta fue opuesta a la del trigo coinoculado con *P.putida*+G1, que causó una acumulación mayor de Pt al incrementar el nivel de fertilización P. La diferencia en la sensibilidad de *Glomus* spp. a las altas dosis de P, se atribuye a que provienen de diferentes fuentes; *Glomus* 1, fue aislado de *Reseda luteola* y, *Glomus* 2, de *Eruca sativa*.

El análisis de correlación entre el Pt del vástago y la fertilización N y P (Cuadro 4.14) muestra valores altamente significativos entre la fertilización N y el trigo coinoculado con *P. putida*+G1, lo que prueba que el incremento en el Pt del vástago se debió a la acción de estos microorganismos. Con respecto a la fertilización P, se observó una correlación significativa entre ésta y el trigo

coinoculado, lo que muestra el efecto benéfico de *P. putida* y *Glomus* spp. en el uso óptimo del fertilizante fosforado, con relación al contenido de Pt.

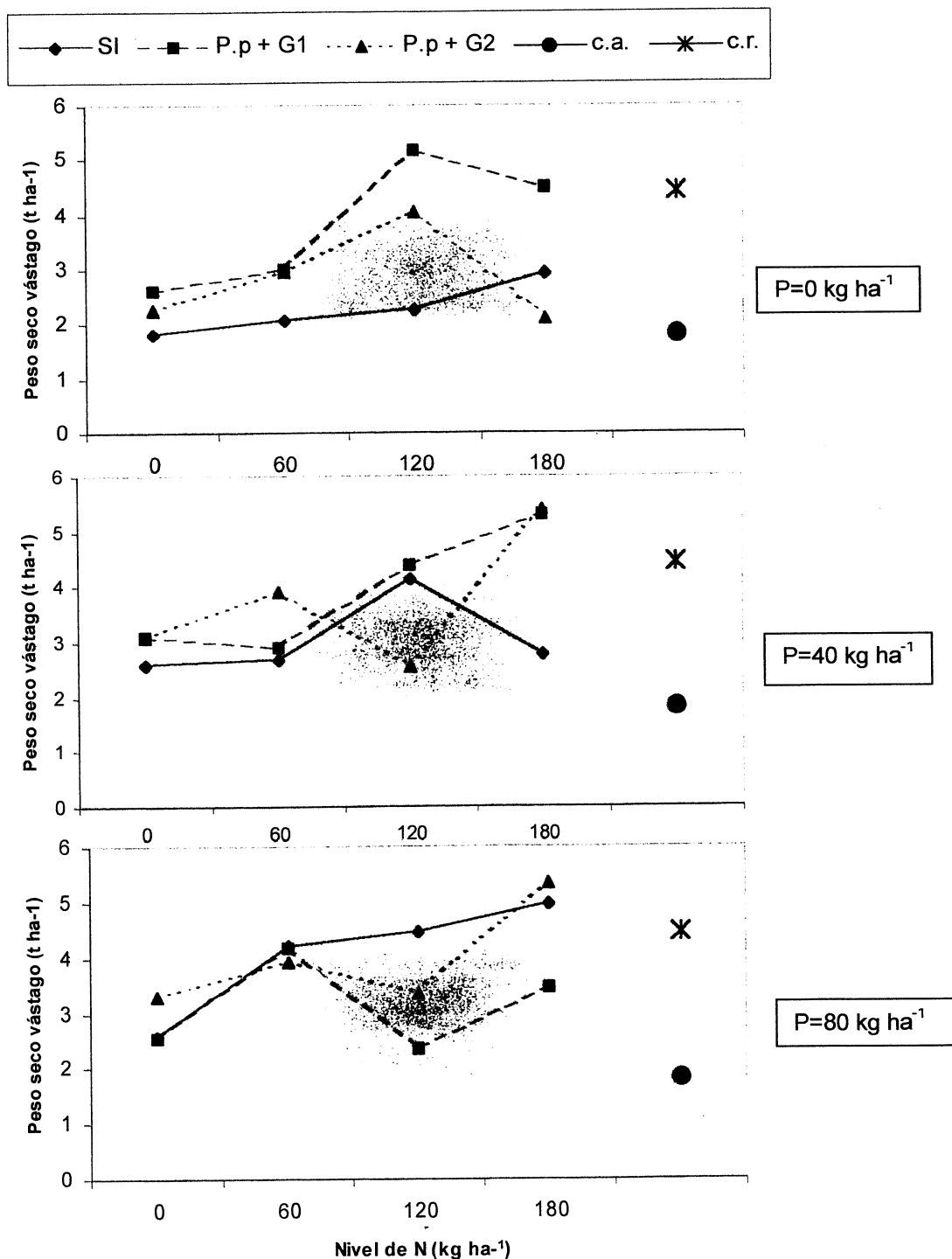
Peso Seco de Vástago

En el Cuadro 4.16 y la Figura 4.11 se muestra que en el trigo, la coinoculación y el esquema de fertilización N y P, causó una respuesta estadísticamente significativa ($P < 0.01$) en el peso seco del vástago. El trigo coinoculado y sin N ni P, alcanzó un peso seco mayor que el trigo usado como control absoluto (sin inocular y sin N ni P): la combinación *P. putida*+G1, causó un incremento de 42.6 por ciento, y *P. putida*+G2, 24 por ciento. El incremento de peso, sugiere que *P. putida*+*Glomus* spp., actuaron sinérgicamente, y con ello, incrementaron la absorción radical del N (Figura 4.9) y del P (Figura 4.10) del suelo. Lo anterior es posible ya que, como señalan Dukestra *et al.* (1987) las auxinas sintetizadas por *Pseudomonas* spp. aumentan el número y longitud de las raíces del trigo inoculado, incrementando significativamente la absorción radical de N y P y el peso seco del vástago, comparado con el trigo sin inocular. Asimismo, está documentado (Klyuchnikov y Kozhevin, 1990) que *Pseudomonas* incrementa la infección y colonización de la raíz por las VAM, debido a que las hormonas bacterianas estimulan la formación de las estructuras fúngicas involucrados en el establecimiento del hongo. La acción benéfica de *Glomus* sobre la absorción radical del trigo, se atribuye a que las hifas aumentan la superficie de exploración de la raíz, facilitando la absorción de agua y minerales como N, P, Ca, Mg, Zn y Cu (Guzmán y Ferrera, 1990).

Cuadro 4.16. Comparación de medias de la respuesta peso seco del vástago de trigo var. Pavón F-76 coinoculado con *Pseudomonas putida*/Glomus spp. en campo.

Tratamiento	Inoculación ^a	Fertilización ^b		Peso seco (g) ^c
		kgN ha ⁻¹	kgP ha ⁻¹	
1 (c.a.)	0	0	0	1.83 ± 0.03 jk
2	P. p + G1	0	0	2.61 ± 0.94 hij
3	P. p + G2	0	0	2.27 ± 0.76 ijk
4	0	0	40	2.58 ± 0.34 hij
5	P. p + G1	0	40	3.08 ± 0.24 efg
6	P. p + G2	0	40	3.08 ± 0.58 efg
7	0	0	80	2.59 ± 0.04 hij
8	P. p + G1	0	80	2.56 ± 0.30 hij
9	P. p + G2	0	80	3.30 ± 0.11 efg
10	0	60	0	2.09 ± 0.50 ijk
11	P. p + G1	60	0	3.01 ± 0.10 fgh
12	P. p + G2	60	0	2.97 ± 1.35 fgh
13	0	60	40	2.69 ± 0.75 fgh
14	P. p + G1	60	40	2.90 ± 1.03 ghi
15	P. p + G2	60	40	3.93 ± 0.09 def
16	0	60	80	4.21 ± 0.22 def
17	P. p + G1	60	80	4.19 ± 1.47 def
18	P. p + G2	60	80	3.92 ± 0.82 def
19	0	120	0	2.27 ± 0.82 ijk
20	P. p + G1	120	0	5.17 ± 0.06 bcd
21	P. p + G2	120	0	4.05 ± 0.37 def
22	0	120	40	4.15 ± 0.03 def
23	P. p + G1	120	40	4.40 ± 0.16 def
24	P. p + G2	120	40	2.57 ± 0.85 hij
25 (c.r.)	0	120	80	4.45 ± 0.76 de
26	P. p + G1	120	80	2.35 ± 0.03 ijk
27	P. p + G2	120	80	3.37 ± 0.04 efg
28	0	180	0	2.95 ± 0.04 fgh
29	P. p + G1	180	0	4.50 ± 0.74 cde
30	P. p + G2	180	0	2.11 ± 0.02 ijk
31	0	180	40	2.78 ± 0.09 ghi
32	P. p + G1	180	40	5.31 ± 0.75 bcd
33	P. p + G2	180	40	5.40 ± 1.11 bcd
34	0	180	80	4.95 ± 0.90 cde
35	P. p + G1	180	80	3.47 ± 0.59 efg
36	P. p + G2	180	80	5.33 ± 0.28 bcd

Leyenda igual que la del Cuadro 4.13.



SI, sin inocular; P.p., *Pseudomonas putida*; G. *Glomus* spp.; c.a., control absoluto (sin inocular ni fertilizar); c.r., control relativo (sin inocular, y con 120 kgN ha^{-1} y 80 kgP ha^{-1}).

Figura 4.11. Efecto de coinoculación *Pseudomonas putida* + *Glomus* spp. sobre el peso seco del vástago de trigo a diferentes niveles de N y P en campo.

El análisis de correlación (Cuadro 4.14) muestra una asociación altamente significativa entre el peso seco del vástago en el trigo sin inocular y en el coinoculado con *P. putida*+G1. Sin embargo, sólo en el trigo con esta combinación microbiana, se detectó una correlación altamente significativa con relación al Nt y Pt del vástago, lo que indica que el incremento en la concentración de N y P del vástago, está directamente relacionada con la acción de *P. putida*+G1.

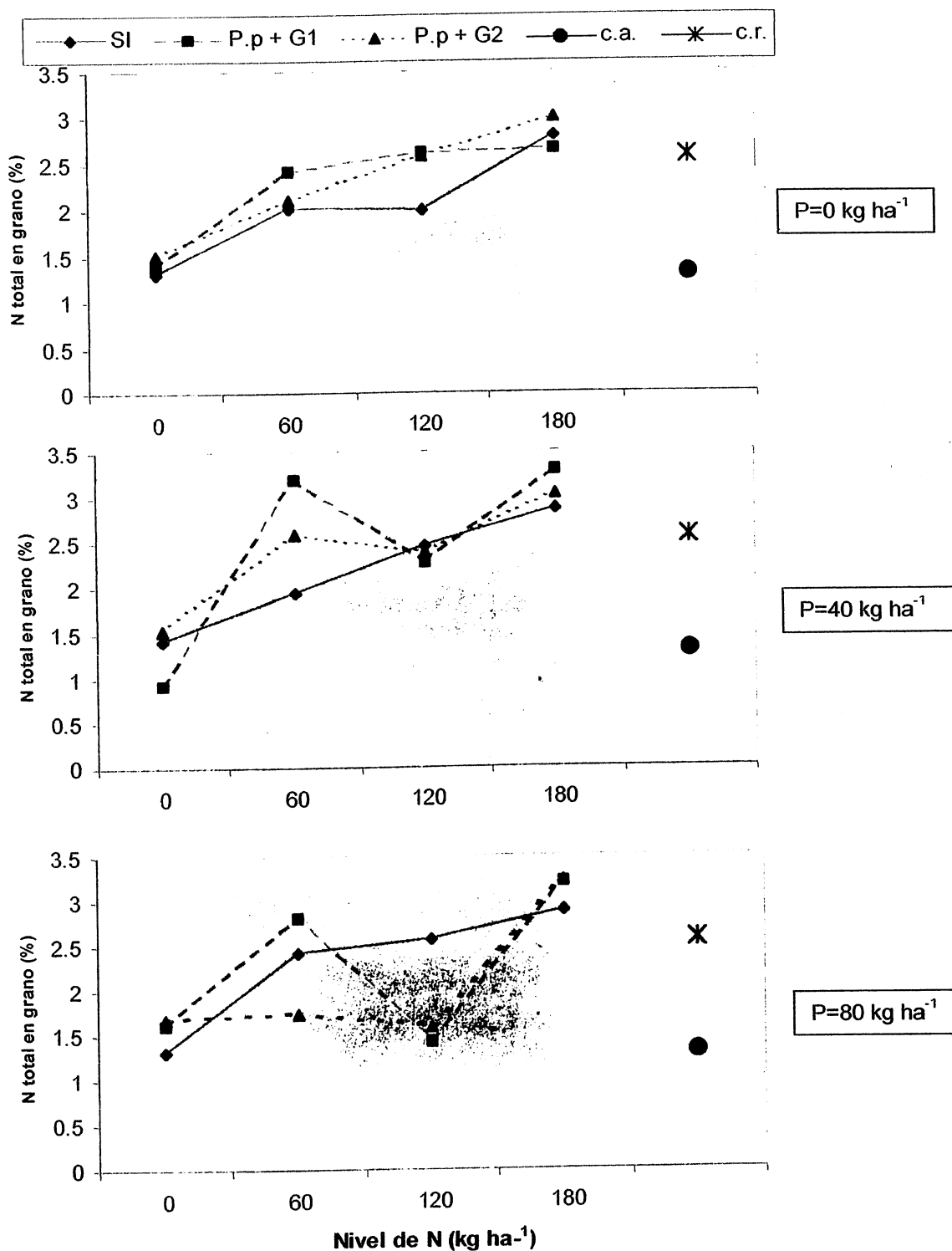
Contenido de Nitrógeno Total en Grano

En el Cuadro 4.17 y la Figura 4.12 se muestra que la coinoculación y los diferentes niveles de N y P, causaron un contenido de nitrógeno total (Nt) en el grano estadísticamente significativo ($P < 0.01$). *P. putida*+G1, con 60 kgN ha^{-1} , causó un Nt en el grano estadísticamente igual al trigo usado como control relativo pero, cuando se aplicó 60 kgN ha^{-1} y 40 kgP ha^{-1} , la absorción de N fue 24.4 por ciento superior al mismo trigo control. El incremento en la absorción de N, indica que *P. putida* posiblemente utilizó los exudados radicales para producir fitorreguladores que aumentaron la densidad de la raíz y, en consecuencia, aumentó la absorción radical y la translocación del N. Lo anterior concuerda con Barber y Martin (1976) quienes reportaron que en invernadero, las rizobacterias transforman las sustancias orgánicas, producidas por la raíz de trigo, maíz y centeno, en hormonas, que modifican la morfología radical, incrementando la absorción de agua y N.

Cuadro 4.17. Comparación de medias de la respuesta contenido de nitrógeno total en el grano de trigo var. Pavón F-76 coinoculado con *Pseudomonas putida*/*Glomus* spp. en campo.

Tratamiento	Inoculación ^a	Fertilización ^b		Nitrógeno total (%)
		kgN ha ⁻¹	kgP ha ⁻¹	
1 (c.a.)	0	0	0	1.31 ± 0.49 kl
2	P. p + G1	0	0	1.38 ± 0.26 kl
3	P. p + G2	0	0	1.51 ± 0.23 jkl
4	0	0	40	1.41 ± 0.16 kl
5	P. p + G1	0	40	0.92 ± 0.19 l
6	P. p + G2	0	40	1.53 ± 0.19 jkl
7	0	0	80	1.32 ± 0.25 kl
8	P. p + G1	0	80	1.61 ± 0.29 hij
9	P. p + G2	0	80	1.69 ± 0.30 hij
10	0	60	0	2.03 ± 0.58 fgh
11	P. p + G1	60	0	2.42 ± 0.14 cde
12	P. p + G2	60	0	2.12 ± 0.17 efg
13	0	60	40	1.95 ± 0.56 fgh
14	P. p + G1	60	40	3.21 ± 1.00 ab
15	P. p + G2	60	40	2.59 ± 0.29 abc
16	0	60	80	2.43 ± 0.25 efg
17	P. p + G1	60	80	2.82 ± 0.19 abc
18	P. p + G2	60	80	1.75 ± 0.36 ghi
19	0	120	0	2.01 ± 0.12 fgh
20	P. p + G1	120	0	2.62 ± 0.22 abc
21	P. p + G2	120	0	2.59 ± 0.75 abc
22	0	120	40	2.46 ± 0.84 bcd
23	P. p + G1	120	40	2.28 ± 0.96 def
24	P. p + G2	120	40	2.40 ± 0.25 cde
25 (c.r.)	0	120	80	2.58 ± 0.46 abc
26	P. p + G1	120	80	1.43 ± 0.54 jkl
27	P. p + G2	120	80	1.59 ± 0.51 ijk
28	0	180	0	2.81 ± 0.98 abc
29	P. p + G1	180	0	2.66 ± 0.11 abc
30	P. p + G2	180	0	3.01 ± 0.19 abc
31	0	180	40	2.88 ± 0.39 abc
32	P. p + G1	180	40	3.29 ± 0.17 ab
33	P. p + G2	180	40	3.04 ± 0.95 abc
34	0	180	80	2.89 ± 0.18 abc
35	P. p + G1	180	80	3.21 ± 0.11 ab
36	P. p + G2	180	80	3.23 ± 0.15 ab

Leyenda igual que la del Cuadro 4.13.



SI, sin inocular; P.p., *Pseudomonas putida*; G. *Glomus* spp.; c.a., control absoluto (sin inocular ni fertilizar); c.r., control relativo (sin inocular, y con 120 kg N ha^{-1} y 80 kg P ha^{-1}).

Figura 4.12. Efecto de coinoculación *Pseudomonas putida* + *Glomus* spp. sobre el nitrógeno total en el grano de trigo a diferentes niveles de N y P en campo.

El trigo coinoculado con *P.putida*+G2, y sin N ni P, alcanzó 15.3 por ciento más Nt que el trigo usado como control absoluto (sin inocular ni fertilizar), lo que confirma que esta combinación microbiana incrementó la absorción radical del N del suelo. Cuando el trigo se coinoculó con *P. putida*+G2, y se aplicó 60 kgN ha⁻¹ y 40 kgP ha⁻¹, alcanzó la misma cantidad de Nt en el grano que el trigo usado como control relativo, lo que indica que la concentración de N en el suelo influyó en la producción de exudados radicales del trigo, que *P. putida* transforma en fitohormonas que mejoran la eficiencia de absorción radical. Los cambios fisiológicos de la raíz aumentaron la sensibilidad y el área de contacto suelo-raíz y mejoraron la eficiencia de absorción radical y translocación del N. La combinación *P. putida*+G1 con 60 kgN ha⁻¹ y 40 kgP ha⁻¹, indujo un 24.4 por ciento más Nt en el grano que el Nt detectado en el grano del trigo usado como control relativo, mientras que con *P. putida*+G2, el Nt fue igual al trigo control relativo. Esta respuesta del trigo, indica que *Glomus* 1 y *Glomus* 2 son especies diferentes, ya que una mejoró más la absorción radical y translocación de N y P. Este efecto de *Glomus*, coincide con Clark y Zeto (1996) quienes reportaron que las especies de *Glomus* varían en su capacidad para incrementar la eficiencia de absorción radical, pues observaron que el maíz, en suelo pH 7.5 a 8.0, inoculado con *G. intraradices* y *G. etunicatum*, absorbió mayor cantidad de N, P, S, Ca, Mg, K y Na, que el maíz inoculado con *G. diphylum*.

La aplicación de 180 kgN ha⁻¹ al trigo sin inocular, no incrementó significativamente ($P < 0.01$) el Nt del grano, en comparación con el Nt del trigo usado como control relativo. Esto prueba que la dosis de N recomendada para la región, supera la necesidad real del trigo, por lo que el excedente que no se asimila, causa un continuo

deterioro del suelo y contaminación del ambiente, de acuerdo con las diferentes rutas de la dinámica de N, como lixiviación de NO_3^- o desnitrificación de N_2O o NH_4^+ (Marschner, 1995). La coinoculación no incrementó significativamente el Nt en el grano a este nivel de N, que posiblemente causó un estrés por exceso, y modificó el tipo de exudado que la planta utiliza para atraer los microorganismos que le benefician.

El Cuadro 4.18 presenta los coeficientes de correlación entre los inoculantes y la fertilización nitrogenada y fosforada, con relación a las variables evaluadas en el grano del trigo. En él se observa que hubo una correlación altamente significativa entre la fertilización N y el contenido de Nt en el grano cuando el trigo se coinoculó, lo que indica que el incremento en el Nt del grano, está en relación directa con la acción benéfica de *P. putida*+*Glomus* spp. Asimismo, no se detectó correlación entre el trigo sin inocular o coinoculado y la fertilización P con relación al Nt del grano, lo que prueba que la fertilización fosforada, no está relacionada con el contenido de Nt del grano.

Cuadro 4.18. Correlación entre las variables evaluadas en el grano del trigo var. Pavón F-76 coinoculado con *Pseudomonas putida*+*Glomus* spp., y la fertilización nitrogenada y fosforada en campo.

Inoculación ^a	Fertilización ^b	Coeficiente de correlación		
		Nitrógeno total	Fósforo total	Rendimiento
Sin inocular	N	.553 *	.055 NS	.601 *
	P	.331 NS	-.145 NS	.541 *
P.p + G1	N	.844 **	-.030 NS	.699 **
	P	.294 NS	.134 NS	.315 NS
P.p + G2	N	.960 **	.077 NS	.651 **
	P	.324 NS	.025 NS	.741 **

^a P.p, *Pseudomonas putida*; Aislados: G1, *Glomus* de *Reseda luteola*, G2, *Glomus* de *Eruca sativa*. ^b Niveles de N = 0, 60, 120 y 180 kgN ha⁻¹; niveles de P = 0, 40 y 80 kgP ha⁻¹. NS = no significativo, * = significativo (P<0.05), ** altamente significativo (P<0.01).

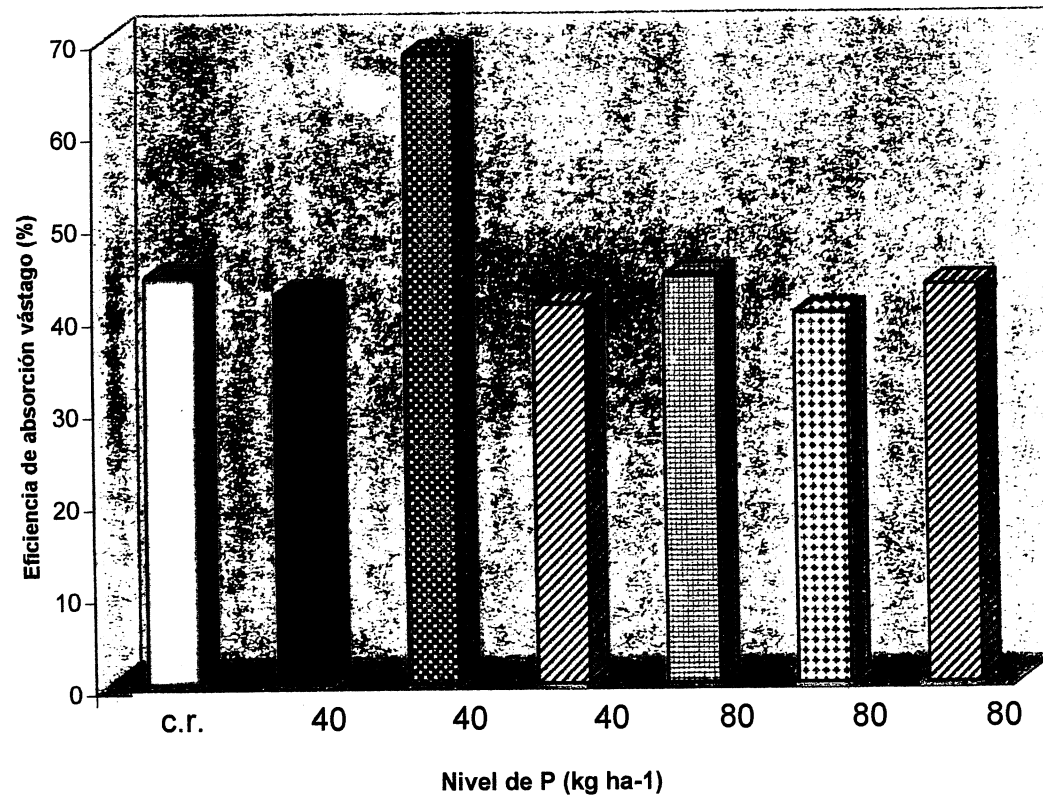
Eficiencia de Absorción Radical de ^{15}N

En el Cuadro 4.19 y la Figura 4.13 se presenta el resultado del efecto de la coinoculación sobre el destino del N en el trigo mediante el análisis isotópico empleado para demostrar la absorción radical de ^{15}N -urea. El trigo utilizado como control relativo (sin inocular y con 120 kgN ha⁻¹ y 80 kgP ha⁻¹), absorbió 44 por ciento de N, lo que coincide con lo reportado por Sanford y MacKown (1986) quienes encontraron que la eficiencia de absorción de N en diferentes genotipos de trigo, varía de 23 a 51 por ciento. Sin embargo, el trigo coinoculado con *P. putida*+G1, a 60 kgN ha⁻¹ y 40 kgP ha⁻¹, alcanzó una eficiencia de absorción 54.5 por ciento superior al trigo control relativo. Este resultado indica claramente que los microorganismos incrementaron la densidad radical de trigo y su actividad y, en consecuencia, la absorción radical de N fue más eficiente.

Cuadro 4.19. Efecto de la inoculación con *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp. sobre la eficiencia de absorción de ^{15}N en el vástago y grano del trigo var. Pavón F-76 en campo.

Tratamiento	Inoculación ^a	Fertilización (kg ha ⁻¹) ^b		Eficiencia de absorción (%)	
		N	P	Vástago	Grano
1. (c.r.)	0	120	80	44	38
2.	G1	60	40	42	40
3.	<i>P. putida</i> + G1	60	40	68	45
4.	<i>P. putida</i> + G1 + G2	60	40	41	41
5.	G2	60	80	44	40
6.	<i>P. putida</i> + G2	60	80	40	43
7.	<i>P. putida</i> + G1 + G2	60	80	43	40

c.r., control relativo. ^a G1, *Glomus* spp. aislado de *Reseda luteola*; G2, *Glomus* spp. aislado de *Eruca sativa*. ^b N, aplicado como urea, dosis recomendada, 120 kgN ha⁻¹; P, aplicado como superfosfato triple, dosis recomendada, 80 kgP ha⁻¹.



P.p. *Pseudomonas putida*; G, *Glomus* spp

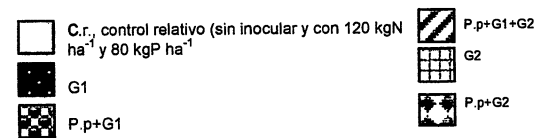
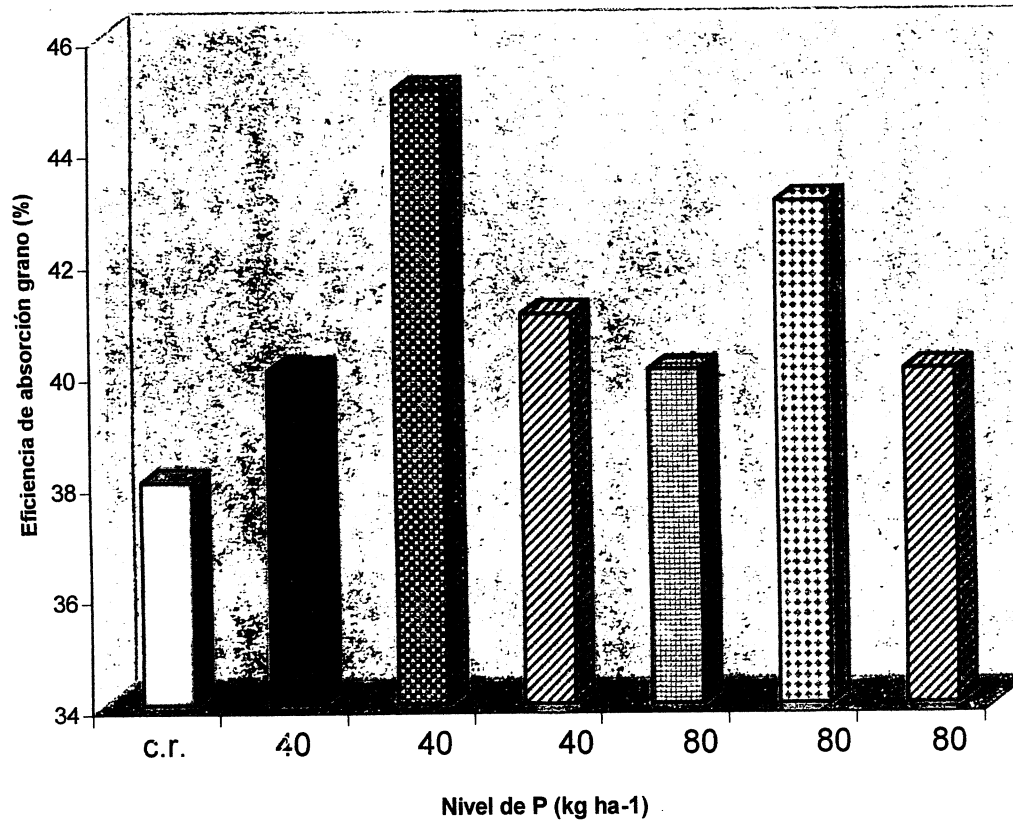


Figura 4.13. Efecto de la inoculación con *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp. sobre la eficiencia de absorción de ¹⁵N en el vástago del trigo a 60 kgN ha⁻¹ y dos niveles de P.

Rennie *et al.* (1994) señalan que la eficiencia de absorción radical de N depende de la distribución espacial de las raíces, que puede incrementarse por acción hormonal de bacterias benéficas o por VAM. Ambos procesos, se han comentado en otras partes del presente trabajo. Cuando el trigo se coinoculó con *P.putida*+G1+G2, disminuyó la eficiencia de absorción de N, probablemente por la competencia entre los microorganismos por los exudados radicales de trigo o por el N del suelo, lo cual redujo la actividad benéfica microbiana.

La Figura 4.14 muestra que, el trigo coinoculado y con 60 kgN ha⁻¹ y 40 y 80 kgP ha⁻¹, alcanzó mayor eficiencia de absorción y translocación de nitrógeno que el trigo utilizado como control relativo. Igual que en el caso del vástago de trigo, la combinación microbiana que más aumentó la absorción radical de N en grano, fue *P. putida*+G1. El efecto positivo de la coinoculación sobre la absorción radical de ¹⁵N, indica la necesidad de coinocular el trigo para ahorrar y optimizar la fertilización N. Esta estrategia, puede reducir el deterioro del suelo y la contaminación ambiental causados por los compuestos nitrogenados generados cuando el exceso de N se somete a diversas dinámicas naturales.



P.p. *Pseudomonas putida*; G, *Glomus* spp

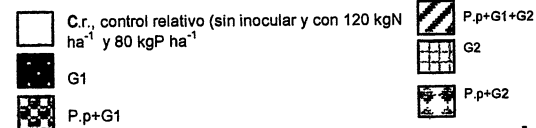


Figura 4.14. Efecto de la inoculación con *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp. sobre la eficiencia de absorción de ¹⁵N en el grano del trigo a 60 kgN ha⁻¹ y dos niveles de P.

Contenido de Fósforo Total en Grano

El Cuadro 4.20 y la Figura 4.15 muestra que las diferentes combinaciones de microorganismos y niveles de N y P, causaron una respuesta significativa ($P < 0.01$) sobre el contenido de fósforo total (Pt) en el grano del trigo. El trigo coinoculado, y sin N ni P, alcanzó, en promedio, 11.5 por ciento más P que el trigo usado como control absoluto (sin inocular y sin N ni P), lo que indica que *P. putida*+*Glomus* spp. incrementaron la solubilización, absorción radical y translocación del trigo del P en el suelo calcáreo (Valdivia et al., 1999). La actividad de *P. putida* sobre la absorción radical se sugiere de origen hormonal, lo que concuerda con lo reportado por Leinhos (1994) quien encontró que *Pseudomonas* spp. sintetiza auxinas que incrementan la densidad del sistema radical que, a su vez, aumenta el área de exploración de la raíz por el N y P. El contenido de N y P aprovechable del suelo también influye la síntesis de fitorreguladores de *P. putida*. Lo anterior concuerda con Chabot et al. (1996) quienes reportaron que el maíz inoculado con cepas de *Pseudomonas*, conocidas como solubilizadoras de P, y sembrado en suelo con bajos niveles de N y P aprovechable, absorbió más P que el maíz inoculado y sembrado en suelo con cantidades moderadas o altas de estos minerales, porque en presencia de suficiente N y P, *Pseudomonas* no sintetiza los fitorreguladores necesarios para incrementar el área de exploración del sistema radical. El suelo de la presente investigación, es pobre en N y P aprovechable (Cuadro 3.3), lo que explica el efecto positivo de *P. putida* sobre la absorción radical del P insoluble del suelo.

Cuadro 4.20. Comparación de medias de la respuesta contenido de fósforo total en el grano del trigo var. Pavón F-76 coinoculado con *Pseudomonas putida*/Glomus spp. en campo.

Tratamiento	Inoculación ^a	Fertilización ^b		Fósforo total (%) ^c
		kgN ha ⁻¹	kgP ha ⁻¹	
1 (c.a.)	0	0	0	0.13 + 0.03 c
2	P. p + G1	0	0	0.15 + 0.02 bc
3	P. p + G2	0	0	0.14 + 0.07 c
4	0	0	40	0.15 + 0.08 bc
5	P. p + G1	0	40	0.15 + 0.09 bc
6	P. p + G2	0	40	0.14 + 0.13 c
7	0	0	80	0.16 + 0.10 bc
8	P. p + G1	0	80	0.15 + 0.09 bc
9	P. p + G2	0	80	0.16 + 0.08 bc
10	0	60	0	0.14 + 0.05 c
11	P. p + G1	60	0	0.21 + 0.11 ab
12	P. p + G2	60	0	0.22 + 0.09 ab
13	0	60	40	0.14 + 0.10 c
14	P. p + G1	60	40	0.18 + 0.12 bc
15	P. p + G2	60	40	0.18 + 0.08 bc
16	0	60	80	0.15 + 0.13 bc
17	P. p + G1	60	80	0.16 + 0.05 bc
18	P. p + G2	60	80	0.15 + 0.18 bc
19	0	120	0	0.15 + 0.00 bc
20	P. p + G1	120	0	0.17 + 0.11 bc
21	P. p + G2	120	0	0.17 + 0.09 bc
22	0	120	40	0.17 + 0.00 bc
23	P. p + G1	120	40	0.16 + 0.07 bc
24	P. p + G2	120	40	0.16 + 0.04 bc
25 (c.r.)	0	120	80	0.16 + 0.07 bc
26	P. p + G1	120	80	0.16 + 0.12 bc
27	P. p + G2	120	80	0.17 + 0.07 bc
28	0	180	0	0.17 + 0.09 bc
29	P. p + G1	180	0	0.18 + 0.10 bc
30	P. p + G2	180	0	0.20 + 0.12 bc
31	0	180	40	0.17 + 0.15 bc
32	P. p + G1	180	40	0.20 + 0.09 bc
33	P. p + G2	180	40	0.19 + 0.10 bc
34	0	180	80	0.19 + 0.08 bc
35	P. p + G1	180	80	0.19 + 0.17 bc
36	P. p + G2	180	80	0.20 + 0.13 bc

Leyenda igual que la del Cuadro 4.13.

El efecto benéfico de la coinoculación fue evidente con el 60 kgN ha⁻¹ y sin P, ya que el Pt del grano fue 31.25 por ciento superior al trigo usado como control relativo. Sin embargo, la aplicación de P, redujo el efecto benéfico de *Glomus* spp. sobre la absorción radical de trigo. Palacios *et al.* (1994) reportaron un efecto del P similar al observado en este experimento, cuando inocularon cebolla con *Glomus fasciculatum* a diferentes dosis de N y P, pues la cebolla inoculada y con 140 kgN ha⁻¹ (sin P), absorbió más P que la cebolla sin inocular y con 140 kg N y 60 kg P₂O₅ ha⁻¹, lo que indica que el P es el factor determinante en la infección micorrízica.

El análisis de correlación entre los inoculantes y la fertilización N y P (Cuadro 4.18) muestra valores no significativos entre el N y P aplicado y el Pt del grano, tanto en el trigo sin inocular, como en el coinoculado, lo que se interpretó como que los fertilizantes no influyen sobre el Pt del grano.

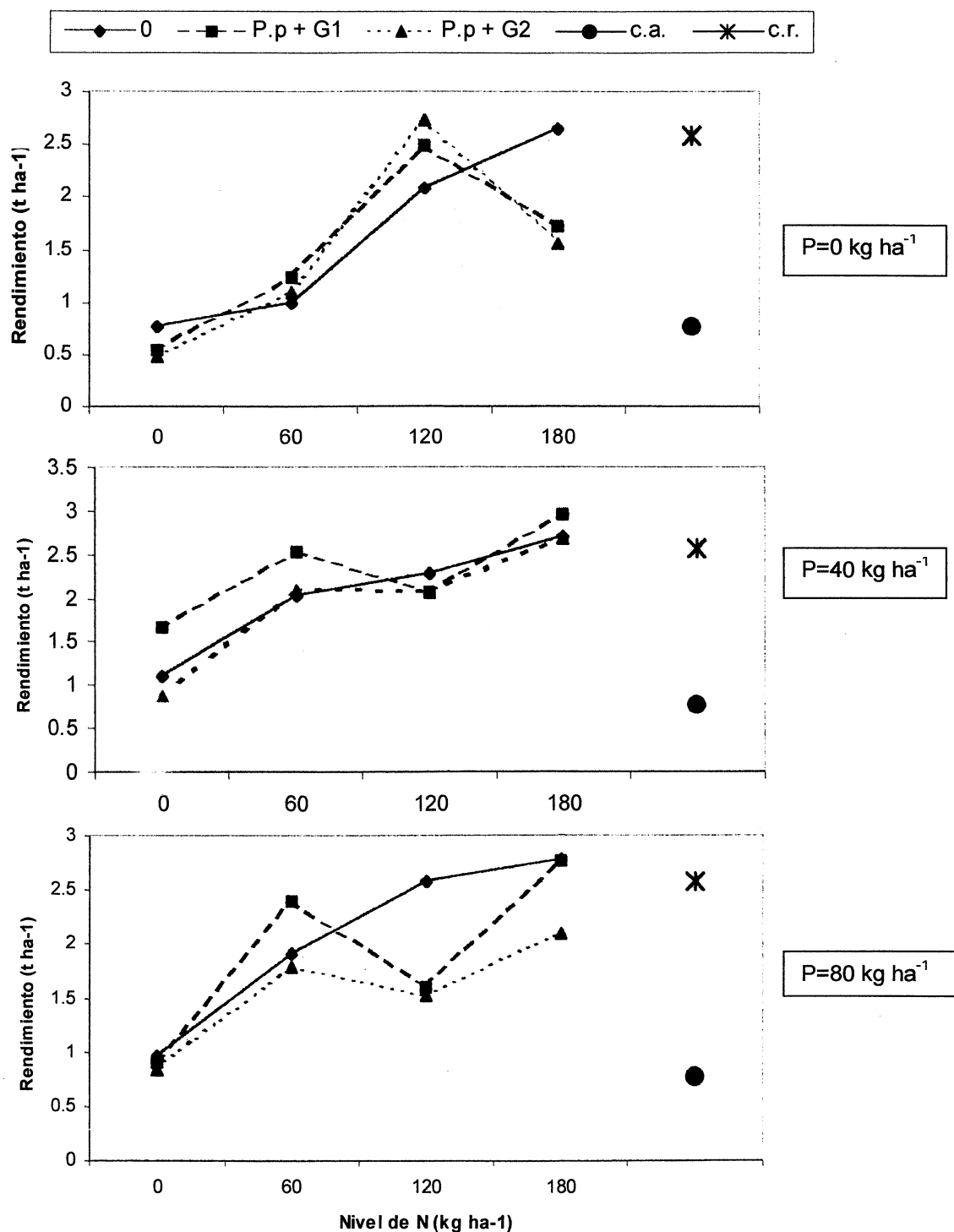
Rendimiento de Trigo

El Cuadro 4.21 y la Figura 4.16 muestran que el rendimiento del trigo sin inocular aumentó proporcionalmente a la dosis de N y P, aunque sin diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.01$) en comparación con el trigo usado como control relativo. En general, los niveles crecientes de N y P, no causaron un rendimiento proporcional, pues el N, en su dinámica de transformación química, sigue diversas rutas que no es necesariamente la asimilación radical, mientras el P se precipita en suelos calcáreos, limitando con esto la productividad vegetal (Marschner, 1995).

Cuadro 4.21. Comparación de medias de la respuesta rendimiento del trigo var. Pavón F-76 coinoculado con *Pseudomonas putida*/*Glomus* spp. en campo.

Tratamiento	Inoculación ^a	Fertilización ^b		Rendimiento (t/ha) ^c
		kgN ha ⁻¹	kgP ha ⁻¹	
1 (c.a.)	0	0	0	0.77 + 0.55 kl
2	P. p + G1	0	0	0.55 + 0.32 l
3	P. p + G2	0	0	0.48 + 0.19 l
4	0	0	40	1.10 + 0.61 jk
5	P. p + G1	0	40	1.66 + 0.48 ghi
6	P. p + G2	0	40	0.87 + 0.25 kl
7	0	0	80	0.96 + 0.53 kl
8	P. p + G1	0	80	0.90 + 0.27 kl
9	P. p + G2	0	80	0.84 + 0.15 kl
10	0	60	0	0.99 + 0.20 kl
11	P. p + G1	60	0	1.23 + 0.29 ijk
12	P. p + G2	60	0	1.09 + 0.23 jk
13	0	60	40	2.03 + 0.84 efg
14	P. p + G1	60	40	2.53 + 0.04 cd
15	P. p + G2	60	40	2.08 + 0.91 def
16	0	60	80	1.91 + 0.84 fgh
17	P. p + G1	60	80	2.40 + 0.99 cde
18	P. p + G2	60	80	1.78 + 0.50 gh
19	0	120	0	2.09 + 1.08 def
20	P. p + G1	120	0	2.48 + 0.69 cde
21	P. p + G2	120	0	2.73 + 0.78 abc
22	0	120	40	2.29 + 0.10 def
23	P. p + G1	120	40	2.06 + 0.78 def
24	P. p + G2	120	40	2.06 + 0.06 def
25 (c.r.)	0	120	80	2.58 + 0.10 cd
26	P. p + G1	120	80	1.60 + 0.35 fgh
27	P. p + G2	120	80	1.52 + 0.51 ghi
28	0	180	0	2.64 + 0.16 bc
29	P. p + G1	180	0	1.71 + 0.43 ghi
30	P. p + G2	180	0	1.55 + 0.26 hij
31	0	180	40	2.70 + 0.40 bc
32	P. p + G1	180	40	2.95 + 0.38 ab
33	P. p + G2	180	40	2.69 + 0.24 bc
34	0	180	80	2.79 + 0.10 abc
35	P. p + G1	180	80	2.76 + 0.19 abc
36	P. p + G2	180	80	2.10 + 0.40 def

Leyenda igual que la del Cuadro 4.13.



SI, sin inocular; P.p., *Pseudomonas putida*; G. *Glomus* spp.; c.a., control absoluto (sin inocular ni fertilizar; c.r., control relativo (sin inocular, y con 120 kgN ha⁻¹ y 80 kgP ha⁻¹).

Figura 4.16. Efecto de coinoculación *Pseudomonas putida* + *Glomus* spp. sobre el rendimiento del trigo a diferentes niveles de N y P en campo.

El trigo coinoculado con *P. putida*+G1 y con 60 kgN ha⁻¹ y 40 kgP ha⁻¹, alcanzó un rendimiento equivalente al trigo usado como control relativo, lo que indica que *P. putida* tiene la capacidad de utilizar los exudados radicales de trigo para producir fitorreguladores que aumentaron la densidad y longitud de los pelos radicales y, en consecuencia, mejoró la absorción de N y P. Como resultado de esto, hubo una mayor translocación de ambos elementos, que se reflejó en el rendimiento. Lo anterior se basa en lo reportado por Muñoz y Valdés (1995) quienes inocularon semillas de maíz con *P. putida* en invernadero y observaron que las raíces de las plantas inoculadas eran de mayor longitud y con mayor número de raíces laterales que las del maíz sin inocular, debido al ácido indolacético y giberelinas sintetizados por la bacteria. Estos cambios en la fisiología y morfología radical, aumentaron la exploración por el N y P del suelo, comparado con las raíces del maíz sin inocular. *Pseudomonas* spp., también contribuye a la infección de VAM en la raíz. Fester *et al.* (1999) encontraron que *P. fluorescens* sintetiza compuestos derivados de la blumenina, que estimulan la formación del apresorio entre las células de la epidermis de la raíz y la hifa, facilitando la penetración del hongo a la corteza radical. El efecto de la coinoculación del trigo en la presente investigación concuerda con lo reportado por Germida y Walley (1997) quienes encontraron que *Pseudomonas*+*Glomus* aumentó el rendimiento de trigo significativamente, con relación a las plantas sin inocular. Sin embargo, estos autores fertilizaron el trigo coinoculado con el 100 por ciento de la dosis de N y P recomendada, mientras que en el presente trabajo, se aplicó el 50 por ciento (60 kgN ha⁻¹ y 40 kgP ha⁻¹) de la dosis de N y P recomendada. El efecto positivo de *P. putida* y

Glomus spp., desde la germinación a la madurez del cultivo, se atribuye a que ambos microorganismos fueron aislados de malezas de la región, lo cual asegura una mayor capacidad de adaptación y competitividad en la raíz que microorganismos de registro comercial introducidos de ambientes agrícolas distintos (Jiménez y Sánchez, 1997).

El trigo coinoculado y con 80 kgP ha⁻¹, alcanzó un rendimiento menor que el trigo coinoculado y con el 40 kgP ha⁻¹, independientemente del nivel de N. Esto sugiere que la concentración de P disponible, influyó en el comportamiento fisiológico del trigo y esto, a su vez, en la composición química de sus exudados radicales que, en consecuencia, redujo la actividad de las hifas de VAM. Lo anterior coincide con lo reportado por Tawaraya *et al*, (1995) quienes analizaron el efecto de los exudados radicales de cebolla, fertilizada a diferentes niveles de P, sobre el crecimiento de hifas VAM en invernadero. Estos autores encontraron que las hifas fueron más abundantes y activas cuando la cebolla estuvo sometida a estrés de P, que cuando tenía suficiente P.

El análisis de correlación entre la coinoculación y el rendimiento del trigo (Cuadro 4.18) muestra una asociación altamente significativa entre *P. putida*+G1 y la fertilización N y entre *P. putida*+G2 y la fertilización N y P, lo que indica que el efecto benéfico de los microorganismos sobre el rendimiento está asociado con la concentración de N y P del suelo.

Detección de *Pseudomonas putida* en el Rizoplasma del Trigo Inoculado

El Cuadro 4.22 muestra los resultados de la detección de *Pseudomonas putida*, previamente marcada por el método de resistencia a antibióticos, en el rizoplasma del trigo coinoculado con *P. putida*+*Glomus* spp. y fertilizado con cuatro niveles de N y tres de P.

Cuadro 4.22. Densidad poblacional de *Pseudomonas putida* en el rizoplasma del trigo coinoculado con *P. putida*+*Glomus* spp. en campo.

Tratamiento	Inoculación ^a	Fertilización ^b		<i>P. putida</i> (ufc g ⁻¹ raíz de trigo) ^c
		kgN ha ⁻¹	kgP ha ⁻¹	
1	P. p + G1	0	0	2.3 x 10 ⁵ bcd
2	P. p + G2	0	0	3.1 x 10 ⁵ bc
3	P. p + G1	0	40	4.3 x 10 ⁵ abc
4	P. p + G2	0	40	3.8 x 10 ⁶ ab
5	P. p + G1	0	80	3.3 x 10 ⁵ bc
6	P. p + G2	0	80	3.9 x 10 ⁵ abc
7	P. p + G1	60	0	3.9 x 10 ⁵ abc
8	P. p + G2	60	0	3.1 x 10 ⁶ ab
9	P. p + G1	60	40	3.5 x 10 ⁶ ab
10	P. p + G2	60	40	4.7 x 10 ⁶ ab
11	P. p + G1	60	80	5.1 x 10 ⁵ abc
12	P. p + G2	60	80	4.8 x 10 ⁶ ab
13	P. p + G1	120	0	2.1 x 10 ⁵ bcd
14	P. p + G2	120	0	1.7 x 10 ⁵ bcd
15	P. p + G1	120	40	2.5 x 10 ⁵ bc
16	P. p + G2	120	40	3.0 x 10 ⁵ bc
17	P. p + G1	120	80	1.9 x 10 ⁵ bcd
18	P. p + G2	120	80	2.2 x 10 ⁵ bcd
19	P. p + G1	180	0	2.3 x 10 ⁵ bcd
20	P. p + G2	180	0	1.7 x 10 ⁶ ab
21	P. p + G1	180	40	1.3 x 10 ⁵ bcd
22	P. p + G2	180	40	2.1 x 10 ⁵ bcd
23	P. p + G1	180	80	1.5 x 10 ⁵ bcd
24	P. p + G2	180	80	1.8 x 10 ⁵ bcd

^a P. p., *Pseudomonas putida*; G1, *Glomus* aislado de *Reseda luteola*; G2, *Glomus* aislado de *Eruca sativa*. ^b N, aplicado como urea, dosis recomendada, 120 kgN ha⁻¹; P, aplicado como superfosfato triple, dosis recomendada, 80 kgP ha⁻¹. ^c Valores con la misma literal, son estadísticamente iguales (Tukey, P<0.01).

El muestreo se realizó al inicio del espigamiento del trigo (etapa 10.5 de la escala de Feeke). Se cuantificó una densidad poblacional de *P. putida* que, según Kloepper *et al.* (1985) es suficiente para asegurar el establecimiento de la bacteria en la raíz del cultivo y una acción bacteriana que puede modificar el crecimiento de la planta. La densidad población, indica que la bacteria respondió a los exudados radicales del trigo, que actuaron como señales de quimiotaxis de atracción (Millet y Fieldman, 1984) y que compitió con la población bacteriana nativa de la rizosfera, logrando colonizar la raíz. Esta respuesta se atribuye a que *P. putida*, fue aislada de la maleza *Aristida* spp. que, al igual que el trigo, es una gramínea, lo que sugiere que ambas plantas liberan exudados radicales bioquímicamente semejantes. Lo anterior coincide con Bohari *et al.* (1979) quienes señalan que existen similitudes en el contenido de compuestos nitrogenados y glucosados de los pastizales de zonas templadas. No se observó diferencia significativa entre la densidad poblacional en el trigo a diferentes niveles de N y P, lo que prueba que la concentración de N y P en el suelo no afectó el establecimiento de *P. putida* en la raíz y que, en consecuencia el efecto de la bacteria sobre las variables evaluadas en el vástago y grano de trigo, se debió a la acción hormonal de *P. putida*, al transformar los exudados radicales en fitohormonas, y a su efecto benéfico sobre la colonización de *Glomus* spp., como se mostró al evaluar el porcentaje de colonización VAM en el trigo en invernadero (Cuadro 4.12).

Los resultados de esta investigación, indican que la acción sinérgica de *P. putida* + *Glomus* spp. mejoró la eficiencia de absorción radical del trigo de N y P, lo que generó un rendimiento, a 50 por ciento de N y P (60 kgN ha⁻¹ y 40 kgP ha⁻¹), semejante al trigo sin inocular y con el 100 por ciento de la dosis de fertilización recomendada. El costo de producción del trigo coinoculado y con la dosis reducida de N y P (Cuadro 4.23) no fue significativamente diferente al trigo sin inocular y con el 100 por ciento de N y P, sin embargo, la coinoculación, junto con la fertilización fraccionada, ayuda a reducir la cantidad de compuestos nitrogenados no asimilados por el trigo y, en consecuencia, disminuye la contaminación del ambiente.

Cuadro 4.23. Comparación del costo de la producción del trigo sin inocular y con 100 por ciento de N y P y el coinoculado con *Pseudomonas putida*/*Glomus* spp. y con 50 por ciento de N y P.

Partida	Costo (\$/ha)	
	Trigo sin inocular	Trigo coinoculado
Preparación del terreno	314.00	314.00
Riegos (rodado y aspersion)	760.00	760.00
Semilla	375.00	375.00
Fertilización		
Urea	563.45 (120 kgN ha ⁻¹)	281.72 (60 kgN ha ⁻¹)
Superfosfato triple	282.60 (80 kgP ha ⁻¹)	141.30 (40 kgP ha ⁻¹)
Sulfato de potasio	438.90 (60 kgK ha ⁻¹)	438.90 (60 kgK ha ⁻¹)
Inoculante	No se aplica	27.39
Trilla	150.00	150.00
Total	2,883.95	2,488.31
Precio de venta (tonelada)	1,600.00	1,600.00
Rendimiento	2.58 t/ha 4,128.00	2.53 t/ha 4,048.00
Utilidad	1,244.05	1,559.69

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en la presente investigación, se presentan las siguientes conclusiones.

Las malezas analizadas son una fuente potencial de rizomicroorganismos benéficos para el trigo en suelos calcáreos porque tienen mayor capacidad de adaptación y competitividad en la raíz que los microorganismos introducidos de ambientes agrícolas distintos.

La diferencia en la sensibilidad de *Glomus* spp. a la fertilización nitrogenada y fosforada, indica que se trata de dos especies distintas, ya que la respuesta del trigo a la coinoculación varió según la fuente de VAM utilizada.

La doble inoculación con los microorganismos probados, mostró que, al menos en las condiciones establecidas, la demanda de nitrógeno y fósforo del trigo es, por lo menos, 40 por ciento menor a la dosis recomendada, pues la respuesta del trigo a la coinoculación y el 50 por ciento de nitrógeno y fósforo (60 kgN ha^{-1} y 40 kgP ha^{-1}), fue igual o superior a la respuesta del trigo sin inocular y con el 100 por ciento de la fertilización nitrogenada y fosforada.

La respuesta del trigo a la coinoculación fue dependiente del estrés nutricional provocado por la escasez de nitrógeno y fósforo, lo que prueba que la necesidad fisiológica de la planta por un elemento no disponible, es un factor limitante para la interacción entre *P. putida* y *Glomus* spp., y entre éstos y la raíz del trigo. La aplicación del 100 por ciento de la dosis de fertilización recomendada, confirma lo anterior, pues disminuyó el efecto positivo de los microorganismos. Esto indica que el incremento en la concentración de nitrógeno y fósforo del suelo, modificó la cantidad y calidad de los exudados radicales que actúan como señales de atracción química para los microorganismos y estimulan su acción benéfica sobre la eficiencia de absorción radical, sensibilizando a la raíz para una mayor incorporación de nitrógeno y fósforo.

El análisis isotópico demostró que, los microorganismos influyeron directamente en el incremento en la eficiencia de absorción radical y en la posterior translocación del nitrógeno en la planta, lo que indica que los inoculantes modificaron el metabolismo del nitrógeno y del fósforo del trigo.

Por lo anterior, se acepta la hipótesis planteada al inicio de esta investigación, ya que los rizomicroorganismos *P. putida* y *Glomus* spp. de malezas de suelos calcáreos, aumentaron la eficiencia de absorción radical del trigo del nitrógeno y del fósforo, a dosis reducidas de N y P, que se reflejó en el incremento del rendimiento.

RESUMEN

Los suelos calcáreos, como los del estado de Coahuila, México, limitan la disponibilidad de N y P y reducen el rendimiento del trigo, lo que lleva a aplicar dosis crecientes de ambos fertilizantes para mantener el ya bajo rendimiento. Como consecuencia del estado fisicoquímico del suelo, el fertilizante N no genera un rendimiento proporcional a la dosis utilizada y los excedentes, como NO_3^- y N_2O , contaminan los mantos freáticos y la atmósfera, mientras que el fertilizante P, por su naturaleza química, se precipita o adsorbe al calcio de las arcillas y disminuye su disponibilidad. Lo anterior, eleva el costo de producción, reduce la fertilidad del suelo y contamina el ambiente. Para resolver en parte este problema, se han implementado diversas alternativas. En el marco de la agricultura sustentable, una de ellas utiliza microorganismos que mejoran la eficiencia de asimilación radical de N y P a dosis reducidas y fraccionadas de fertilización. Por lo anterior, el objetivo principal de este trabajo, fue evaluar el efecto de la coinoculación con *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp. sobre la eficiencia de absorción radical de N y P en el trigo. Para ello, se aislaron rizobacterias benéficas y endomicorrizas vesículo arbusculares de raíces de malezas de la región. En el invernadero, se seleccionaron los microorganismos que aceleraron el crecimiento del trigo y, en el campo, se probó su efecto con diferentes niveles de N y P. Las variables evaluadas fueron

peso seco, contenido de N y P total y rendimiento del trigo. Además, de manera precisa se determinó la eficiencia de absorción de N en el trigo coinoculado mediante el análisis isotópico con ^{15}N .

Los resultados muestran que, en invernadero, la coinoculación del trigo con *P. putida*+*Glomus* spp., con 50 por ciento de N y P (60 kgN ha^{-1} y 40 kgP ha^{-1}) incrementó el peso seco total 68.3 por ciento, en comparación con el peso del trigo usado como control relativo (sin inocular y con 120 kgN ha^{-1} y 80 kgP ha^{-1}). Se supone que ello fue debido a que *P. putida* promovió la proliferación de pelos radicales, así como la infección de la raíz por *Glomus*, lo que, a su vez, incrementó la eficiencia de absorción de N y P. El incremento del peso seco total se atribuyó a las hormonas que *P. putida* posiblemente sintetizó a partir de los exudados radicales y a la acción sinérgica con *Glomus*, que incrementó el área de exploración radical y la sensibilización por el N y P. El peso seco total del trigo coinoculado, no respondió a la aplicación de 60 kgN ha^{-1} y 80 kgP ha^{-1} , en comparación con el peso del trigo usado como control relativo, ya que, al suplir la demanda de P, disminuye la producción de exudados radicales que *P. putida* utiliza para transformar en fitohormonas y que, a su vez, inducen la infección radical del trigo por *Glomus*.

En campo, la coinoculación *P. putida*+*Glomus* spp. incrementó la absorción y translocación de N y P en el vástago del trigo sin fertilizar, al igual que causó un aumento de 45.8 por ciento en el contenido de N total (Nt), comparado con el Nt del trigo usado como control absoluto (sin inocular ni

fertilizar), mientras que el contenido de P total (Pt) fue similar al del trigo usado como control relativo. Lo anterior se atribuyó a que los microorganismos mejoraron la capacidad radical para solubilizar, absorber y translocar el N y P del suelo. La coinoculación aumentó la absorción y translocación de N y P al grano del trigo, especialmente con 60 kgN ha⁻¹ y 40 kgP ha⁻¹, pues el Nt en el grano fue 24.4 por ciento superior al Nt del trigo usado como control relativo. Asimismo, la combinación microbiana, con 60 kgN ha⁻¹ (sin P), incrementó en un 31.25 por ciento el Pt en el grano, en comparación con el Pt del trigo usado como control relativo. Este efecto indica que *P. putida*+*Glomus* spp., incrementaron el área de exploración radical y, por tanto, la eficiencia de absorción de N y P. El análisis isotópico con ¹⁵N-urea, confirmó que la coinoculación incrementó la eficiencia de absorción radical de N en el trigo, pues el trigo coinoculado con *P. putida*+G1, con 60 kgN ha⁻¹ y 40 kgP ha⁻¹, alcanzó 54.5 por ciento más N en el vástago y 18.4 por ciento más N en el grano, que el trigo usado como control relativo. Este resultado muestra que la coinoculación aumentó la eficiencia de absorción radical de ¹⁵N del trigo, lo cual puede disminuir la concentración de N no asimilado, que causa deterioro del suelo y contaminación ambiental.

La coinoculación del trigo y 60 kgN ha⁻¹ y 40 kgP ha⁻¹ causó un rendimiento estadísticamente igual ($P < 0.01$) al trigo usado como control relativo. El efecto positivo de la coinoculación, se atribuyó a la actividad microbiana sinérgica de *P. putida* y *Glomus* spp., que aumentó la capacidad de exploración de la raíz del trigo e incrementó la absorción y translocación del N y

P. En el trigo coinoculado, la aplicación de 120 kgN ha⁻¹ y 80 kgP ha⁻¹ redujo el rendimiento, probablemente porque la alteración nutricional vegetal causó cambios en la calidad y cantidad de los exudados radicales lo que, en consecuencia, disminuyó la actividad de *P. putida*, así como la infección y actividad de *Glomus* spp., lo cual redujo la absorción radical de N y P. El efecto positivo de la coinoculación sobre el rendimiento del trigo, con 60 kgN ha⁻¹, indica claramente que la dosis de N recomendada para la región es excesiva, pues sobrepasa la capacidad de absorción radical de la planta.

Lo anterior muestra que la coinoculación del trigo con rizomicroorganismos específicos para las condiciones edáficas y climáticas de la región, aunado a una dosis reducida de fertilizante N y P, es una alternativa para resolver, en parte, el problema del cultivo de trigo en suelos calcáreos, ya que al incrementarse la eficiencia de asimilación radical de N y P, disminuye el deterioro del suelo y la contaminación ambiental.

LITERATURA CITADA

- Alagawadi, A. R. and Gaur, A. C. 1988. Interaction between *Azospirillum brasilense* and phosphate-solubilizing bacteria and their influence of yield and nutrient uptake of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) Zentralblatt für Mikrobiologie 143:637-643.
- Alexander, M. 1977. Introduction to Soil Microbiology. 2° ed. John Wiley and Sons. N.Y. pp. 333-341.
- Ames, R. N., Reid, C. P. P., Porter, L. K. and Cambardella, C. 1983. Hyphal uptake and transport of nitrogen from two ¹⁵N-labelled sources by *Glomus mosseae*, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytol. 95:381-396.
- Arora, D. K., Filonow, A. B. and Lockwood, J. L. 1983. Bacterial chemotaxis to fungal propagules *in vitro* and in soil. Can. J. Microbiol. 29:1104-1109.
- Atlas, R. M. 1984. Microbiology, Fundamentals and Applications. MacMillan Publishing Co. N.Y. pp. 823-824.
- Atlas, R. M. and Bartha, R. 1981. Microbial Ecology; Fundamentals and Applications. Addison-Wesley Publishing Co. pp. 362-364.
- Augé, R. M. and Stodola, A. J. W. 1990. An apparent increase in symplastic water contributes to greater turgor in mycorrhizal roots of droughted *Rosa* plants. New Phytol. 115:285-295.
- Axman, H. y Zapata, F. 1990. Isótopos estables y radiactivos. En: Empleo de técnicas nucleares en los estudios de la relación suelo-planta. Colección de Cursos de Capacitación No. 2. Organismo Internacional de Energía Atómica, Viena. pp. 9-30
- Azis, T. and Sylvia, D. M. 1991. The symbiotic association between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and *Leucaena leucophala*. Leucaena Res. Reports. 12:111-118.
- Baker, S. J., Tagu, D. and Dept, G. 1998. Regulation of root and fungal morphogenesis in mycorrhizal symbiosis. Plant Physiol. 116:1201-1207.

- Balderas, G. M. 1990. Fertilización enraizador y dos mejoradores de suelo sobre el crecimiento de frijol en un suelo calcáreo. Tesis. Maestría. UAAAN (inérita).
- Barber, D. A. and Martin, J. K. 1976. The release of organic substances by cereal roots in soil. *Soil Biol. Biochem.* 9:305-308.
- Bashan, Y. 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotech. Advances* 16:729-270.
- Bashan, Y., Holguín, G. y Ferrera, C. R. 1996. Interacción entre plantas y microorganismos benéficos. I. *Azospirillum*. *Terra.* 14:159-194.
- Batten, G. D., Wardlaw, I. F. and Aston, M. J. 1986. Growth and the distribution of phosphorus in wheat developed under various phosphorus and temperature regimes. *Aust.J.Agric.Res.*37:549-469.
- Beachamp, D. J., Dion, P., Kloepper, J. W. and Antoun, H. 1991. Physiological characterization of pine-utilizing rhizobacteria for traits related to plant growth-promoting activity. *Plant Soil* 132:273-279.
- Becard, G. and Piche, Y. 1989. Fungal growth stimulation by CO₂ and root exudates in vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:2320-2325.
- Bethlenfalvay, G. J. 1992. Mycorrhizae in the agricultural plant-soil system. *Symbiosis* 14:413-425.
- Bidwell, R. G. S. 1979. *Plant Physiology*. 2^o ed. MacMillan Publishing Co. N.Y. pp. 261-264.
- Bockhari, V. G., Coleman, D. C. and Rubinck, A. 1979. Chemistry of root exudates and rhizosphere soils of prairie plants. *Can.J.Bot.* 57:1473-1477.
- Bolan, N. S. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil* 134:189-207.
- Bolton, H. Jr., Fredrickson, J. K. and Elliot, L. F. 1993. Microbial Ecology of the Rhizosphere. En: *Soil Microbial Ecology, Applications in Agricultural and Environmental Management*. F.B. Metting, Jr. (ed.). pp. 27-30.
- Bonfante-Fasolo, P. and Perotto, S. 1994. Plants and Endomycorrhizal Fungi: The Cellular and Molecular Basis of their Interaction. Pp 445-470. En: Verma, D. P. S. (ed.). *Molecular Signals in Plant Microbe Communications*. Boca Raton, London.

- Bowen, G. D. and Zapata, F. 1991. Efficiency in uptake and use of nitrogen by plantas. En: Stable isotopes in plant nutrition, soil fertility and environmental studies. International Atomic Energy Agency, Vienna. pp.349-359.
- Bowen, G. D. and Rovira, A. D. 1991. The rhizosphere, the hidden half of the hidden half. En: The Plant Roots, the Hidden Half (Y. Waisel, A. Eshel y U. Kafkafi, eds.). pp 641-449. Marcel Dekker, N.Y.
- Box, J. E. and Hammond, L. C. 1990. Rhizosphere dynamics. En: J.E. Box y L.C. Hammond (eds). AAAS. Selected Symposium 113. Westview Press Boulder. USA.
- Breland, T. A. and Baker, L. R. 1991. Microbial growth and nitrogen immobilization in the root zone of barley (*Hordeum vulgare* L.), Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) and white clover (*Trifolium reems* L.). Biol. Fertil. Soils 12:154-160.
- Brito-Alvarez, M. A. de, Gagne, S. and Antoun, H. 1995. The effect of compost on rhizosphere microflora of tomato and on the incidence of plant growth-promoting rhizoabacteria. App.Environ.Microbial. 61:194-199.
- Brundrett, M. C., Piche, Y. and Peterson, R. L. 1985. Development study of early stages of vesicular-arbuscular mycorrhizae formation. Can. J. Bot. 63:184-194.
- Buckman, H. O. y Brady, C. N. 1966. Naturaleza y propiedades de los suelos. Montaner y Simon. España. pp. 450-475.
- Buwalda, J. G., Stribley, D. P. and Tinker, P. B. 1983. Increased uptake of anions by plants with vesicular-arbuscular mycorrhizas. Plant and Soil 71:463-467.
- Caracheo, G. V. y Sánchez, Y. J. M. 1996. Efecto de rizobacterias y ácidos húmicos sobre la eficiencia de asimilación de urea en trigo (*Triticum aestivum* L.) var. Pavón F-76. En: Memorias del IV Simposio, La Investigación y el Desarrollo Tecnológico en Michoacán, México. p. 22.
- Cepeda, D. J. M. 1983. Química de Suelos. Ed. UAAAN. pp. 128-129.
- Cioban, G. 1996. Wheat yield response to irrigation and nitrogen fertilizer applications. En: The use of nuclear techniques for optimizing fertilizer application under irrigated wheat. FAO/IAEA Research co-ordination meeting.
- Clark, R. B. and Zeto, S. K. 1996. Mineral acquisition by mycorrhizal maize grown on acid and alkaline soil. Soil Biol. Biochem. 28:1495-1503.

- Colin, R. M. 1992. Apuntes de Cultivos Básicos. Folletos. Ed. Depto. de Fitomejoramiento, Programa de Cereales Pequeños. UAAAN.
- Curl, E. A. and Truelove, B. 1986. *The Rhizosphere*. Springer-Verlag, N.Y.
- Chabot, R., Atoun, H. and Ceseas, M. P. 1996. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. *Plant and Soil* 184:311-321.
- Chanway, C. P., Turkington, R. and Holl, F. B. 1991. Ecological implications of specificity between plants and rhizosphere microorganisms. *Adv. Ecol. Res.* 21:122-170.
- Chanway, C. P., Nelson, L. M. and Holl, F. B. 1988. Cultivar-specific growth promotion of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) by coexistent *Bacillus* species. *Can. J. Microbiol.* 34:925-929.
- Davies, F.T. Jr., Potter, J. R. and Linderman, R. G. 1992. Mycorrhiza and repeated drought exposure affect drought resistance and extraradical hyphae development of pepper plants independent of plant size and nutrient content. *J. Plant Physiol.* 139:289-294.
- De Freitas, J. R. and Germida, J. J. 1990. A root tissue culture system to study winter wheat-rhizobacteria interactions. *Appl. Microbiol. Biotech.* 33:589-595.
- Dorrembos, J. y Kassan, A..H. 1979. Efectos del Agua Sobre el Rendimiento de los Cultivos. Organización Mundial de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). pp. 173-174.
- Dubey, S. K. 1997. Co-inoculation of phosphorus solubilizing bacteria with *Bradyrhizobium japonicum* to increase phosphate availability to rainfed soybean on vertisol. *J. of the Indian Soc. of C. Sci.* 45(3)506-509.
- Dukestra, A. F., Scholten, G. H. N. and Van Veen, J. A. 1987. Colonization of wheat seedling (*Triticum aestivum*) roots by *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. *Biol. Fert. Soils* 4:41-46.
- Elliot, L. F., Gilmour, G.M., Lynch, J. M., and Tittmore, K. 1984. Bacterial colonization of plant roots. En: *Microbial-Plant Interactions*, R.L.Tyodd y J.E. Giddens eds. Soils Science Society of America, Madison, Wis. p.1-16.
- Ferrera, C. R. 1989. Rizosfera. En: Ferrera Cerrato, R. (ed.). *Ecología de la raíz*. Soc. Mexicana de Fitopatología, Montecillo, México. pp. 1-21.

- Ferrera, C. R. 1995. Efecto de rizosfera. En: Agromicrobiología, Elemento Útil en la Agricultura Sustentable. R. Ferrera Cerrato y J. Pérez Moreno. CP (eds.). pp. 36-40.
- Ferrera, C. R., González, C. M. C. A. y Rodríguez, M. M. N. 1993. La endomicorriza vesículo-arbuscular. En: Manual de Agromicrobiología. Trillas. pp. 59-62.
- Ferrera, C. R. y Pérez, M. J. 1994. Mycorrhizal interactions with plants and soil organisms in sustainable agroecosystems. 15° Congreso Mundial de la Ciencia de Suelo, Acapulco, México. 53-54.
- Fester, T., Maier, W. and Strack, D. 1999. Accumulation of secondary compounds in barley and wheat roots in response to inoculation with an arbuscular mycorrhizal fungus and co-inoculation with rhizosphere bacteria. *Mycorrhiza* 8(5):241-246.
- Fitter, A. H. and Garbaye, J. 1994. Interactions between mycorrhizal fungi and other soil organisms. *Plant and Soil* 159:123-132.
- Galván, D. G., Sánchez, Y. J. M. y Gómez, B. L. 1997. Recuperación de suelo deteriorado con abono verde y efecto de la bioinoculación en trigo de invierno. En: Memorias del III Simposio sobre Agricultura Sustentable, Guadalajara, Jal., México. p. 54.
- García, M. M. G., Sánchez, Y. J. M., Peña, C. J. J. y Moreno Zacarías, P. E. 1995. Respuesta del maíz (*Zea mays* L.) a la inoculación con bacterias fijadoras de nitrógeno. *Terra* 13:71-80.
- García-Garrido, J. M. and Ocampo, J. A. 1989. Effect of VA mycorrhizal infection of tomato on damage caused by *Pseudomonas syringae*. *Soil Biol. Biochem.* 21:165-167.
- Gerdeman, J. W. and Nicolson, T. N. 1963. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soils by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 46:235-244.
- Germida, J. J. and Walley, F. L. 1997. Plant growth-promoting rhizobacteria alter rooting patterns and arbuscular mycorrhizal fungi colonization of field-grown spring wheat. *Biology and Fertility of Soils.* 23:113-120.
- Gianinazzi, S., Dexheimer, J., Gianinazzi-Pearson, V. and Marx, C. 1983. Role of the host-arbuscule interface in the VA mycorrhizal symbiosis: ultracytological studies of processes involved in phosphate and carbohydrate exchange. *Plant and Soil* 71:211-215.

- Guzmán, P. R. A. y Ferrera, C. R. 1990. La endomicorriza VA en las leguminosas. Sección de Microbiología. Centro de Edafología. C. P. Montecillo, México.
- Hardarson, G. y Danso, S. K. A. 1990. Evaluación de la fijación biológica del nitrógeno mediante la metodología del N¹⁵ En: Empleo de técnicas nucleares en los estudios de la relación suelo-planta. Colección de cursos de capacitación No. 2. Organismo internacional de energía atómica, Vienna. pp.173-176.
- Hauter, R. and Mengel, K. 1988. Measurement of pH at the root surface of red clover (*Trifolium pratense*) grown in soils differing in proton buffer capacity. *Biol. Fertil. Soils* 6:295-298.
- Hebbar, P., Berge, O., Heulin, T. and Singh, S.P. 1991. Bacterial antagonists of sunflower (*Helianthus annuus* L.) fungal pathogens. *Plant Soil* 133:131-140.
- Holford, I. C. R. 1997. Soil phosphorus: its measurement, and its uptake by plants. *Aus. J. Soil Res.* 35:227-239.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 1996. El Sector Agropecuario en el Estado de Coahuila. ISBN 970-13-1678-9.
- Instituto Nacional de la Potasa y el Fósforo (INPOFO). 1998. Nitrógeno. En: Manual de Fertilidad de los Suelos. pp. 24-28.
- Jacob, C. 1973. El Desarrollo Fisiológico y el Rendimiento de las Cosechas. Escuela Nacional de Agricultura, Chapingo. México. pp. 231-233.
- Jiménez, Z. J. J. y Sánchez, Y. J. M. 1997. Efecto de rizobacterias y endomicorrizas sobre la eficiencia de asimilación de nitrógeno y fósforo en trigo de primavera. En: Memorias del III Simposio Internacional sobre Agricultura Sustentable, Guadalajara, Jal., México. p. 52.
- Khalid, A., Arshad, M., Zahir, Z. A. and Khaliq, A. 1997. Potential of plant growth promoting rhizobacteria for enhancing wheat (*Triticum aestivum* L.) yield. *J. of Animal and Plant Sci.* 7:53-56.
- Kirchner, F. R., López, E. y Solís, G. 1987. Cultivos Básicos. Manuales para la Educación Agropecuaria. Trillas. p.10.
- Kloepper J. W. 1993. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria as Biological Control Agents. En: Soil Microbial Ecology. Ed. F.B. Meeting, Jr. Dekker, Inc. pp. 257-258.

- Kloepper, J. W. and Schroth, M. N. 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. En: Proceedings of the Fourth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Vol. 2.
- Kloepper, J. W. and Schroth, M. N. 1981. Relationship of *in vitro* antibiosis of plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology* 70:1078-1082.
- Kloepper, J. W., Scher, F. M., Laliberté, M. and Zaleska, I. 1985. Measuring the spermosphere colonizing capacity (spermosphere competence) of bacterial inoculants. *Can. J. Microbiol.* 31:926-929.
- Kloepper, J. W., Rodríguez, K. R., McInroy, J. A. and Young, R.W. 1992. Rhizosphere bacteria antagonistic to soybean cyst (*Heterodere glycine*) and root-knot (*Meloidogyne incognita*) nematodes: Identification by fatty acid analysis and frequency of biological control activity. *Plant Soil* 139:75-84.
- Klyuchnikov, A. A. and Kozhevin, P. A. 1990. Dynamics of *P. fluorescens* and *A. brasilense* populations during the formation of the VAM. *Microbiology* 59:449-452.
- Knight, W. G., Allen, M. F., Jurinak, J. J. and Dudley, L. M. 1989. Elevated carbon dioxide and solution phosphorus in soil with vesicular-arbuscular mycorrhizal western wheat. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53: 1075-1082.
- Kothari, S. K., Marschner, H. and George, E. 1990. Effect of VA mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on root and shoot morphology, growth and water relations in maize. *New Phytol.* 116: 303-311.
- Kuo, C. G. and Huang, R. S. 1982. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on the growth and yield of rice stubble cultured soybeans. *Plant and Soil* 64:325-330.
- Lankford, C. E. 1993. Bacterial assimilation of iron. *Crit. Rev. Microbiol.* 2:273-331.
- Large, E.C. 1954. Growth stages in cereals. *Plant Pathol.* 3:128-129.
- Leinhos, V. and Vacek, O. 1994. Biosynthesis of auxins by phosphate-solubilizing rhizobacteria from wheat (*Triticum aestivum*) and rye (*Secale cereale*). *Microbiol. Res.* 149:31-35.
- Leonard, W. H. and Martin, J. H. 1967. *Cereal Crops*. MacMillan. USA.
- Lippmann, B., Leinhos, V. and Bergmann, H. 1995. Influence of auxin producing rhizobacteria on root morphology and nutrient accumulation of

- Crops. I. Changes in root morphology and nutrient accumulation in maize (*Zea mays* L.) caused by inoculation with indole-3-acetic acid (IAA) producing *Pseudomonas* and *Actinobacter* strains or IAA applied exogenously. *Angewandte-Botanik*. 69:31-36.
- López, J. R. y López, J. M. 1990. *El Diagnóstico de Suelos y Plantas*. Mundi-Prensa. pp. 95-98.
- Luna, H. A. O. y Sánchez, Y. J. M. 1991. *Manual de prácticas de microbiología del suelo*. 3°ed. Fac. de C. Biológicas, UANL, México. pp.140-143.
- Majjigudda, I. M. and Screenvisa, M. N. 1998. Response of wheat to the inoculation of VAM fungi at different P levels. *J. of Maharashtra Agricultural Universities* 22(2):196-198.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2° ed. Academic Press Limited. pp. 566-595.
- Medina, O. A., Kretschner, A. E. and Sylvia, D. M. 1990. Growth response of field-grown siratro (*Macroptillium atropurpureum* Urb.) and *Aeschynomene americana* L. to inoculation with selected vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Biol. Fertil. Soils* 9:54-60.
- Mengel, K. and Kirby, E. 1982. *Principles of Plant Nutrition*. 3° ed. International Potash Institute. Suiza. pp. 387-390.
- Millet, F. and Feldmann, M. 1984. Yield response of common spring wheat cultivar to inoculation with *Azospirillum brasilense* at varios levels of nitrogen fertilization. *Plant Soil* 80:255-259.
- Morton, J. B. 1988. Taxonomy of mycorrhizal fungi: clasificación, nomenclature and identification. *Mycotaxon*. 32:276-324.
- Mosse, B. 1981. Vesicular-arbuscular Mycorrhizae Research for Tropical Agriculture and Human Resources. University of Hawaii. p. 5-82.
- Muñoz-García, A. and Valdés, M. 1995. The population dynamics of maize rhizoplane inoculated with *Pseudomonas* and *Azospirillum*. *Rev. Lat. Amer. Microbiol.* 37:305-313.
- Nacamulli, C., Bevivino, A., Dalmastrri, C., Tabacchioni, S. and Chiarini, L. 1997. Perturbation of maize rhizosphere microflora following seed bacterization with *Burkholderia cepacia* MCI 7. *FEMS Microbiology Ecology* 23:183-193.
- Nava, M. y Sánchez, Y. J. M. 1996. Efecto de bioinoculantes y ácidos húmicos sobre la asimilación de fertilizante nitrogenado en trigo (*Triticum aestivum*

- var. Pavón) de temporal. En: Memorias del IV Simposio, La Investigación y el Desarrollo Tecnológico en Michoacán, México. p. 19.
- Nieto, K. F. and Frankenberger, W. T. Jr. 1989. Biosynthesis of cytokininins in soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53:735-740.
- Noghimí, A., Tate, M. E. and Oades, J. M. 1978. Phosphate dissolution by rhizosphere products. II Characterization of rhizosphere products, especially a detogluconic acid. *Soil Biol. Biochem* 10: 282-286.
- Palacios, M. S., Jaime, M. A., Urbano, S. L., Cuencia, A. S. and Shimada, M. K. 1994. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza on growth of *Allium cepa* L. under field condition in a rendzic leptosol. 15° Congreso Mundial de la Ciencia del Suelo, Acapulco, México. 34-35.
- Pazout, J., Wurst, M. and Vancura, V. 1981. Effect of aeration on ethylene production by soil bacteria and soil samples cultivated in a closed system. *Plant Soil* 62:431-437.
- Perrin, R. 1990. Interactions between mycorrhizae and diseases caused by soil-borne fungi. *Soil Use Mgmt.* 6:189-195.
- Phillips, J. M. and Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi or rapid assessment of infections. *Trans.Br.Mycol.Soc.* 55(1):158-161.
- Prykryl, Z., Vancura, V. and Wurst, M. 1985. Auxin formation by rhizosphere bacteria as a factor of root growth. *Biol. Plant.* 27:159-163.
- Raven, J. A. 1986. Biochemical disposal of excess H⁺ in growing plants. *New Phytol.* 104:175-206.
- Rennie, R. J., Jansen, H. J., Bremer, E. M. and Volkmar, K. 1993. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield of hard red spring wheat. FAO/IAEA. First Coordinated Meeting, Viena, Austria. Pp. 3-4.
- Rijven, A. H. G. C. and Gufford, R.M. 1983. Accumulation and conversion of sugars by developing wheat grains. IV. Effects of phosphate and potassium ions in endosperm slices. *Plant Cell Environ.*6:625-631.
- Robles, S. R. 1990. Producción de Granos y Forrajes. 5° ed. Limusa. México. pp.57-60.
- Rodríguez, S. F. 1992. Fertilizantes, Nutrición Vegetal. AGT, S.A. pp. 38-39.
- Rovira, A. D. 1956. Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect: I. The nature of root exudate from oats and peas. *Plant Soil* 7:178-194.

- Sánchez, Y. J. M., Nava, M. M., Caracheo, G. V., Cortés, R. M., García, A. V., Gómez, B. L. y Valdivia, U. B. 1997. Weed as a source of beneficial bacteria for spring or winter wheat. En: Abstracts, Colloque Rhizosphere Aix'97, Aix in Provence, France. p. 76.
- Sánchez, Y. J. M., Caracheo, G. V., Nava, M. M., Cortés, R. M., Galván, D. G., Jiménez, J. Z. y Valdivia, U. B. 1998. Effect of bacteria and humic acids on the yield of wheat under irrigation. IIQB, UMSNH. Progress report, IAEA, Research contract No. 311-D-1-Mex-7944.
- Sanford, D. A. V. and Mackown, C. T. 1982. Variation in nitrogen use efficiency among soft red winter wheat genotypes. *Appl. Genet.* 72:1558-163.
- Sattar, M. A. and Gaur, A. C. 1989. Effect of VA-mycorrhiza and phosphate dissolving microorganisms on the yield and phosphorus uptake of wheat (*Triticum vulgare*). *Bang. J. Agric.* 14:233-239.
- Scher, F. M., Kloepper, J. W. and Singleton, C.A. 1985. Chemotaxis of fluorescent *Pseudomonas* spp. to soybean seed exudates in vitro and in soil. *Can. J. Microbiol.* 78:287-296.
- Schmidt, W. A., Omay, S. H. and Martin, P. 1993. Indolacetic acid production by the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* Cd. under in vitro conditions. *Can. J. Microbiol.* 39:187-192.
- Schroth, M. N. and Hancock, J. G. 1982. Disease-suppressive soil and root-colonizing bacteria. *Science* 216:1376-1381.
- Schweiger, P. F., Robson, A. D. and Barrow, M. J. 1995. Root hair length determines beneficial effect of a *Glomus* species on shoot growth of some pasture species. *New Phytologist* 131:247-254.
- Siqueira, J. O., Sylvia, D. M., Gibson J. L., and Hubbell, D. H. 1985. Spores, germination, and germ tubes of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Can. J. Microbiol.* 31:965-972.
- Steel, R. y Torrie, J. 1985. *Bioestadística: principios y procedimiento*. 2° ed. McGraw-Hill. Pp. 268-272.
- Sylvia, D. M., Hammong, L. C., Bennett, J. M., Haas, J. M. and Linda, S. B. 1993. Field response of maize to a VAM fungus and water management. *Agron. J.* 85:193-198.
- Taiz, L. and Zeiger, E. 1991. *Plant Physiology*. Benjamin/Cummings Publishing Co. pp. 100-102.

- Tarafdar, J. C. and Marschner, H. 1994. The efficiency of VAM hyphae in utilization of organic phosphorus by wheat (*Triticum aestivum*) plants. *Soil Sc. And Plant Nutrition*. 40(40):593-600.
- Tawaraya, K., Saito, J., Morioka, M. and Wagatsuma, T. 1995. Effect of concentration of phosphate on spore germination and hyphal growth of the arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita*. *Soil Sci. Plant Nutr.* 42:667-671.
- Teusher, H. y Adler, R. 1987. *El Suelo y su Fertilidad*. Continental. México. pp. 252.
- Thompson, L. M. y Troeh, F. R. 1980. *Los suelos y su fertilidad*. 4° ed. Reverte, S.A.. España. pp. 331-360.
- Tinker, P. B. 1984. The role of microorganisms in mediating and facilitating the uptake of plant nutrients from soil. *Plant and Soil* 76:77-91.
- Tinker, P. B., Jones, M. D. and Durall, D. M. 1992. A functional comparison of ecto and endomycorrhizas. En: *Mycorrhizas in Ecosystems*. D. J. Read, D. H. Lewis, A. H. Fitter and I. J. Alexander (eds.). pp. 303-310. CAB International, UK.
- Tisdale, S. y Nelson, W. 1982. *Fertilidad de los Suelos y Fertilización*. UTEHA. pp. 128-133.
- Torres, R. E. 1980. *Optimización del Calendario de Riego para Trigo en el Norte de Coahuila*. Tesis. Maestría en Suelo. UAAAN (inédita).
- Valdivia, U. B., Sánchez, Y. J. M., Peña, C. E. y Fernández, B. J. M. 1997. Respuesta del trigo var. Pavón F-76 a la inoculación con rizobacterias en invernadero. En: *Memorias del III Seminario de Protocolos y Avances de Investigación del Posgrado Interinstitucional en Ciencias Agrícolas y Forestales*. Nayarit, México.
- Valdivia, U. B., Sánchez, Y. J. M., Peña, C. E. y Fernández, B. J. M. 1999. Efecto de la coinoculación con *Glomus spp.* y *Pseudomonas putida* en trigo. *Rev. Latinoamericana de Microbiología*. 41:231-237.
- Van Cleemput, O. and Hera, C. 1996. Fertilizer nitrogen use and efficiency in different cropping systems. *Terra* 14:40-58.
- Villarreal, J. A. Q. 1983. *Malezas de Buenavista, Coah.* Ed. UAAAN, Saltillo, Coah. pp. 92.
- Waschkies, C., Schropp, A. and Marschner, H. 1994. Relations between grapevine replant disease and root colonization of grapevine (*Vitis sp.*) by

fluorescent pseudomonads and endomycorrhizal fungi. *Plant Soil* 162:219-227.

- Watanabe, F. S. and Olsen, S. R. 1965. Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and NaHC_3 . *Soil Sci. Soc. Proceedings*. 677-678.
- Weger, L. A. de, Vander Vlugh, C. I. M., Wijfjes, A. H. M., Bakker, P. A. H. M., Schippers, B. and Lugtenberg, B. 1987. Flagella of a plant-growth-stimulating *Pseudomonas fluorescens* strain are required for colonization of potato roots. *J. Bacteriol.* 169:2769-2773.
- Weller, D. M. 1984. Distribution of take-all suppressive strain of *Pseudomonas fluorescens* on seminal roots of winter wheat. *Appl. Environ. Microbiol.* 48:897-899.
- Wilcox, H. E. 1991. Mycorrhizae. En: *The Plant Root, the Hidden Half*. Y. Waisel, A. Eshel y U. Kafkafi (eds.). Marcel Dekker. N.Y. pp. 731.
- Xavier, L. J. C. and Germida J. J. 1997. Growth response of lentil and wheat to *Glomus clarum* NT4 over a range of P levels in a Saskatchewan soil containing indigenous AM fungi. *Mycorrhiza* 7:3-8.
- Zapata, F. 1990. Experimentación sobre el terreno en estudios realizados con ayuda de isótopos. En: *Empleo de técnicas nucleares en los estudios de la relación suelo-planta*. Colección de cursos de capacitación No. 2. Organismo internacional de energía atómica, Viena. 43-45.

APÉNDICE

Cuadro A. 1. Análisis de varianza del efecto de la inoculación con rizobacterias sobre el peso seco total del trigo var. Pavón F-76 al amacollamiento en invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fc	F α 0.05
Tratamiento	6	2585924.0	430987.3	2.8749 *	2.85
Error	14	2098808.0	149914.8		
Total	20	4684735.0			

CV = 29.18% * Significativo

Cuadro A. 2. Análisis de varianza del efecto de la inoculación con rizobacterias sobre el peso seco total del trigo var. Pavón F-76 al espigamiento en invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fc	F α 0.05
Tratamiento	6	21187360.0	35311226.75	5.1788 **	2.85
Error	14	9546096.0	681864.00		
Total	20	30733456.0			

CV = 29.93% ** Altamente significativo

Cuadro A. 3. Análisis de varianza del efecto de la inoculación con *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp. sobre el peso seco radical del trigo var. Pavón F-76 en invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fc	F α 0.01
Tratamiento	13	15.386351	1.183564	9.608 **	0.0000
Error	28	3.449103	0.1231823		
Total	41	18.835454			

CV = 21.00% ** Altamente significativo

Cuadro A. 4. Análisis de varianza del efecto de la inoculación con *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp. sobre el peso seco del vástago del trigo var. Pavón F-76 en invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fc	F α 0.01
Tratamiento	13	19.447632	1.495917	9.388 **	0.0000
Error	28	4.461725	0.1593473		
Total	41	23.909357			

CV = 18.72%

** Altamente significativo

Cuadro A. 5. Análisis de varianza del efecto de la inoculación con *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp. sobre el peso seco total del trigo var. Pavón F-76 en invernadero.

FV	GL	SC	CM	Fc	F α 0.01
Tratamiento	13	46.981666	3.6139743	9.063 **	0.0000
Error	28	11.164877	0.3987456		
Total	41	58.146542			

CV = 16.60%

** Altamente significativo

Cuadro A. 6. Análisis de varianza del efecto de la coinoculación con *Pseudomonas putida*/*Glomus* spp. sobre el contenido de nitrógeno total en el vástago del trigo var. Pavón F-76 en campo.

FV	GL	SC	CM	Fc	F α 0.01
A: Inoculación	2	0.1502955	0.0751478	4.480 NS	0.0135
B: Urea	3	7.1302566	2.3767522	141.697 **	0.0000
C: SFT	2	3.1939532	1.5969766	95.203 **	0.0000
AxB	6	1.1305465	0.1884244	11.233 **	0.0000
AxC	4	0.2432094	0.0608024	3.625 **	0.0082
BxC	6	5.8307337	0.9717889	57.936 **	0.0000
AxBxC	12	1.3585241	0.1132103	6.749 **	0.0000
Error	108	1.8115360	0.0167735		
Total	143	20.849055			

CV = 12.59%

NS = No significativo

** Altamente significativo

Cuadro A. 7. Análisis de varianza del efecto de la coinoculación con *Pseudomonas putida*/*Glomus* spp. sobre el contenido de fósforo total en el vástago del trigo var. Pavón F-76 en campo.

FV	GL	SC	CM	Fc	F α 0.01
A: Inoculación	2	0.0044179	0.0022090	29.459 **	0.0000
B: Urea	3	0.0242470	0.0080823	107.788 **	0.0000
C: SFT	2	0.0190910	0.0095455	127.301 **	0.0000
AxB	6	0.0167481	0.0027914	37.226 **	0.0000
AxC	4	0.0092614	0.0023153	30.878 **	0.0000
BxC	6	0.0050055	0.0008343	11.126 **	0.0000
AxBxC	12	0.0176923	0.0014744	19.662 **	0.0000
Error	108	0.0080983	0.0000749838		
Total	143	0.1045615			

CV = 10.09%

** Altamente significativo

Cuadro A. 8. Análisis de varianza del efecto de la coinoculación con *Pseudomonas putida*/*Glomus* spp. sobre el peso seco de vástago del trigo var. Pavón F-76 en campo.

FV	GL	SC	CM	Fc	F α 0.01
A: Inoculación	2	6.350773	3.175386	11.128 **	0.0000
B: Urea	3	35.605449	11.868483	41.593 **	0.0000
C: SFT	2	14.059433	7.029717	24.635 **	0.0000
AxB	6	5.791701	0.9652835	3.383 **	0.0043
AxC	4	26.877279	6.7193197	23.548 **	0.0000
BxC	6	16.851939	2.8086565	9.843 **	0.0000
AxBxC	12	39.945247	3.3287705	11.666 **	0.0000
Error	108	30.817952	0.2853514		
Total	143	176.29977			

CV = 15.52%

** Altamente significativo

Cuadro A.11. Análisis de varianza del efecto de la coinoculación con *Pseudomonas putida*/*Glomus* spp. sobre el rendimiento del trigo var. Pavón F-76 en campo.

FV	GL	SC	CM	Fc	F α 0.01
A: Inoculación	2	2.565376	1.282688	22.085 **	0.0000
B: Urea	3	49.718273	16.572758	285.346 **	0.0000
C: SFT	2	7.666499	3.833249	66.000 **	0.0000
AxB	6	1.611625	0.2686042	4.625 **	0.0003
AxC	4	2.278729	0.5696822	9.809 **	0.0000
BxC	6	10.518918	1.7531530	30.185 **	0.0000
AxBxC	12	6.457051	0.5380876	9.265 **	0.0000
Error	108	6.2725948	0.0580796		
Total	143	87.089065			

CV = 13.02%

** Altamente significativo

Cuadro A 12. Efecto de la inoculación con rizobacterias aisladas de malezas sobre el peso seco del trigo var. Pavón F-76 con 60 kgN ha⁻¹ en invernadero.

Trata- miento	Ínoculación	P e s o s e c o (g)							
		Raíz		Tallo	Hoja		Espiga	Total	
		Amacolla- miento	Espiga- miento		Amacolla- miento	Espiga- miento		Amacolla- miento	Espiga- miento
1 (c.r.)	0	0.48 b	1.02 a	0.82 ab	0.95 abc	1.33 ab	0.44 ab	1.50 abc	3.66 ab
2	RB1	0.40 b	0.79 bc	0.70 abc	0.73 bc	1.17 ab	0.32 bc	1.22 bc	3.01 abc
3	RB2	0.34 c	0.58 c	0.44 bcd	0.54 c	0.80 bc	0.27 bc	0.94 c	2.08 cd
4	RB3	0.67 a	0.92 ab	0.42 bcd	1.38 a	0.93 ab	0.24 cd	1.61 ab	2.41 bcd
5	RB4	0.55 ab	0.98 a	1.10 a	1.76 ab	1.51 a	0.50 a	1.92 a	4.08 a
6	RB1+RB2	0.39 b	0.67 bc	0.31 cd	0.55 c	0.41 c	0.21 cd	1.08 bc	1.61 cd
7	RB3+RB4	0.33 c	0.65 bc	0.23 d	0.65 bc	0.40 c	0.12 d	1.12 bc	1.10 d

c.r., control relativo (sin inocular y con 60 kgN ha⁻¹). Aislados: RB1, de *Reseda luteola*; RB2, de *Asphodelus fistulosus*; RB3, de *Eruca sativa*; RB4, de *Aristida spp.* Medias corresponden a tres repeticiones. Valores con la misma literal, son estadísticamente iguales (DMS P<0.05).

Cuadro A.13. Efecto de la inoculación con *Pseudomonas putida* y *Glomus* spp. sobre el peso del trigo var. Pavón F-76 con 60 kgN ha⁻¹ y dos dosis de P en invernadero.

Tratamiento	Inoculación	kgP ha ⁻¹	P e s o s e c o (g)		
			Raíz	Vástago	Total
1. (c.a.)	0	0	0.55 d	0.69 d	1.23 d
2. (c.r.)	0	80	1.49 bcd	1.95 abc	3.44 cd
3.	G1	40	1.17 cd	2.03 abc	3.20 cd
4.	G1	80	1.11 cd	3.14 a	4.25 bc
5.	<i>P. putida</i> + G1	40	2.19 abc	2.09 abc	4.28 bc
6.	<i>P. putida</i> + G1	80	1.89 abc	2.16 ab	4.03 bc
7.	G2	40	1.64 bcd	3.14 a	4.78 bc
8.	G2	80	1.02 cd	1.94 bcd	2.96 cd
9.	<i>P. putida</i> + G2	40	2.00 abc	0.96 cd	2.96 cd
10.	<i>P. putida</i> + G2	80	2.63 a	1.91 bcd	4.57 bc
11.	G1 + G2	40	1.54 bcd	2.29 ab	3.83 bc
12.	G1 + G2	80	1.49 bcd	2.18 ab	3.68 bc
13.	<i>P. putida</i> + G1 + G2	40	2.76 a	3.03 a	5.79 b
14.	<i>P. putida</i> + G1 + G2	80	2.11 abc	2.32 ab	4.44 bc

c.a., control absoluto (sin inocular ni fertilizar); c.r., control relativo (sin inocular y con 120 kgN ha⁻¹ y 80 kgP ha⁻¹). Aislados: G1, *Glomus* spp. de *Reseda luteola*; G2, *Glomus* spp. de *Eruca sativa*. Medias corresponden a tres repeticiones. Valores con la misma literal, son estadísticamente iguales (Tukey, P<0.05).

Cuadro A. 14. Efecto de la coinoculación *Pseudomonas putida*/*Glomus* sobre la variables evaluadas en el vástago del trigo var. Pavón F-76 a diferentes niveles de N y P en campo.

Trata- miento	Inoculación ^a	Fertilización ^b		Variables evaluadas en el vástago		
		kgN ha ⁻¹	kgP ha ⁻¹	Nitrógeno total (%)	Fósforo total (%)	Peso seco (t ha ⁻¹)
1 (c.a.)	0	0	0	0.48 lm	0.05 cd	1.83 jk
2	P. p + G1	0	0	0.69 jkl	0.04 d	2.61 hij
3	P. p + G2	0	0	0.72 jkl	0.06 bcd	2.27 ijk
4	0	0	40	0.78 ijk	0.06 bcd	2.58 hij
5	P. p + G1	0	40	0.88 fgh	0.08 bcd	3.08 efg
6	P. p + G2	0	40	0.90 fgh	0.10 abc	3.08 efg
7	0	0	80	0.87 fgh	0.05 cd	2.59 hij
8	P. p + G1	0	80	0.85 fgh	0.09 abc	2.56 hij
9	P. p + G2	0	80	0.84 hij	0.08 bcd	3.30 efg
10	0	60	0	0.70 jkl	0.06 bcd	2.09 ijk
11	P. p + G1	60	0	0.58 klm	0.06 bcd	3.01 fgh
12	P. p + G2	60	0	0.75 ijk	0.08 bcd	2.97 fgh
13	0	60	40	0.82 ijk	0.08 bcd	2.69 fgh
14	P. p + G1	60	40	0.96 fgh	0.07 bcd	2.90 ghi
15	P. p + G2	60	40	1.00 efg	0.16 a	3.93 def
16	0	60	80	1.25 cde	0.06 bcd	4.21 def
17	P. p + G1	60	80	1.93 a	0.12 abc	4.19 def
18	P. p + G2	60	80	2.11 a	0.10 abc	3.92 def
19	0	120	0	0.92 fgh	0.07 bcd	2.27 ijk
20	P. p + G1	120	0	0.77 ijk	0.06 bcd	5.17 bcd
21	P. p + G2	120	0	0.44 m	0.05 d	4.05 def
22	0	120	40	0.90 fgh	0.06 bcd	4.15 def
23	P. p + G1	120	40	0.90 fgh	0.06 bcd	4.40 def
24	P. p + G2	120	40	0.94 fgh	0.10 abc	2.57 hij

Cuadro A.14.....continuación.

25 (c.r.)	0	120	80	1.12 def	0.10 abc	4.45 de
26	P. p + G1	120	80	0.92 fgh	0.11 abc	2.35 ijk
27	P. p + G2	120	80	0.87 fgh	0.07 bcd	3.37 efg
28	0	180	0	1.36 cd	0.10 abc	2.95 fgh
29	P. p + G1	180	0	1.31 cd	0.10 abc	4.50 cde
30	P. p + G2	180	0	1.43 def	0.08 bcd	2.11 ijk
31	0	180	40	1.50 c	0.11 abc	2.78 ghi
32	P. p + G1	180	40	1.52 c	0.12 abc	5.31 bcd
33	P. p + G2	180	40	1.30 cd	0.08 abc	5.40 bcd
34	0	180	80	1.11 def	0.12 abc	4.95 cde
35	P. p + G1	180	80	1.35 cd	0.10 abc	3.47 efg
36	P. p + G2	180	80	1.25 cde	0.11 abc	5.33 bcd

c.a., control absoluto; c.r., control relativo. ^a P.p, *Pseudomonas putida*; G1, *Glomus spp.* aislado de *Reseda luteola*; G2, *Glomus spp.* aislado de *Eruca sativa*. ^b N aplicado como urea, dosis recomendada, 120 kgN ha⁻¹; P, aplicado como superfosfato triple, dosis recomendada, 80 kgP ha⁻¹. ^c Media y error estándar de cuatro repeticiones. Valores con la misma literal, son estadísticamente iguales (Tukey, P<0.01).

Cuadro A. 15. Efecto de la coinoculación *Pseudomonas putida*/*Glomus* sobre la variables evaluadas en el grano del trigo var. Pavón F-76 a diferentes niveles de N y P en campo.

Trata- miento	Inoculación ^a	Fertilización ^b		Variables evaluadas en el grano		
		kgN ha ⁻¹	kgP ha ⁻¹	Nitrógeno total (%)	Fósforo total (%)	Rendimiento (t ha ⁻¹)
1 (c.a.)	0	0	0	1.31 kl	0.13 c	0.77 kl
2	P. p + G1	0	0	1.38 kl	0.15 bc	0.55 l
3	P. p + G2	0	0	1.51 jkl	0.14 c	0.48 l
4	0	0	40	1.41 kl	0.15 bc	1.10 jk
5	P. p + G1	0	40	0.92 l	0.15 bc	1.66 ghi
6	P. p + G2	0	40	1.53 jkl	0.14 c	0.87 kl
7	0	0	80	1.32 kl	0.16 bc	0.96 kl
8	P. p + G1	0	80	1.61 hij	0.15 bc	0.90 kl
9	P. p + G2	0	80	1.69 hij	0.16 bc	0.84 kl
10	0	60	0	2.03 fgh	0.14 c	0.99 kl
11	P. p + G1	60	0	2.42 cde	0.21 ab	1.23 ijk
12	P. p + G2	60	0	2.12 efg	0.22 ab	1.09 jk
13	0	60	40	1.95 fgh	0.14 c	2.03 efg
14	P. p + G1	60	40	3.21 ab	0.18 bc	2.53 cd
15	P. p + G2	60	40	2.59 abc	0.18 bc	2.08 def
16	0	60	80	2.43 efg	0.15 bc	1.91 fgh
17	P. p + G1	60	80	2.82 abc	0.16 bc	2.40 cde
18	P. p + G2	60	80	1.75 ghi	0.15 bc	1.78 gh
19	0	120	0	2.01 fgh	0.15 bc	2.09 def
20	P. p + G1	120	0	2.62 abc	0.17 bc	2.48 cde
21	P. p + G2	120	0	2.59 abc	0.17 bc	2.73 abc
22	0	120	40	2.46 bcd	0.17 bc	2.29 def
23	P. p + G1	120	40	2.28 def	0.16 bc	2.06 def

Cuadro A.15.....continuación.

24	P. p + G2	120	40	2.40 cde	0.16 bc	2.06 def
25 (c.r.)	0	120	80	2.58 abc	0.16 bc	2.58 cd
26	P. p + G1	120	80	1.43 jkl	0.16 bc	1.60 fgh
27	P. p + G2	120	80	1.59 ijk	0.17 bc	1.52 ghi
28	0	180	0	2.81 abc	0.17 bc	2.64 bc
29	P. p + G1	180	0	2.66 abc	0.18 bc	1.71 ghi
30	P. p + G2	180	0	3.01 abc	0.20 bc	1.55 hij
31	0	180	40	2.88 abc	0.17 bc	2.70 bc
32	P. p + G1	180	40	3.29 ab	0.20 bc	2.95 ab
33	P. p + G2	180	40	3.04 abc	0.19 bc	2.69 bc
34	0	180	80	2.89 abc	0.19 bc	2.79 abc
35	P. p + G1	180	80	3.21 ab	0.19 bc	2.76 abc
36	P. p + G2	180	80	3.23 ab	0.20 bc	2.10 def

c.a., control absoluto; c.r., control relativo. ^a P.p, *Pseudomonas putida*; G1, *Glomus spp.* aislado de *Reseda luteola*; G2, *Glomus spp.* aislado de *Eruca sativa*. ^b N aplicado como urea, dosis recomendada, 120 kgN ha⁻¹; P, aplicado como superfosfato triple, dosis recomendada, 80 kgP ha⁻¹. ^c Media y error estándar de cuatro repeticiones. Valores con la misma literal, son estadísticamente iguales (Tukey, P<0.01).

13529