



REVISIÓN [REVIEW]

OPCIONES DE MANEJO SOSTENIBLE DEL SUELO EN ZONAS ARIDAS: APROVECHAMIENTO DE LA HALÓFITA *Salicornia bigelovii* (Torr.) Y USO DE BIOFERTILIZANTES EN LA AGRICULTURA MODERNA

[SUSTAINABLE OPTIONS FOR SOIL MANAGEMENT IN ARID ZONES: USES OF THE HALOPHYTE *Salicornia bigelovii* (Torr.) AND BIOFERTILIZERS IN THE MODERN AGRICULTURE]

Edgar O. Rueda-Puente^{1*}, Félix A. Beltrán Morales² Francisco H. Ruíz Espinoza², Ricardo D. Valdez Cepeda³, José Luis García Hernández⁴, Narciso Y. Ávila Serrano², Leopoldo Partida Ruvalcaba⁶ y Bernardo Murillo Amador⁵

¹ Universidad de Sonora, División de Ciencias Administrativas Contables y Agropecuarias. Santa Ana, Sonora, México. Tel. 641/ 324/ 1120 – 324/ 1242.

² Universidad Autónoma de Baja California Sur. Departamento de Agronomía. La Paz, Baja California Sur, México Tel. 612/ 127-98-06.

³ Centro Regional Universitario Centro Norte, Universidad Autónoma Chapingo. Guest Researcher Unidad Académica de Matemáticas, Universidad Autónoma de Zacatecas. México. ⁴ Universidad Juárez del Estado de Durango-Facultad de Agricultura y Zootecnia, Venecia, Gómez Palacio, Durango, México. ⁵ Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Programa de Agricultura de Zonas Áridas. La Paz, Baja California Sur, México Tel. 612/ 123-84-84. +Estudiante de Posdoctorado. ⁶ Universidad Autónoma de Sinaloa-Facultad de Agronomía, km 17.5 de la Carretera Culiacán-Eldorado, Culiacán, Sinaloa, México, CP 80000.

Email: erueda04@santana.uson.mx

*Corresponding Author

RESUMEN

El estudio y desarrollo de recursos vegetales en ambientes áridos-salinos va en aumento. *Salicornia bigelovii*, es una halófito de gran interés. Sin embargo, la productividad de este tipo de plantas está limitada por la disponibilidad de nitrógeno. Una opción a la fertilización química figuran los microorganismos promotores del crecimiento y las micorrizas. En el presente estudio se evaluó el efecto de *Glomus intraradices*, tres cepas de rizobacterias (*Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus amyloliquefaciens* y *Azospirillum halopraeferens*) y dos tipos de suelos (arcilloso y arenoso) en salicornia, en invernadero. La inoculación de las bacterias bajo condiciones de suelo arenoso estimuló significativamente el crecimiento y factor nutrimental de *Salicornia* (NPK). Se observó sinergismo entre *G. intraradices* y las rizobacterias. Al inocularse en forma individual las bacterias, se comportaron con diferencias significativas. Existió sinergismo entre *G. intraradices* y *Klebsiella pneumoniae* y *A. halopraeferens*, en la captación de N; lo contrario ocurrió con *G. intraradices* y *Bacillus amyloliquefaciens* con altos valores significativos en la absorción de P y K. El tipo de suelo fue un factor determinante en el comportamiento y en la expresión del beneficio de los microorganismos. Las

rizobacterias y micorriza en estudio tienen potencial de uso como promotoras del crecimiento en salicornia.

Palabras clave: salinidad, recursos vegetales promisorios, rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, micorriza.

ABSTRACT

The study and development of plant resources in arid-saline environments is increasing. *Salicornia bigelovii* is a halophyte of great interest. However, the productivity of these plants is limited by nitrogen availability. An alternative to chemical fertilizers are the plant growth promoting bacteria and mycorrhizae. In the present study was evaluated the effect of *Glomus intraradices*, three strains of rhizobacteria (*Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus amyloliquefaciens* and *Azospirillum halopraeferens*) and two soil types (clayey and sandy) on *Salicornia* under greenhouse conditions. The inoculation of bacteria under conditions of sandy soil significantly stimulated growth and nutritional factor of *Salicornia* (NPK). Synergism was observed between *G. intraradices* and rhizobacteria. When inoculated bacteria in individually form, behaved with significant differences. There was synergism between *G. intraradices* and *Klebsiella pneumoniae* and *A. halopraeferens* in the uptake of N,

the opposite happened with *G. intraradices* and *Bacillus amyloliquefaciens* with high significant values in the absorption of P and K. The soil was a determining factor in behavior and expression of the benefit of the microorganisms. Rhizobacteria and

mycorrhiza in the study have potential for use as growth promoters in salicornia.

Key words: salinity, promising plant resources, plant growth-promoting rhizobacteria, mycorrhiza.

INTRODUCCIÓN

La Agricultura y Ganadería, con la venida de la Revolución verde, se transformó el patrón de sistemas de producción agrícola y por ende la del sector pecuario. La modernidad de la revolución verde cambió el patrón de cultivos y una nueva generación de productores agropecuarios perdió contacto con las experiencias aprendidas durante cientos de años. Sin embargo, en la actualidad (pleno siglo XXI), el sector agrícola y pecuario a nivel internacional, obliga a retomar varias prácticas sustentables para el bienestar de las futuras generaciones. A nivel mundial, la diversificación de los cultivos es un objetivo de la planeación, ya que existe la necesidad de intensificar los esfuerzos para incrementar el uso racional de los recursos naturales renovables a través de programas integrales. En este sentido, algunas áreas, cuentan con una variedad de especies de plantas, de las cuáles unas se desarrollan en desiertos y sistemas costeros. Plantas que en el proceso de evolución para sobrevivir a un ambiente árido-salino, han desarrollado propiedades únicas, muchas de las cuales son de interés económico importante y pueden ser aprovechadas en el corto plazo en la agroindustria (Murillo *et al.*, 2006; Rueda *et al.*, 2009c).

En 1790, Tomás Jefferson expresó: “El más grande servicio que puede rendirse a cualquier país, es agregar una planta útil a su cultura”. Para ello, la introducción de especies debe ensayarse en el mayor número de sitios posibles, el producto debe tener un valor económico y en su nuevo manejo debe producir mejor y con eficiencia. La Organización de Naciones Unidas, advierte que la transferencia de tecnología inapropiada causan más fallas que éxitos, aún cuando se requieren mayores insumos de alto costo a cambio de buscar favorablemente recursos locales sostenibles, que permitan producir una mayor biomasa competitivamente y transformarla en alimentos, asegurando que la región sea económica, ecológica, sociológica, etnológicamente sustentable (Murillo *et al.*, 2006; Rueda *et al.*, 2009c).

En base a lo anterior, y debido a que cerca del 50% del total de los suelos irrigados en el mundo están afectados por la salinización y/o alcalinización, lo cual se asocia a baja productividad de cultivos convencionales, es imprescindible orientar los esfuerzos de investigación para generar tecnologías agrícolas que innoven cultivos agroindustriales o bien

desarrollar recursos vegetales endémicos que posean alto potencial de agro-industrialización, y que gracias a su capacidad de producción en suelos salinos o condiciones de sequía, nos permitan optimizar la productividad del campo mexicano (Murillo *et al.*, 2006; Rueda *et al.*, 2009c).

En este sentido, las halófitas son plantas que se desarrollan en hábitats salinos, donde gracias a sus propiedades fisiológicas pueden absorber y mantener grandes cantidades de sales una parte por mil, mediante el proceso de regulación osmótica y almacenar sales en sus tejidos, o bien seleccionar a nivel radicular el paso de cierto tipo de iones (NaCl) (Gleen *et al.*, 1994). Jones (1998) menciona, que las halófitas se conforman por una amplia gama de especies (alrededor de 3,000), abarcando desde zacates, arbustos y matorrales, hasta el sistema ecológico de los mangles. Sin embargo, entre los géneros que más destaca se encuentra *Salicornia* spp. (Riley *et al.*, 1992). Los estudios correspondientes a esta planta indican que es una halófito que pertenece a la familia Chenopodiaceae y que en estado adulto es altamente tolerante a la salinidad (Terrence y Ungar, 1982; Jeyarany y Ungar, 1984; Wolf y Jefferiers, 1986). *Salicornia bigelovii* Torr. se ha propuesto como un sistema modelo para suelos con problemas de sales, donde la agricultura convencional no se puede desarrollar adecuadamente, por lo que es de interés estudiarla y desarrollarla como cultivo con perspectivas de explotación comercial. En estados como los de Baja California y Sonora, *S. bigelovii* tiene una amplia distribución a lo largo de sus costas, presentándose mediante una gama de ecotipos con variación fenotípica y un clima adecuado para su desarrollo que se demuestra por su abundancia y distribución, por lo que es de interés estudiar cada uno de ellos y desarrollarla como cultivo con perspectivas de explotación comercial.

En los mencionados estados, la actividad agropecuaria cada vez se intensifica más y un número elevado de familias depende de su desarrollo, pero las prolongadas sequías características de la zona y la escasez de forrajes limita en gran medida la producción de ganado. Además, la calidad del agua de riego y de los suelos está disminuyendo por el fenómeno de salinización. En el norte del estado de Sonora, el municipio de Santa Ana, así como en las áreas de agrícolas del Vizcaino de Baja California Sur, se caracterizan por ser un lugar en el cual durante años

se ha desarrollado la actividad agropecuaria, siendo ésta fundamental para el desarrollo económico regional. Sin embargo, la implementación de actividades agropecuarias en las mismas áreas, está conduciendo a un desequilibrio del balance natural de los ecosistemas.

Asimismo, es importante notar que, estudios previos concernientes a la producción de halófitas, la productividad de este tipo de plantas está limitada por la disponibilidad de nitrógeno, lo que tiene un evidente efecto en su crecimiento, reproducción y niveles de nitrógeno en biomasa, entre otros aspectos. Una solución para eliminar esta limitante sería la aplicación de fertilizantes sintéticos. Sin embargo, frecuentemente se cae en un inadecuado manejo y uso indiscriminado, lo cual afecta de una manera importante a la microflora del suelo, incluyendo los microorganismos benéficos (Hamdi, 1999).

Dentro de los microorganismos considerados benéficos, se destacan los que se consideran promotores del crecimiento y los hongos arbusculares micorrízicos. Estos se caracterizan por estar presentes en la rizósfera y por su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, solubilizar fosfatos y producir fitohormonas. Estas características son de alta repercusión en la productividad agrícola ya que potencialmente pueden reducir los costos de producción al disminuir o eliminar el uso de fertilizantes químicos. Entre los microorganismos fijadores de nitrógeno y/o productores de fitohormonas más estudiados se encuentran bacterias de los géneros *Rhizobium* spp., *Azotobacter* spp., y *Azospirillum* spp., mientras que el género *Glomus* sp., es uno de los hongos micorrízicos más sobresalientes como promotor de crecimiento vegetal. El género *Rhizobium* spp. se asocia a las plantas leguminosas. Por su parte, *Azotobacter* spp. es inespecífico mientras que *Azospirillum* spp. tiene especificidad para pastos, pero también se ha reportado una alta capacidad para asociarse con hortalizas como tomate y chile y con cactáceas. Por su parte el género *Glomus* sp., se le ha identificado más con gramíneas, leguminosas y hortalizas.

Uno de los modelos de estudio de interacción planta-microorganismo es el de planta-*Azospirillum*, ya que de los efectos más sobresalientes, son el promover en las diferentes especies de plantas (gramíneas principalmente), bajo condiciones de suelo y climas diferentes, un incremento en el peso total, en la cantidad de nitrógeno en granos y brotes, número de tallos, altura de planta, tasa de germinación y floración. No obstante lo anterior, es necesario ampliar el conocimiento de recursos microbianos procedentes de plantas endémicas de ambientes áridos salinos, explorando el efecto sobre plantas halófitas facultativas como *Salicornia bigelovii*, con la finalidad

de determinar la posible aplicación de estos microorganismos y su relación con la demanda de nitrógeno por parte de este tipo de plantas.

MATERIALES Y MÉTODOS

a) Colección de semillas de *S. bigelovii*

A finales de octubre de 2009, período en cual las plantas maduras de *S. bigelovii* liberan naturalmente sus semillas (Troyo-Diéguez *et al.*, 1994) se llevó a cabo la colecta seleccionando plantas maduras y secas de una población natural establecida en el estero denominado “Morúa” en la ciudad de Puerto Peñasco, Sonora, México (Figura 1); (Latitud Norte 31°17'38.66"N y Longitud Oeste 113°26'23.03"O). Con la finalidad de separar las semillas maduras, las plantas fueron maceradas en seco y cernidas. Se seleccionaron las semillas de mayor tamaño, así como de color uniforme y sin daños aparentes.



Figura 1. Localización del área de muestreo de plantas de *Salicornia bigelovii* en el estero “Morúa” en Puerto Peñasco, Sonora, México. Latitud Norte 31°17'38.66"N y Longitud Oeste 113°26'23.03"O. Fuente del mapa: [Google Earth](http://www.google.com/earth/)©2010.

Colecta de suelo arenoso y limoso

La colecta de suelo arenoso fue obtenida de la misma área de colecta de semilla de *Salicornia bigelovii*, mientras que el suelo arcilloso de una parcela alledaña a la de colecta de suelo arenoso. El suelo de textura arcilloso presentó las siguientes características: textura franca, con 20% de arena, 30% de limo y 50% de arcilla; pH de 7.6; contenido de nitrógeno total (0.17%) de acuerdo con el método de Kjeldahl (Moreno, 1978); contenido de materia orgánica (1.3%) determinado por el método de Walkley-Black (Etchevers *et al.*, 1971); contenido de potasio intercambiable (2.06 cmolc kg⁻¹), determinado con acetato de amonio a pH 7.0 (Etchevers *et al.*, 1971) y contenido medio de fósforo (9 mg kg⁻¹) según el

método de Olsen (SPAC, 1992). El suelo arenoso tuvo textura franco arcillo-arenosa (56% arena, 13% limo y 31% arcilla), pH de 8.2; contenido de materia orgánica (0.8%), nitrógeno total (0.08%), contenido de fósforo disponible (9 mg kg⁻¹) y contenido de potasio intercambiable (3.1 cmolc kg⁻¹). Una vez colectado el suelo, éste fue esterilizado y depositado en vasos de poliestireno con capacidad de 1 kg.

Germinación de semillas de *S. bigelovii*

Las semillas de *S. bigelovii* fueron sometidas a un protocolo de desinfección, por inmersión, con diversas concentraciones de hipoclorito de sodio: 1.5, 3.0 y 6% (v/v). Se encontró que inmersiones de 30 s en una concentración de 3% (v/v) de hipoclorito de sodio, el menor porcentaje de contaminación y un óptimo de germinación fueron iguales o superiores a 85% en comparación con los demás. Este protocolo se aplicó para las semillas de *S. bigelovii*, posteriormente fueron lavadas tres veces con agua destilada estéril. Las semillas se secaron después en papel absorbente esterilizado y germinadas en una charola de plástico con dimensiones de 1m², con arena de río lavada y esterilizada durante 24 h. El periodo de producción de plántula fue por 17 días. Los riegos fueron diariamente a saturación con agua destilada estéril con fines de promover la germinación de manera rápida y eficiente (Troyo *et al.*, 1994). Posterior a los 17 días después de la germinación y trasplante, los riegos fueron con agua potable y con una frecuencia de cada tercer día a saturación (pH: 7.1; salinidad 0.8 ppm; C.E. 1,194 dS/m; 0.108 (NO₂) µm/L; 87.27 (NO₃) µm/L).

Tratamientos de biofertilización en semillas de *S. bigelovii*

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus amilolyquefasciens* y *Azospirillum halopraeferens*, así como el inóculo de co-inoculación *Glomus intraradices*, se obtuvieron del Laboratorio Agrícola del campus Santa Ana de la Universidad de Sonora. La inoculación de las bacterias y de *G. intraradices*, se realizó en el momento del trasplante directamente sobre las raíces de 30 plántulas de salicornia, de 17 días de edad. Se empleó 1 mL de cultivo bacteriano correspondiente (10⁷ células mL⁻¹), con ayuda de una pipeta estéril y al mismo tiempo se aplicaron 5 g de *G. intraradices* (120 propágulos cm³). Las plantas se cosecharon a los 90 días después del trasplante y la inoculación. Se evaluó el peso fresco y seco de la parte aérea y de la raíz, así como el contenido de N, P y K (Rodríguez, 1993). La colonización de la co-inoculación con *Glomus* se determinó con la técnica de clareo y tinción de raíces (Phillips y Hayman, 1970; Chamizo *et al.*, 2006), para estimar la frecuencia de la colonización micorrízica (total, arbuscular y vesicular) de acuerdo con el

método propuesto por Chamizo *et al.* (2006), según Biermann y Linderman (1981). Se estableció un experimento factorial 2 x 2 x 3, correspondiente a suelo, micorriza y rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, respectivamente. Los niveles fueron: arenoso y limoso (suelo); con y sin co-inoculación (*G. intraradices*-micorriza); y sin rizobacterias y la inoculación individual de las tres rizobacterias. Para el análisis de datos se usó el análisis de varianza y la prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos conforme a la metodología previamente planteada, indican que en suelo arenoso el peso seco de parte aérea y raíz de plantas de *S. bigelovii*, son incrementadas significativamente con las rizobacterias en estudio o *Glomus intradices*, en comparación de aquellas desarrolladas en suelo arcilloso (Cuadro 1). Asimismo, la inoculación de las rizobacterias produjo efectos significativos ($P < 0.05$) en el peso fresco y seco de las plantas, lo cual indica una estimulación de crecimiento de las plantas establecidas en el suelo arenoso, donde el peso seco se mostró incrementado, con respecto a las plantas que no se inocularon con las rizobacterias. No obstante lo anterior, aún cuando la inoculación de las rizobacterias en suelo limoso haya estimulado el peso seco total, con respecto a las plantas sin la inoculación, los análisis estadísticos muestran nula diferencia significativa. En este sentido, el factor significativo lo mostró la inoculación de *G. intraradices* en las plantas, las cuales presentaron significativamente mayor peso fresco y seco con $P < 0.05$ en especial en suelo arenoso (Cuadro 1). De igual forma, en el Cuadro 1, se puede observar que las plantas inoculadas con *Glomus* en este suelo tuvieron incrementos hasta de un 50% en peso seco producido con respecto a las plantas sin la inoculación de *Glomus intradices*. En contraste, el efecto de *G. intraradices* sobre aquellas plantas establecidas en el suelo arcilloso, no se presentaron diferencias significativas, aún cuando aquellas inoculadas con *Glomus* arrojaron un 48% más peso seco que las plantas no inoculadas con la micorriza. La interacción micorriza con rizobacterias en suelo arenoso tuvo efectos significativos ($P < 0.05$), mientras que en el suelo arcilloso no se observaron efectos significativos por esta interacción (Cuadro 1). En el caso del suelo arenoso, la co-inoculación *Glomus* y rizobacterias produjeron incrementos significativos (Tukey, $P < 0.05$) en el peso seco de la parte aérea con respecto a los tratamientos testigo sin bacteria y con aquellos tratamientos en los que sólo se inoculó con las rizobacterias (Cuadro 1). Por lo anterior planteado, se observó un sinergismo significativo (Tukey, $P < 0.05$) entre la micorriza y rizobacterias en estudio. Lo anterior confirma con mayor claridad, al observar

nulos efectos significativos de estas bacterias cuando son inoculadas de manera individual, en comparación

con el testigo sin la inoculación de bacterias y sin la micorriza *G.intraradices* (Cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto de la inoculación por la micorriza (*Glomus intraradices*) y rizobacterias (*Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus amiloquefasciens* y *Azospirillum halopraeferens*) en plántulas de *Salicornia bigelovii*, sobre el peso fresco (gr) y peso seco (gr) de parte aérea y de la raíz.

| Inoculación de micorriza | Inoculación de rizobacterias | Suelo Arenoso | | | | Suelo Arcilloso | | | |
|----------------------------|------------------------------------|---------------|--------|---------|---------|-----------------|--------|---------|--------|
| | | PFFPA | PSPA | PFR | PSR | PFFPA | PSPA | PFR | PSR |
| Sin inocular | Testigo | 8.80 c | 1.00 c | 14.00 c | 3.00 b | 14.00 a | 2.00 a | 29.00 a | 2.80 a |
| | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 17.00 a | 3.40 a | 25.00 a | 3.00 b | 19.70 a | 4.00 a | 32.00 a | 3.00 a |
| | <i>Bacillus amiloquefasciens</i> | 13.00 ab | 2.70 b | 21.00 b | 4.60 a | 18.80 a | 4.84 a | 31.00 a | 1.80 a |
| | <i>Azospirillum halopraeferens</i> | 9.00 c | 1.80 c | 22.00 b | 2.00 c | 14.00 a | 2.70 a | 24.00 a | 2.00 a |
| <i>Glomus intraradices</i> | Testigo | 15.70 ab | 2.80 b | 29.00 a | 4.20 a | 17.00 a | 3.50 a | 29.00 a | 3.00 a |
| | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 20.30 a | 4.10 a | 29.20 a | 5.00 a | 19.00 a | 3.00 a | 28.00 a | 3.00 a |
| | <i>Bacillus amiloquefasciens</i> | 17.60 a | 4.00 a | 26.00 a | 4.00 a | 21.00 a | 4.70 a | 33.00 a | 2.70 a |
| | <i>Azospirillum halopraeferens</i> | 18.00 a | 4.70 a | 28.00 a | 2.80 bc | 16.00 a | 3.00 a | 28.00 a | 2.70 a |
| Significancia: | | | | | | | | | |
| Micorriza | | 0.01 | 0.01 | 0.05 | 0.05 | NS | NS | NS | NS |
| Rizobacteria | | 0.05 | 0.05 | 0.05 | NS | NS | NS | NS | NS |
| Micorriza x Rizobacteria | | 0.05 | 0.05 | 0.01 | 0.01 | NS | NS | NS | NS |

Medias con la misma literal en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$). PFFPA = peso fresco de la parte aérea; PSPA = peso seco de la parte aérea; PFR = peso fresco de la raíz; PSR = peso seco de la raíz.

Según los contenidos de Nitrógeno, Fósforo y Potasio (N, P y K) en las plantas de *Salicornia*, los resultados indican que las características físicas y químicas y la disponibilidad de nutrientes de los dos tipos de suelos, éste fue un factor primordial para el desarrollo de las plantas, ya que se logró obtener resultados significativos con $P < 0.05$. De igual manera, se observó que el suelo arenoso contribuyó en mayor contenido foliar de los tres macro-nutrientes en comparación con aquellas plantas establecidas en el suelo arcilloso (Figura 2). Asimismo, los resultados arrojaron efectos significativos con $P < 0.05$, en el contenido de N, P y K de las plantas, al inocular *Salicornia* con las rizobacterias en comparación con las plantas sin inoculación de rizobacterias (Figura 2), resultados que fueron significativamente mayores en las plantas desarrolladas en suelo arenoso, en comparación de aquellas crecidas sobre suelo arcilloso (Figura 2).

Un efecto semejante fue el obtenido con la inoculación de *G. intraradices* al generar efectos significativos ($P < 0.001$) en el contenido de N, P y K en plantas establecidas en suelo arenoso, en comparación con las plantas sin la inoculación de las rizobacterias y sin *G. intraradices* (Figura 2A). Asimismo, la inoculación de la micorriza promovió concentraciones hasta en un

300% más de N, P y K que las plantas inoculadas con las rizobacterias de manera individual (Figura 2A). No obstante lo anterior, cabe indicar que en suelo arenoso, se observó un sinergismo entre las rizobacterias en estudio y el hongo *Glomus*, con incrementos significativos en el contenido de N, P y K (Figura 2A).

En contraste, el efecto benéfico de la micorriza disminuyó en suelo arcilloso, ya que se observaron contenidos de N, P y K en las plantas, prácticamente similares a los obtenidos por la sola inoculación de las rizobacterias, aunque significativamente (Tukey, $\alpha = 0.05$) mayores a aquella obtenida para el testigo sin rizobacterias y sin *Glomus intraradices* (Figura 2B). El suelo arenoso produjo incrementos significativos en la colonización micorrízica arbuscular (total y arbusculos) en comparación con la colonización observada en las plantas establecidas en suelo arcilloso (Figura 3). Contrario al sinergismo observado de las rizobacterias y la micorriza en la estimulación del peso fresco y seco, y en la nutrición por N, P y K en plantas establecidas en suelo arenoso, la inoculación de rizobacterias produjo una disminución significativa (Tukey, $P < 0.05$) de la colonización total y de arbusculos en las células corticales de la raíz de *Salicornia* (Figura 3A).

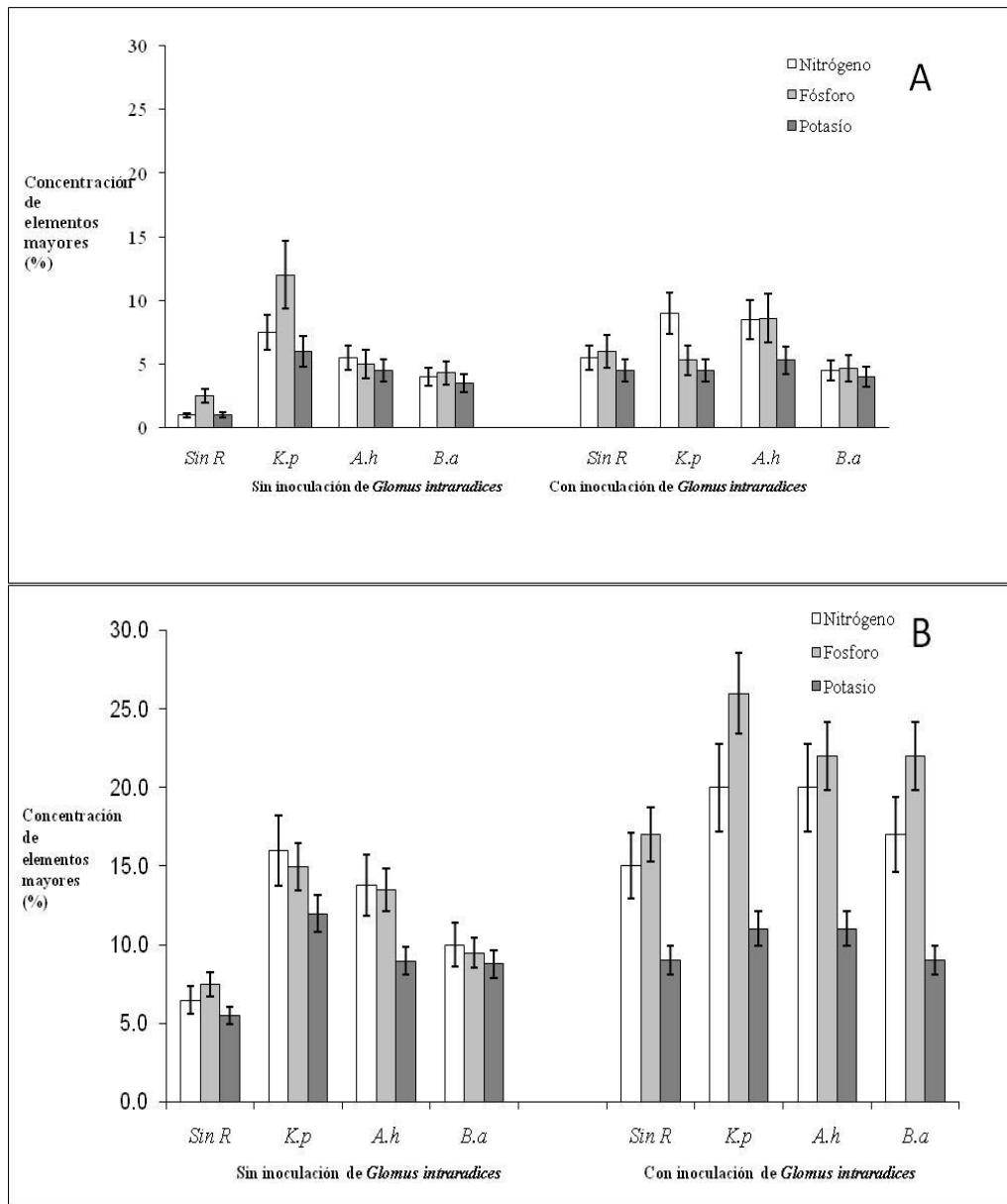


Figura 2. Efecto de la inoculación por la micorriza (*Glomus intraradices*) y rizobacterias (*Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus amiloquefasciens* y *Azospirillum halopraeferens*) en plántulas de *Salicornia bigelovii*, sobre el contenido de nitrógeno, fósforo y potasio en plantas de *Salicornia bigelovii*, en dos tipos de suelo, después de 90 días del trasplante e inoculación. A) suelo arcilloso y B) suelo arenoso. Simbología: Sin R = sin inoculación de rizobacterias; K.p = *Klebsiella pneumoniae*; A.h. = *Azospirillum halopraeferens*; B.a. = *Bacillus amiloquefasciens*; I = Barras de error estándar, n = 3.

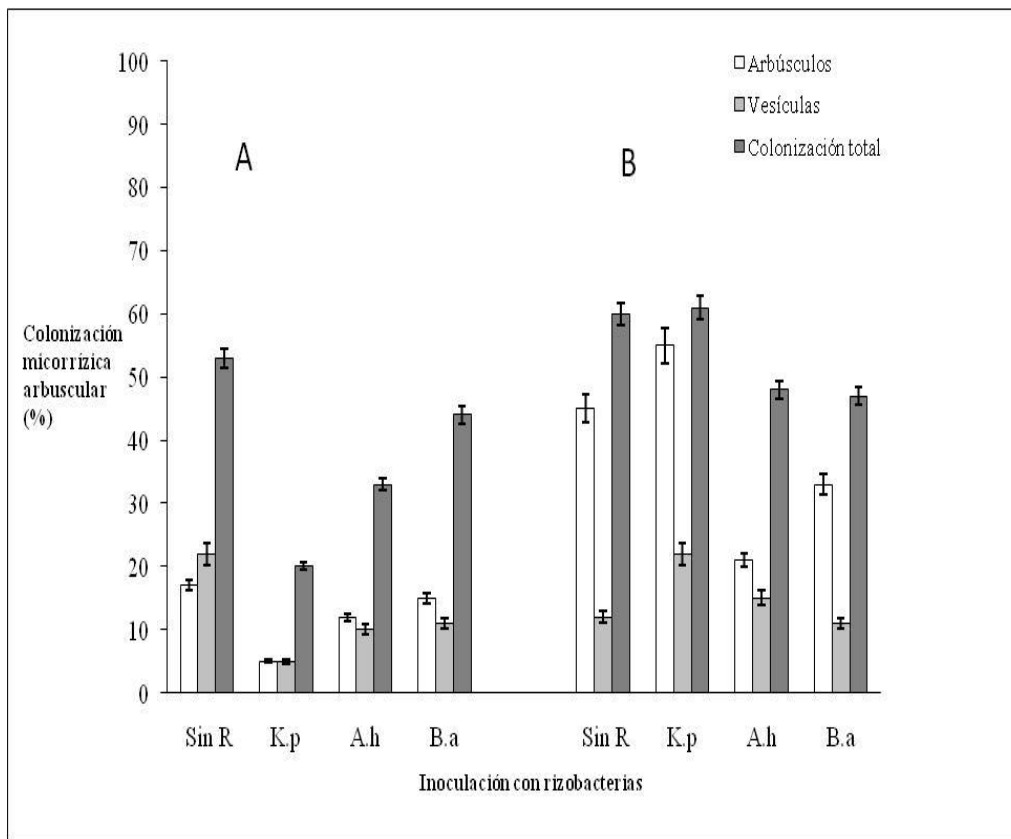


Figura 3. Colonización micorrízica de *Glomus intraradices* (arbuscular, vesicular y total) en plantas de *salicornia bigelovii* por efecto de la inoculación de tres rizobacterias en dos tipos de suelos, después de 90 días del trasplante e inoculación. A) suelo arcilloso y B) suelo arenoso. Simbología: Sin R = sin inoculación de rizobacterias; K.p = *Klebsiella pneumoniae*; A.h. = *Azospirillum halopraeferens*; B.a. = *Bacillus amiloquefasciens*; I = Barras de error estándar, n = 3.

Por su parte, la colonización por vesículas fue estimulada por las rizobacterias (Figura 3A). En el suelo arcilloso la colonización (total, arbuscular y vesículas) fue significativamente mayor (Tukey, $P < 0.05$) en las plantas con la sola inoculación de *G.intraradices* (Figura 3B). Aún cuando las rizobacterias estimularon la colonización, los valores de colonización fueron significativamente menores a las plantas inoculadas únicamente con *Glomus* (Figura 3B).

El efecto benéfico de los hongos micorrizcos arbusculares (HMA) en el desarrollo, crecimiento y nutrición de las plantas ha sido ampliamente documentado (Rodríguez-Elizalde *et al.*, 2000; Alarcón *et al.*, 2003; Cartmill *et al.*, 2007, Chamizo *et al.*, 2006; Rueda *et al.*, 2009b; Rueda *et al.*, 2010). Sin embargo, los estudios en los cuales se ha evaluado el efecto de la co-inoculación de estos hongos con rizobacterias en plantas, han mostrado variabilidad en sus efectos benéficos (Meyer y Linderman, 1986; Velasco *et al.*, 2001; Robles y Barea, 2004, Chamizo *et al.*, 2006). La simbiosis micorrízica arbuscular ejerce un efecto diferencial en las comunidades

microbianas que se desarrollan en la micorrizósfera (definida como la zona de suelo con influencia directa de la raíz y de las hifas de los hongos micorrizcos). Así, tanto la secreción de exudados de origen radical como de las hifas de los HMA, produce cambios significativos en la población de grupos fisiológicos de bacterias que pueden estimular el desarrollo y el crecimiento vegetal (Artursson *et al.*, 2006; Chamizo *et al.*, 2006). No obstante, los mecanismos por los cuales el efecto benéfico de una co-inoculación entre HMA y rizobacterias en plantas halófitas como *Salicornia bigelovii*, aun no han sido clarificados.

Linderman (1993) y Bethlenfalvay (1993) indican que la simbiosis micorrízica arbuscular promueve la proliferación de grupos funcionales de bacterias cuya actividad fisiológica se relaciona directamente con la fijación biológica del nitrógeno atmosférico, solubilización de fosfatos inorgánicos, bacterias productoras de compuestos antibióticos, bacterias y hongos antagonistas a fitopatógenos, bacterias productoras de sideróforos, etc. Todas estas interacciones bacterianas tienen también repercusión en la funcionalidad de los HMA al igual que las

propias características del hábitat donde las plantas se están desarrollando, por ejemplo el tipo de suelo (Bethlenfalvay, 1993; Smith y Read, 1997). En coincidencia con lo anterior, en el presente estudio se observó variabilidad de respuesta en plantas inoculadas con *G. intraradices*, al combinar de forma individual las tres bacterias (Cuadro 1).

Según las evidencias observadas, el suelo realiza un rol importante en la expresión de efectos favorables de la inoculación, tanto de la micorriza como de las rizobacterias y de su combinación, en las plantas de *Salicornia*. Lo anterior se puede relacionar con las características físico-químicas de ambos suelos, en la que el suelo arcilloso presentó menor pH, mayor contenido de materia orgánica, nitrógeno y fósforo, con respecto al suelo arenoso, repercutiendo en un efecto inhibitorio del efecto benéfico, tanto de las bacterias como de la micorriza, mas no en su colonización en la raíz. Asimismo por que un alto contenido de materia orgánica y de la fertilidad de un sustrato ejerce efectos negativos en la interacción de los HMA con otros microorganismos; rubro ampliamente documentado por Smith y Read (1997), Allen *et al.* (2003) Albertsen *et al.* (2006) y Rueda *et al.*, (2009ab). En este sentido nuestros resultados expresaron niveles significativamente menores tanto del crecimiento como del estado nutricional de las plantas establecidas en el suelo arcilloso, en comparación con el suelo arenoso.

Los resultados muestran que el efecto de *Glomus intraradices* es modificado al asociarse con rizobacterias, lo cual concuerda con Medina *et al.* (2003) y Chamizo *et al.* (2006). Además de estimular el crecimiento y la nutrición de las plantas de *Salicornia* por la inoculación de las rizobacterias, de *G. intraradices* y de la combinación de ambos tipos de microorganismos, también demuestra la influencia que tiene el tipo de suelo en la efectividad de la inoculación de microorganismos benéficos en la planta de *Salicornia*. Obteniendo que un suelo arenoso contribuye en mayor crecimiento y absorción de nutrimentos a partir de las fuentes nutrimentales disponibles para la planta, por efecto de los microorganismos inoculados, con respecto al suelo arcilloso. Por lo anterior, el tipo de suelo es un factor decisivo para el establecimiento de plantas, lo cual puede ser mejorado mediante la inoculación de rizobacterias y HMA, como mencionan Vázquez *et al.* (2000); Requena *et al.* (2001); Medina *et al.* (2003) y Robles y Barea (2004).

Asimismo, se encontró que la inoculación de las rizobacterias promovió significativamente el crecimiento de las plantas de salicornia con respecto a las plantas no inoculadas. Resultados que concuerdan con los de Díaz *et al.* (2001) y Rueda *et al.* (2003;

2004; 2010), al inocularlas en lechuga, *Salicornia* genotipo mejorado, *Salicornia* genotipo silvestre y chiltepín (*Capsicum annum var aviculare*), respectivamente, lo cual es indicativo de la variabilidad de hospedantes en los que pueden promover su crecimiento (Andrade *et al.*, 1997; Loredó-Osti *et al.*, 2004, Chamizo *et al.*, 1998). Lo anterior demuestra que las bacterias por sí solas tienen efectos diferenciales en las plantas, dependiendo de su estado de desarrollo y que, de esta forma, se justifica la variabilidad del efecto benéfico de las rizobacterias inoculadas en *Salicornia*.

CONCLUSIONES

Se observó variabilidad de respuesta en plantas de *Salicornia bigelovii* inoculadas con *G. intraradices*, al combinar de forma individual las tres rizobacterias (*Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus amiloquefasciens* y *Azospirillum halopraeferens*). La inoculación de la micorriza *Glomus intraradices* sobre plantas de *Salicornia*, estimuló significativamente el crecimiento y el estado nutricional (nitrógeno, fósforo y potasio), en particular en suelo arenoso. Asimismo, se observó sinergismo entre la micorriza y las rizobacterias *Klebsiella pneumoniae*, *A. halopraeferens* y *Bacillus amyloliquefaciens*. El tipo de suelo fue un factor determinante en el la expresión del beneficio hacia la planta, tanto por las rizobacterias como por *Glomus intraradices*. Finalmente cabe concluir que las rizobacterias *Klebsiella pneumoniae*, *A. halopraeferens* y *Bacillus amyloliquefaciens*, tienen potencial para ser utilizadas como promotoras del crecimiento de plantas de *Salicornia*; sin embargo, es importante estudiar con mayor énfasis cómo interactúan y compiten las bacterias promotoras de crecimiento y micorrizas con otros miembros de la comunidad microbiana nativa de la rizósfera de *Salicornia*, sobre todo si se pretende desarrollar un sistema de inoculación exitoso que pueda repercutir en la producción agrícola.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), en el programa: “Apoyo Complementario para la Consolidación Institucional de Grupos de Investigación” (Repatriación, Retención, Descentralización y Profesores Visitantes)” con clave 040147. Asimismo, un agradecimiento a Apoyos complementarios para la consolidación institucional de grupos de investigación (estancias de consolidación) 2007: clave: 74592 del Dr. Bernardo Murillo Amador-CIBNOR.

LITERATURA CITADA

- Alarcón, A., González-Chávez, M. C., Ferrera-Cerrato, R. 2003. Crecimiento y fisiología de *Citrus volkameriana* Tan & Pasq en simbiosis con hongos micorrízicos arbusculares. *Terra* 21:503-511.
- Albertsen, A., Ravnkov, S., Green, H., Jensen, D. F., Larsen, J. 2006. Interactions between the external mycelium of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and other soil microorganisms as affected by organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 38: 1008-1014.
- Allen, M. F., Swenson, W., Querejeta, J. I., Egerton-Warburton, L. M., Treseder, K.K. 2003. Ecology of mycorrhizae: a conceptual framework for complex interactions among plant and fungi. *An. Rev. Phytopathol.* 41: 271-303.
- Andrade, G., Mihara, K. L., Linderman, R. G., Bethlenfalvay, G.J. 1997. Bacteria from rhizosphere and hyphosphere soils of different arbuscular-mycorrhizal fungi. *Plant Soil* 192: 71-79.
- Artursson, V., Finlay, R. D., Jansson, J. K. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environ. Microbiol.* 8: 1-10.
- Bethlenfalvay, G. J. 1993. The mycorrhizal plant-soil system in sustainable agriculture. pp. 127-137. In: R. Ferrera-Cerrato y R. Quintero-Lizaola (eds.). *Agroecología, sostenibilidad y educación*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México.
- Biermann, B., Linderman, R.G. 1981. Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizae. A proposed method towards standardization. *New Phytol.* 87: 423-432.
- Cartmill, A. D., Alarcón, A., Valdez-Aguilar, L.A. 2007. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance tolerance of *Rosa multiflora* cv. Burr to bicarbonate in irrigation water. *J. Plant Nutr.* 30: 1517-1540.
- Chamizo, A., Ferrera-Cerrato, R., Varela, L. 1998. Identificación de especies de un consorcio del género *Glomus*. *Rev. Mex. Micol.* 14: 37-40.
- Chamizo, A., Ferrera-Cerrato, R., González-Chávez, M. C., Ortiz-Solorio, C.A., Santizo-Rincón, J. A., Varela, L., Alarcón, A. 2006. Inoculación de alfalfa con hongos micorrízicos Arbusculares y rizobacterias en dos tipos de suelo *Terra Latinoamericana* 27: 197-205.
- Díaz, V.P., Ferrera-Cerrato, R., Almaraz-Suárez, J. J., Alcántar González, G. 2001. Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. *Terra* 19: 327-335.
- Etchevers, B., Espinoza, W. G., Riquelme, E. 1971. Manual de fertilidad y fertilizantes 2ª ed. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía. Chillán, Chile.
- Glenn, E., Lewis T., Moore, D. 1994. Synthesis of selected research results on *Salicornia bigelovii*. Halophyte Enterprises, Inc., 60 p.
- Jeyarani, P., Ungar, I. 1984. The effect of seed dimorphism on the germination and survival of *Salicornia europaea* L. populations. *American Journal Botany*, 71: 542-549
- Jones, R. 1998. Irrigating crops with seawater. Scientific American feature article. Research Laboratory Tucson, Arizona, 20 p
- Linderman, R. G. 1993. Effects of microbial interactions in the mycorrhizosphere of plant growth and health. pp. 138-152. In: R. Ferrera-Cerrato y R. Quintero-Lizaola (eds.). *Agroecología, sostenibilidad y educación*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México.
- Loredo-Osti, C., López-Reyes, L., Espinosa-Victoria, D. 2004. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: una revisión. *Terra Latinoamericana* 22: 225-239.
- Medina, A., Probanza, A., Gutierrez-Mañero, F. J., Azcón, R. 2003. Interactions of arbuscular - mycorrhizal fungi and *Bacillus* strains and their effects on plant growth, microbial rhizosphere activity (thymidine and leucine incorporation) and fungal biomass (ergosterol and chitin). *Appl. Soil Ecol.* 22: 15-28.
- Meyer, J. R., Linderman, R. G. 1986. Response of subterranean clover to dual inoculation with vesicular-arbuscular fungi and a plant growth-promoting bacterium, *Pseudomonas putida*. *Soil Biol. Biochem.* 18: 185-190.
- Moreno, D. R. 1978. Clasificación de pH del suelo, contenido de sales y nutrientes asimilables. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria-Secretaría

- deAgricultura y Recursos Hidráulicos. México, D. F.
- Murillo-Amador, B., Hamlyn, G., Cengiz, K., López Aguilar, R., García Hernández, J., Troyo Diéguez, E., Avila Serrano, N., Rueda Puente, E. 2006. Effects of foliar application of calcium nitrate on growth and physiological attributes of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) grown under salt stress. *Environmental and Experimental Botany* 58: 188-196.
- Phillips, J. M., Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment to infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 158-161.
- Requena, N., Pérez-Solís, E., Azcón-Aguilar, C., Jeffries, P., Barea, J. M. 2001. Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of decertified ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 495-498.
- Riley, J., Watson, M., Moore, D. 1992. Halophyte collection list of accessions. *Environmental research laboratory University of Arizona*, p 1-6.
- Robles, C., Barea, J. M. 2004. Respuesta de la planta y del suelo a inoculación con *Glomus intraradices* y rizobacterias en maíz en cultivo intensivo. *Terra Latinoamericana* 22: 59-69.
- Rodríguez, S. J. 1993. La fertilización de los cultivos, un método racional. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.
- Rodríguez-Elizalde, M. A., Mejía-Muñoz, J. M., Ferrera-Cerrato, R., Ruiz-Salazar, J., Alarcón, A. 2000. Micorriza arbuscular, fertilización y vermicomposta en el crecimiento vegetativo de *Gerbera jamesonii*. pp. 170-178. In: A. Alarcón y R. Ferrera- Cerrato (eds.). *Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular*. Mundi-Prensa, México, D. F.
- Rueda-Puente, E. O., Murillo-Amador, B., Castellanos-Cervantes, T., García-Hernández, J., Tarazón-Herrera, M., Moreno Medina, S., Gerlach Barrera, L. 2010. Effects of plant growth promoting bacteria and mycorrhizal on *Capsicum annuum* L. var. *aviculare* ([Dierbach] D'Arcy and Eshbaugh) germination under stressing abiotic conditions. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 724-730.
- Rueda-Puente E. O., Barrón-Hoyos J., Jojanes Halmann. 2009a. *Bacterias Promotoras Del Crecimiento Vegetal*. Editorial Plaza y Valdes. México D.F.112 p.
- Rueda-Puente Edgar O., Villegas-Espinoza, J.A., Gerlach-Barrera, L.E., Tarazón-Herrera, M.A., Murillo-Amador, B., García-Hernández, J., Troyo-Diéguez, E., Preciado-Rangel, P. 2009b. Efecto de la inoculación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal sobre la germinación de *Salicornia bigelovii*. *Terra Latinoamericana* 27: 345-354.
- Rueda-Puente E. O., Barrón-Hoyos J., Tarazón-Herrera M., Preciado-Rangel, P. 2009c. La Salinidad: Un Problema o Una Opción Para La Agricultura?. Editorial Plaza y Valdes. México D.F. 264 p.
- Rueda-Puente Edgar O., Castellanos, T., Troyo, E., De León, J. 2004. Effect of *Klebsiella pneumoniae* and *Azospirillum halopraeferens* on the growth and development of two *Salicornia bigelovii* genotypes. *Aust. J. Exp. Agric.* 44 65-74.
- Rueda Puente, E., Castellanos, T., Troyo Diéguez, E., Díaz de León-Alvarez, J. L., Murillo Amador, B. 2003. Effects of nitrogen-fixing indigenous bacterium (*Klebsiella pneumoniae*) on the growth and development of the halophyte *Salicornia bigelovii* as a new crop for saline environments. *J. Agron. Crop Sci.* 189: 323-332.
- Smith, S. E., Read, D. J. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. 2nd ed. Academic Press. San Diego, CA, USA.
- SPAC (Soil and Plant Analysis Council). 1992. *Handbook on reference methods for soil analysis*. Athens, GA, USA.
- Terrence, E., Ungar, I. 1982. Growth and ion accumulation in *Salicornia europaea* under saline field conditions. *Oecología*, 54: 193-199
- Troyo, D., Ortega-Rubio, A., Maya, Y., León, J.L. 1994. The effect of environmental conditions on the growth and development of the oilseed halohyte *Salicornia bigelovii* Torr in arid Baja California Sur, Mexico, *Journal of Arid Enviroments*, 28: 207-213.

- Velasco V., Ferrera-Cerrato, J.R., Almaraz-Suárez, J.J. 2001. Vermicomposta, micorriza arbusculary *Azospirillum brasilense* en tomate de cáscara. *Terra* 19: 241-248.
- Vázquez, M. M., Rzcón, C., Barea, J. M. 2000. Interactions between mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial populations and enzyme activities in the rizosphere of maize plants. *Appl. Soil Ecol.* 15: 261-272
- Villegas Espinoza J., Rueda Puente, E. Murillo Amador, B., Puente, E., Grimaldo Juarez, O., Aviles Marin, Ponce Medina, J. 2009. Effect of the inoculation of *Azospirillum halopraeferens* y *Bacillus amiloliquefasciens* in germination of *Prosopis chilensis*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 12:19-32.
- Wolff, S., Jefferiers, R. 1986. Taxonomic status of dipliod *Salicornia europaea* (s.i.) (Chenopodiaceae) in northeastern North America. *Canadian Journal Botany*, 65: 1420-1426

Submitted July 15, 2009– Accepted July 02, 2010
Revised received October 20, 2010