



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

FACTORES QUE AFECTAN EL ESTABLECIMIENTO DE
PLANTULAS DE CARDON (*Pachycereus pringlei*) EN ASOCIACION
CON SUELO DE MEZQUITE (*Prosopis articulata*)

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Ecología de Zonas Áridas)

presenta

Angel Edgardo Carrillo García

La Paz, B.C.S., Marzo del 2001.

ACTA DE REVISION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 8:00 horas del día 09 del Mes de marzo del 2001, se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., para revisar la Tesis de Grado titulada:

Factores que afectan el establecimiento de plántulas de cardon (*Pachycereus pringlei*) en asociación con suelo de mezquite (*Prosopis articulata*)

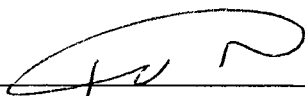
Presentada por el alumno:

Angel Edgardo Carrillo García

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN Ecología de Zonas Aridas

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA



Dr. Yoav Bashan
DIRECTOR DE TESIS



Dr. Ching Y. Li
CO-TUTOR



Dr. Jose Luis Leon de la Luz
CO-TUTOR



DR. SERGIO HERNANDEZ VAZQUEZ,
DIRECTOR DE ESTUDIOS DE POSGRADO

RESUMEN

Actividades mal desarrolladas como la agricultura y la ganadería, aunadas a temperaturas extremas y a la falta de agua y nutrientes, propician el deterioro del suelo. En ambientes desérticos, algunos suelos son transformados por ciertas plantas de manera tal que son capaces de promover el desarrollo inicial y la sobrevivencia de otras plantas que normalmente no se establecen en áreas adyacentes desprovistas de vegetación. Este fenómeno es conocido como efecto nodriza y son diversos los factores que lo propician. Quizás la asociación mejor documentada en zonas desérticas es la de leguminosas-cactáceas.

Este estudio toma como referencia algunos antecedentes que definen al suelo de mezquite como rico en nutrientes y materia orgánica, además de presentar una mejor retención de humedad gracias a los materiales finos que lo componen (arcillas). Esto se corroboró con un análisis de nutrientes (nitrógeno, fósforo y carbón) realizado en cuatro diferentes tipos de suelo; suelo obtenido bajo árboles de "mezquite maduro", "mezquite joven", palo fierro y de área desprovista de vegetación (SMM, SMJ, SPF, SADV, respectivamente), encontrándose el siguiente patrón: SMM>>SMJ>SPF≥SADV. En cuanto a su composición granulométrica el SMM posee la textura más fina y el SADV la más gruesa, el patrón es parecido al de nutrientes y podría ser considerado como un patrón de calidad del suelo. El término "maduro" se refiere a su capacidad como nodriza y no a su capacidad reproductiva.

En este estudio se determinó la respuesta de plántulas de cardón *Pachycereus pringlei*, una cactácea columnar, a cuatro suelos diferentes; SMM, SMJ, SPF, SADV. Las plántulas de cardón se inocularon con una bacteria promotora del crecimiento en plantas (*Azospirillum brasilense*) y se sometieron a un régimen de competencia con *Sorghum bicolor* (sorgo). También se determinó la influencia de la radiación solar y diversos macronutrientes (nitrógeno, fósforo y potasio) sobre el crecimiento y sobrevivencia de estas plántulas. Por último, se estudió la influencia de *Azospirillum brasilense* sobre la acidificación de la rizósfera de plántulas de cardón y se comparó con el efecto que producen dos fuentes de nitrógeno (NH_4^+ , NO_3^-), esta acidificación puede influir en la movilización de algunos nutrientes.

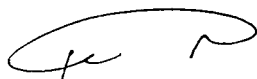
En general, las plántulas cultivadas en SMM mostraron un mejor desarrollo. La competencia con sorgo no afectó la sobrevivencia ni la biomasa acumulada del cardón en ninguno de los suelos. La inoculación de las semillas de cardón con *Azospirillum brasilense* no afectó la sobrevivencia de las plántulas, pero sí mejoró significativamente su desarrollo conforme la calidad del suelo disminuyó. La radiación solar no afectó la sobrevivencia de las plántulas de cardón cultivadas en SMM, aunque su desarrollo sí se vio afectado. Las plántulas que crecieron en el suelo más pobre (SADV) respondieron mejor a la fertilización con nitrógeno (>200%), lo cual es muy semejante al crecimiento

de las plántulas en SMM sin la adición de nitrógeno. En cuanto a la acidificación de la rizósfera, las plántulas que fueron inoculadas con *Azospirillum brasilense* y expuestas a un promotor (NH_4^+) de la actividad de la bomba de protones, presentaron valores de pH más bajos que las que fueron expuestas a cada uno de estos dos factores por separado. En un experimento realizado en suelo, hubo una mayor disolución de una fuente de fósforo insoluble en los tratamientos que incluyeron los mismos dos factores, lo cual coincidió con los valores de pH encontrados en la rizósfera de las plántulas. Este fenómeno puede ser de gran utilidad en un programa de reforestación en donde cualquier circunstancia que acelere el crecimiento de las plantas es de particular importancia.

En este trabajo se pudo concluir que la naturaleza del suelo en que crecen las plántulas de cardon es importante para su establecimiento y su crecimiento, al menos en las etapas tempranas de su desarrollo. Además, el suelo de mezquite "maduro" resulto ser el mejor promotor del crecimiento en plantas de cardon que los demás suelos evaluados. También se corroboró la actividad de *Azospirillum* como promotor del crecimiento en cactáceas y en el incremento en la acidificación de la rizosfera.

Palabras clave: Isla de recursos, *Prosopis articulata*, *Azospirillum*.

Director de tesis



Dr. Yoav Bashan

ABSTRACT

Activities like livestock grazing and slash and burn agriculture, together with extreme temperatures and lack of water and nutrients, promote soil deterioration. In natural desert environments, soils are transformed by some plants at a level in which they can enhance survival and growth of other plants that usually do not establish in areas with no vegetation (bare area). This plant facilitation is also known as nurse effect and several factors are involved. Perhaps the legume-cacti is the most documented association in desert environments.

This study is based in some references that define mesquite soil as rich in nutrients and organic matter, and high water retention because of the fine materials of which it is composed (i.e. clay). A nutrient (nitrogen, phosphorus and carbon) and texture analysis of four different types of soil ("mature" mesquite, "young" mesquite, ironwood, and bare area soil; MM, YM, IW, and BA soil, respectively) was performed to determine the quality pattern; $MM \gg YM > IW \geq BA$. MM soil is mainly composed by fine materials while BA soil by coarser ones, and the pattern is similar to the nutrients one. Such pattern could be considered as a soil quality pattern. Maturity is related to its nurse capacity and not to its reproductive capacity.

This work studied cardon (*Pachycereus pringlei*) seedlings response to four different types of soil; MM, YM, IW, and BA soil. Some cardon plants were inoculated with a plant growth promoter bacteria (*Azospirillum brasilense*) and exposed to a competition regimen with *Sorghum bicolor* (sorghum). Effects of solar radiation and several nutrients (nitrogen, phosphorus, and potassium) on cardon seedlings survival and growth, were also evaluated. Finally, the effect of *Azospirillum* inoculation on cardon plant rhizosphere acidification was determined and compared with the effect of two nitrogen sources (NH_4^+ , NO_3^-), such acidification could mobilized some nutrients into more available forms.

In general, cardon plantlets grown in MM soil showed better development. Competition with sorghum did not affect survival nor plant dry mass in any of the four soils. Cardon seeds inoculation with *Azospirillum brasilense* did not affect plant survival but significantly improved plant growth as soil quality decrease. Solar radiation did not affect survival of cardon seedlings grown in MM soil, although, it affect their development. Cardon plants grown in BA soil showed a better response to nitrogen fertilization (>200%), which is similar to the growth exhibit by the plants grown in MM soil with no nitrogen added. Cardon plantlets inoculated with *Azospirillum* and another proton pump activity promoter (NH_4^+) showed lower rhizosphere pH values than plants exposed separately to the same two factors. The same two factors promote a higher dissolution of $FePO_4 \cdot 2H_2O$ when included together in a soil experiment. This phenomena can be of a major importance in a restoration program where any factor that accelerate plant growth is always welcome.

The main conclusions of this work are that the nature of the soil that receives the cardon seedlings matters to their survival and development, "mature" mesquite soil showed to be the best substrate for survival and plant growth promotion among other soils also evaluated, and finally, *Azospirillum* was confirmed as a promoter for cactus plants growth and rhizosphere acidification.

Key words: Resource island, *Prosopis articulata*, *Azospirillum*

DEDICATORIA

Este trabajo esta dedicado a las dos fuerzas que motivan mi crecimiento como ser humano y como profesionista:

- Mi esposa, Lourdes Morquecho.
- Mi familia.

A mi esposa por ser el alimento que mi espíritu necesita para emprender grandes metas y por su ejemplo de honestidad y profesionalismo.

A mi madre que con su ejemplo me enseñó que la calidad (humana y profesional) es una virtud que tenemos que mantener vigente todos los días de nuestra vida en cualquier empresa que iniciemos.

A mis hermanos (Iván, Hugo, Jessica y Benjamín) por el profundo amor que les profesó y que me motiva a no defraudarlos.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Gabor J. Bethlenfalvay le expreso mi más profundo agradecimiento por haberme enseñado el camino.

A Marina Bethlenfalvay quien junto con Gabor tocaron mi vida con su gran calidad humana.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el descanso que significó su apoyo financiero en la realización de este trabajo.

A las autoridades del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste de quienes sin su apoyo mi formación como Maestro en Ciencias no se hubiera dado en los tiempos y en la forma en que se dio.

Al Dr. Yoav Bashan porque su estímulo sirvió para hacer de esta una tarea interesante.

Al resto del comité tutorial (Dr. Jose Luis Leon de la Luz, Dr. Ching Y. Li) por su valiosa guía en la ejecución de este trabajo.

A los compañeros y amigos del laboratorio de Microbiología Ambiental.

A la familia Murillo Cadena por hacerme sentir un miembro más de su familia y por haberme hecho participe de su gran calidad espiritual.

INDICE

Introducción	1
Materiales y métodos	
- Lugar de estudio	9
- Sitios de Muestreo	9
- Toma de Muestras de Suelo	10
- Cultivo Bacteriano	11
- Obtención de plantas	12
- Efecto de cuatro suelos diferentes sobre el establecimiento y crecimiento de plántulas de cardon	13
- Supervivencia y crecimiento de plántulas de cardon en competencia con sorgo cultivadas en cuatro suelos diferentes	15
- Influencia de la radiación solar en el crecimiento y supervivencia de plántulas de cardon en suelo de mezquite	17
- Efecto de la inoculación de una cepa de <i>Azospirillum brasilense</i> sobre el crecimiento de plántulas de cardon	19
- Respuesta de plántulas de cardon a la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio cultivadas en suelo pobre en estos nutrientes	22
- Acidificación de la rizosfera de plántulas de cardon como respuesta a la inoculación con <i>Azospirillum brasilense</i> y dos fuentes de nitrógeno	24
- Condiciones de crecimiento para el cultivo de plántulas de cardon en solución mineral	24

-	Obtención de plantas	24
-	Soluciones de cultivo, potencial de agua (Ψ_w)	25
-	Procedimiento (sistema de placas multi-pozo)	28
-	pH	29
-	Sistema de placas Petri	30
-	Experimento <i>in vitro</i> para evaluar la acidificación del rizosfera de plántulas de cardon	32
-	Soluciones y tratamientos	32
-	Procedimiento	33
-	Experimento en suelo para estimar la acidificación de la rizosfera de plántulas de cardon	35
-	Preparación del suelo	35
-	Procedimiento	36

Resultados

-	Efecto de cuatro suelos diferentes sobre el establecimiento y crecimiento de plántulas de cardon	38
-	Sobrevivencia y crecimiento de plántulas de cardon en competencia con sorgo cultivadas en cuatro suelos diferentes	38
-	Efecto de la inoculación de una cepa de <i>Azospirillum brasilense</i> sobre el crecimiento de plántulas de cardon	38
-	Influencia de la radiación solar en el crecimiento y sobrevivencia de plántulas de cardon en suelo de mezquite	43

-	Respuesta de plántulas de cardon a la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio cultivadas en suelo pobre en estos nutrientes	46
-	Acidificación de la rizosfera de plántulas de cardon como respuesta a la inoculación con <i>Azospirillum brasilense</i> y dos fuentes de nitrógeno	50
-	Condiciones de crecimiento para cultivar plántulas de cardon en solución	50
-	Experimento <i>in vitro</i> para estimar la acidificación de la rizosfera de plántulas de cardon	53
-	Experimento en suelo para determinar la acidificación de la rizosfera en plántulas de cardon y su efecto en la solubilización de una fuente de fósforo	55
	Discusión	59
	Conclusiones	71
	Bibliografía	73
	Apéndice	83

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1. Crecimiento de plántulas de *Pachycereus pringlei* (cardon) en cuatro diferentes suelos.
- Fig. 2. Correlación de los contenidos de materia seca acumulada en el tallo de plantas de cardon y sorgo.
- Fig. 3. Plántulas de cardon cultivadas en suelo de isla de recursos (mezquite) o suelo de área sin vegetación, en tratamiento de sombra o expuestos completamente al sol.
- Fig. 4. Efecto de la sombra en la sobrevivencia y crecimiento de plántulas de cardon en dos suelos diferentes durante 6 meses.
- Fig. 5. Plántulas de cardon cultivadas en suelo de área sin vegetación (control) o fertilizadas con N, P, K o NPK.
- Fig. 6. Respuesta de las plantas de cardon a la fertilización con N, P, K o NPK expresada como porcentaje de cambio [$\% \Delta$, $100 \times (\text{nutriente-control}) / \text{control}$].
- Fig. 7. Materia seca acumulada en las plantas de cardon cultivadas durante 20 días en placas multi-pozo con solución mineral de Hoagland al 25% o polietilenglicol (PEG) a $\Psi_w = -0.2$ MPa y tres valores de pH; 5.0, 5.5 y 6.0.
- Fig. 8. Materia seca acumulada en las plantas de cardon cultivadas durante 15 días en placas Petri con solución mineral de Hoagland al 25% o polietilenglicol (PEG) a $\Psi_w = -0.2$ MPa y tres valores de pH; 5.0, 5.5 y 6.0.
- Fig. 9. Diferencias entre el pH inicial y final (Δ pH) de las soluciones donde se cultivaron las plántulas de cardon (C) con una fuente de amonio (NH_4^+) o de nitrato (NO_3^-). Las plantas de algunos tratamientos fueron inoculadas con *Azospirillum brasilense* (Ab).
- Fig. 10. pH de la rizosfera de plantas de cardon (C) cultivadas en suelo con una fuente de fósforo altamente insoluble (FePO_4). Las plantas de algunos tratamientos fueron inoculadas con *Azospirillum brasilense* (Ab) y una fuente de amonio (NH_4^+) o de nitrato (NO_3^-).
- Fig. 11. FePO_4 disuelto por plantas de cardon (C) inoculadas con *Azospirillum brasilense* (Ab) e irrigadas con una fuente de amonio (NH_4^+) o de nitrato (NO_3^-).
- Fig. 12. Producción de materia seca en las plantas de cardon (C) cultivadas en suelo con una fuente de fósforo altamente insoluble (FePO_4). Las plantas de algunos tratamientos fueron inoculadas con *Azospirillum brasilense* (Ab) y una fuente de amonio (NH_4^+) o de nitrato (NO_3^-).

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Supervivencia y características del tallo de plantas de cardon cultivadas en cuatro diferentes suelos. Tratamiento con *Azospirillum* (+Ab), tratamiento con sorgo (+S).

Tabla II. Materia seca, longitud de raíz y relación raíz/tallo de plantas de *Pachycereus pringlei*.

Tabla III. Respuesta de plantas de cardon cultivadas en suelo de área sin vegetación o fertilizadas. Los números representan las medias y el (error estándar) de seis repeticiones.

Tabla IV. Características de suelos provenientes de cuatro distintos micrositios dentro de un área perturbada.

Tabla V. Solución mineral de Hoagland.

INTRODUCCION

En la actualidad, actividades (como la ganadería y la agricultura) mal aplicadas en un ecosistema tan frágil como el de las zonas áridas aceleran su deterioro. Este es un problema complejo ya que es el reflejo de una sociedad viviendo en un medio en pleno proceso de deterioro con pocas expectativas de solución debido a la escasez de recursos financieros y a que estas y otras actividades “perjudiciales” forman parte de nuestra identidad como sociedad. Algunas comunidades vegetales de zonas desérticas y forestales se han convertido en zonas perturbadas gracia a la actividad humana (Warren et al. 1996), haciendo necesaria una mayor comprensión de los mecanismos que operan en ecosistemas naturales de tal forma que las áreas perturbadas puedan restaurarse estabilizado así el ambiente (Grover y Musick 1990, Agnew y Warren 1996),

La restauración del hábitat puede hacer uso de plantas que estabilicen el suelo, mejoren su calidad, y con el tiempo produzcan un microambiente favorable para el establecimiento sucesivo de otras especies vegetales (Bradshaw y Chadwick 1980, Marquez y Allen 1996). Esta facilitación para el establecimiento de plantas, promovida por plantas nodriza, es particularmente abundante en ambientes frágiles y difíciles, como los desiertos (Pugnaire y Haase 1996), donde las consecuencias de la intrusión del hombre pueden ser particularmente graves (Niering et al. 1963, Agnew y Warren 1996).

Algunas plantas, como el pasto *Spartina alterniflora*, en las salinas de Nueva Inglaterra, aminoran el impacto producido por condiciones ambientales adversas

modificando el suelo (Gurney y Lawton 1996). Además, la interacción entre ciertas plantas (principalmente nodrizas), microorganismos e insectos, entre otros factores, dirigen la transformación física y química del suelo (Tiedman y Klemmedson 1973, Bart y Klemmedson 1982, Besky et al. 1989, Vinton y Burke 1995, Jones et al. 1997). Este proceso de modificación del suelo también puede favorecer el establecimiento de otras plantas, ya sea que su sobrevivencia dependa o no de la disponibilidad de una nodriza (Pugnaire y Haase 1996, Callaway y Walker 1997).

Cuando el suelo transportado por el viento se deposita bajo sus doseles (Armbrust y Bilbro 1997), algunas leguminosas arbóreas del desierto influyen en el desarrollo del suelo alterando sus propiedades físicas y químicas (Virginia 1986, Halvorson et al. 1995) produciendo ambientes favorables para el establecimiento de otras plantas (Belsky et al. 1989). Estos suelos tienen un mayor impacto sobre la biota del que supone el término “isla de fertilidad” con su énfasis en nutrientes (Garner y Steinberger 1989). La disminución del estrés por temperatura y nutrientes (Turner et al. 1966) son factores que favorecen la sobrevivencia y crecimiento de plántulas en los suelos de estas “islas de recursos” (Halvorson et al. 1995). De esta manera, estos suelos de textura fina se convierten en hábitat de comunidades enteras de organismos.

Se ha reconocido que el mezquite (*Prosopis* spp.) es particularmente efectivo como planta nodriza en zonas áridas (Barth y Klemmedson 1982, Lajtha y Schlesinger 1986, Shearer et al. 1983, Virginia y Jarrell 1983). Mejores condiciones de nutrientes y humedad, así como la disminución de temperaturas extremas, han sido citadas como parte de los

efectos benéficos de una planta nodriza (Turner et al. 1966, Franco y Nobel 1989, Garner y Steinberger 1989). Otros autores han hecho énfasis en la importancia de los árboles nodriza como perchas para aves favoreciendo así la dispersión de semillas (Steenberg y Lowe 1977, Olin et al. 1989). Sin embargo, no hay un acuerdo sobre cual de estas contribuciones es la mas importante para mejorar la sobrevivencia de plántulas bajo su dosel.

Tal vez la asociación leguminosa-cactácea ha sido la mas documentada de todas (Turner et al., 1966) Nobel 1980, Mcauliffe 1984, Franco y Nobel 1989, Valiente et al. 1991 a,b, Arriaga et al. 1993). Bashan et al. (2000) observó que en los alrededores de La Paz (Baja California Sur, México) plántulas de cardon (*Pachycereus pringlei*), así como otras cactáceas, se encuentran principalmente bajo árboles de mezquite (cuando estos están presentes) y muy raras veces en áreas carentes de vegetación.

El suelo de mezquite es rico en nutrientes y materia orgánica (Tiedemann y Klemmedson 1973, Virginia y Jarrel 1986). Además, posee una gran capacidad de retención de agua debido a los materiales finos que lo componen. (i.e. arcillas)(Bashan et al. 2000) en contraste con otros suelos de leguminosas con menor cantidad de estos materiales (i.e. suelo de palo fierro, *Olneya tesota*). En la asociación mezquite-cardon, es posible esperar que las variables del suelo sean factores importantes para el establecimiento de plántulas de cardon. Además de las condiciones favorables de agua y nutrientes, para el establecimiento de cactáceas, encontradas en el suelo de mezquite, este modelo (suelo de mezquite-cardon) tiene otra ventaja; cactáceas columnares como el cardon, tiene un sistema de raíces radial y horizontal ampliamente distribuido (hasta 30 m de diámetro) de 5-15 cm

del suelo (Gibson y Nobel 1986). Esta característica los hace buenos estabilizadores del suelo superficial.

El efecto benéfico de un árbol nodriza también puede favorecer el establecimiento de otras plantas (Halvorson et al. 1994), principalmente aquellas plantas introducidas con fines comerciales (i.e. pastos). Estas plantas ocupan y niegan un nicho esencial para las plantas nativas pudiendo desplazarlas.

Al sur de la península de Baja California, donde se desarrollo este estudio, he notado que el pasto *Cenchrus ciliaris* se encuentra aleatoriamente presente bajo árboles de mezquite con plantas de cardon asociadas a el o no, aun y cuando *Cenchrus* prefiere espacios abiertos. Esto es importante ya que los pastos representan una fuerte competencia por de agua y nutrientes debido a que poseen un sistema de raíces masivo y fuerte. Esta característica los hace excelentes estabilizadores del suelo y gracias a ello estas plantas pudieran ser involucradas en las etapas iniciales de un programa de restauración del suelo si es que el cardon puede crecer saludablemente en competencia con pastos. Otras observaciones efectuadas en la misma zona nos muestran que algunos árboles de mezquite "maduros" tienen hasta 40 plántulas de cardon bajo sus doseles (Bashan et al. 2000). Para este estudio, he definido arbitrariamente como "maduros" aquellos árboles con troncos mayores a 20 cm de diámetro porque los mas "jóvenes" (menos de 20 cm) no presentaron plantas de cardon asociadas a ellos. En este caso la madurez esta en función de su capacidad como nodriza y no de su capacidad reproductiva.

Las plantas de cardon siempre crecen muy lentamente (un promedio de 1-2 cm por año), aun durante sus primeras etapas de crecimiento bajo la influencia benéfica de un mezquite pero donde también pueden estar sujetos a competencia. Por lo tanto, la inoculación con microorganismos promotores del crecimiento en plantas, como reformadores del suelo (Fauci y Dick 1994), pudiera ser una buena estrategia para la aceleración artificial de su desarrollo como parte de un programa de restauración. Se ha sugerido al genero *Azospirillum* como una alternativa a la fertilización química. Los efectos de la promoción del crecimiento en plantas de la inoculación con *Azospirillum brasilense* se han estudiado principalmente en plantas de interés agrícola (Sarig et al. 1988, Summer 1990). Sin embargo, Mascarua et al. (1988) aislaron algunas cepas de *Azospirillum* a partir del suelo de la rizosfera y de raíces de tres especies de cactáceas en condiciones áridas; *Azospirillum brasilense* de *Stenocereus pruinosus*, *S. stellatus* y *Opuntia ficus-indica*, y *A. lipoferum* de *Opuntia ficus-indica*. Puente y Bashan (1993) encontraron que *Azospirillum* favorece la germinación y el desarrollo de plántulas de cardon (*Pachycereus pringlei*) en condiciones de laboratorio. *Azospirillum* también tiene un efecto positivo sobre el establecimiento y crecimiento de trasplantes de cardon en experimentos de campo (Bashan et al. 1999). El efecto benéfico de esta bacteria en plantas esta relacionado con la producción de fitohormonas (Bashan y Holguin 1997) como la auxina ácido indolacético (IAA) (Mascarev et al. 1988, Horemans et al. 1986), la cual estimula el desarrollo del sistema radical de la misma manera que el ácido abscísico (ABA) y las gibberellinas producidas también por *Azospirillum* (Arbieri et al. 1995, Ignatov et al. 1995, Hofer 1996, Janzen et al. 1992). Se ha observado un efecto temprano de la inoculación con *Azospirillum* sobre la morfología y fisiología de la raíz; se encontraron estas bacterias en la superficie y

dentro de raíces de trigo (Levanony et al. 1989), bifurcación de pelos radiculares de trigo (Jain y Patriquin 1984), aumento de la absorción de minerales (Baldani et al. 1983, Lin et al. 1983, Sarigen et al. 1988), de la longitud de la raíz así como de la tasa de respiración y del ahorro de ATP en tomate (Hadas y Okon 1987).

Azospirillum tiene la capacidad de cambiar el flujo neto de protones en las raíces de plantas (Bashan et al. 1989, Bashan y Levanony 1991). Como se menciono anteriormente, el ácido indol acético (auxin) es una de las fitohormonas producidas por *Azospirillum*. Uno de los efectos importantes de las auxinas es el de promover el transporte de protones hacia la pared celular estimulando la H⁺-ATPasa de la membrana plasmática (Taiz y Zeiger 1998), enzima responsable de la extrusión de protones. De esta forma, el efecto de las auxinas es la acidificación de la pared celular incrementando su extensibilidad (crecimiento). En general, la extrusión de protones provee la fuerza necesaria para el transporte de cationes, iones, aminoácidos y azúcares (Marschner 1986). Por lo tanto, la presencia del ion NH₄⁺ dentro de las células de la raíz y su incorporación dentro de los aminoácidos y amidas produce una liberación simultanea de protones para compensar cargas (Marzchner 1986). Toda esta liberación de protones acidifica el suelo del rizosfera cambiando, posiblemente, el estado de oxidación de importantes nutrientes como el fósforo movilizándolo hacia una forma más disponible para la planta. Por lo tanto, compuestos (o microorganismos) que promuevan la extrusión de protones deberían estimular el crecimiento de plantas (Taiz y Zeiger 1998).

La hipótesis que planteé para este trabajo fue que los factores del suelo son probablemente las variables más importantes para el establecimiento de plántulas de cardón (*Pachycereus pringlei*) bajo los doseles de mezquite (*Prosopis articulata*). En esta asociación, la sombra de la nodriza, la reducción de la temperatura y su calidad de percha para aves, factores mencionados en estudios anteriores, son solamente parte de las características que favorecen dicho establecimiento. Este estudio se propuso centrar la atención sobre tres puntos importantes: 1) los efectos del suelo sobre plántulas de cardón, 2) el efecto de la inoculación de bacterias promotoras del crecimiento en plantas, y 3) el efecto de la competencia entre plantas en el suelo.

Se plantearon los siguientes objetivos para resolver esta hipótesis:

- I) Comparar el efecto de cuatro suelos diferentes sobre el establecimiento y crecimiento de plántulas de cardón; suelo de mezquite "maduro", suelo de mezquite "joven", suelo del árbol de palo fierro (*Olneya tesota*), y suelo de una área libre de vegetación.
- II) Determinar como la competencia con plantas de pasto (sorgo; *Sorghum bicolor* como modelo de laboratorio) afecta la sobrevivencia y el crecimiento de plántulas de cardón cultivadas en los mismos cuatro suelos.
- III) Determinar la influencia de la radiación solar sobre el crecimiento y sobrevivencia de plántulas de cardón cultivadas en suelo de mezquite y en suelo de área libre de vegetación.

- IV) Determinar el efecto de la inoculación de una cepa de *Azospirillum brasilense* en el crecimiento de las plántulas de cardon cultivadas en los cuatro suelos mencionados en el primer objetivo.
- V) Determinar la respuesta de las plántulas de cardon a la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio en suelo pobre en nutrientes.
- VI) Determinar la acidificación de la rizosfera de plántulas de cardon (condiciones de laboratorio) después de su inoculación con *Azospirillum brasilense* y dos fuentes de nitrógeno (NH_4^+ y NO_3^-), así como su efecto sobre la solubilización de una fuente de fósforo.

MATERIALES Y METODOS

Lugar de estudio

El área de estudio se encuentra ubicada cerca de la Paz, Baja California Sur, México ($24^{\circ}1' N$ y $110^{\circ}2' O$), es una llanura costera aluvial formada por la sedimentación y la deposición de fragmentos de roca granítica derivados de la erosión de las montañas de la sierra de la Laguna (León de la Luz et al. 1996). El clima es árido con una precipitación pluvial anual promedio de 180 mm, principalmente a fines del verano. Las temperaturas mensuales promedio varían de 18 a $30^{\circ}C$. La flora se caracteriza por ser una transición entre matorral xerófilo y bosque seco tropical, conocido como matorral sarcocaula (Leon de la Luz et al. 2000). Las muestras de suelo se obtuvieron de un área perturbada que fue desmontada con buldózer a mediados de 1970, pero muchos de los árboles, arbustos y grandes cactus fueron dejados en su lugar por su valor estético. De entonces a la fecha, la vegetación se ha parcialmente recuperado.

Sitios de Muestreo

Se escogieron al azar cuatro diferentes sitios de muestreo; 1) área de árbol de mezquite "maduro" (MM) , 2) árbol de mezquite "joven" (MJ), 3) árbol de palo fierro (PF), y 4) área carente de vegetación (ACV). Se seleccionaron cinco replicas de cada lugar dentro de una parcela de 1 ha.

Las áreas carentes de vegetación circundaban plantas perennes y eran de tamaño muy variable (2-10 m de diámetro). Las raíces de plantas adyacentes penetraban el espacio de los suelos carentes de vegetación, sin embargo, el suelo de la superficie de estas áreas resultaron ser mas gruesos que los suelos encontrados bajo el dosel de los árboles de mezquite y palo fierro.

Los árboles de mezquite con un tronco de diámetro externo mayor a 20 cm se definieron como nodrizas “maduras”, basados en la observación de que árboles mas pequeños no presentaron ningún tipo de plántulas asociadas a ellos.

Toma de Muestras de Suelo

1. De cada uno de los sitios seleccionados se tomaron cinco muestras de suelo (5-35 cm de profundidad) a diferentes distancias a partir del tronco.
2. Las muestras de cada replica de cada sitio se mezclaron entre si y se cribaron en una malla de 1 cm para eliminar rocas y otras partículas de gran tamaño.
3. Los suelos se colocaron en macetas de 1.5 L y se etiquetaron.
4. Se determino el contenido de nitrógeno total en cada uno de los suelos por el método de Kjeldhal (Bremmer y Mulvaney 1982).
5. Se determinó el contenido de carbón por el método de combustión seca (Nelson y Sommers 1982).
6. Se determinó el contenido fósforo por el método del azul de molibdeno (Nelson y Sommers 1982).

7. Se realizó un análisis de textura del suelo de acuerdo a la metodología de Gee y Bauder (1986).

Cultivo Bacteriano

1. Se utilizó un cepa de *Azospirillum brasilense* Cd (ATCC #29710).
2. La bacteria se cultivó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL conteniendo 50 ml caldo nutritivo durante 16 h a 30° C.
3. Se midió la densidad óptica del cultivo en un espectrofotómetro Spectronic 2000. Cuando esta llega a ≈ 1 se dice que el cultivo se encuentra en una densidad de aproximadamente 10^9 bacterias/ml.
4. Para obtener la concentración celular de inoculación recomendada para muchas especies de plantas (10^6 bacterias/ml) (Bashan 1986), se transfirieron 100 μ l del cultivo bacteriano a 100 ml de caldo nutritivo. Esta nueva suspensión bacteriana debe estar en el rango de 10^6 bacterias/ml.
5. De esta última suspensión se transfirió 1 ml a un tubo de ensaye conteniendo 9 ml de solución salina al 0.85% de NaCl para preparar la dilución 10^{-1} . Se continuó de la misma forma hasta preparar las diluciones 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} .
6. De las últimas dos diluciones se transfirieron por separado una alícuota de 0.1 ml a placas Petri con agar nutritivo, por triplicado, y se extendió sobre la superficie. Las placas se incubaron a 30° C de 24-48 h para contar el número de colonias de *Azospirillum* desarrolladas.

7. El número de unidades formadoras de colonias se calculó por mililitro. Este dato es reconocido como la concentración del inóculo.

Plantas

1. Las semillas de cardon y de sorgo (*Sorghum bicolor*) se lavaron abundantemente y se germinaron por separado en charolas de plástico con papel filtro húmedo durante 5 días (cardon) y 7-10 días (sorgo).
2. Se seleccionaron las plántulas de tamaño uniforme y se transfirieron a sus respectivas macetas.

I. Efecto de cuatro suelos diferentes sobre el establecimiento y crecimiento de plántulas de cardon.

- Cuatro suelos en macetas de 1.5 L; se utilizaron suelos de mezquite "maduro", mezquite "joven", palo fierro y de área carente de vegetación.
 - Las plántulas de cardon se obtuvieron de la forma ya descrita.
 - Seis repeticiones.
 - 24 unidades experimentales (macetas).
 - Los objetivos I, II y IV se abordaron en un mismo experimento con un diseño 3 X 4 factorial. Los factores fueron los tratamientos (3) y los suelos (4).
 - Los resultados fueron evaluados con un análisis de varianza (ANOVA).
1. Se colocaron 10 plántulas de cardon, de aproximadamente el mismo tamaño, por maceta.
 2. Las plantas se cultivaron durante 6 meses en condiciones de vivero; la intensidad máxima luminosa fue aproximadamente la mitad de la radiación solar total en el exterior ($900 \mu\text{mole}/\text{cm}^2\text{sec}$), la temperatura ambiente vario entre 20 y 40°C (noche y día respectivamente).
 3. Las macetas se irrigaron a saturación una vez por semana con agua de la llave para evitar la acumulación de sales.
 4. Se contaron las plantas sobrevivientes.
 5. Se determinó el contenido de masa húmeda de raíces y tallos, inmediatamente después de terminado el experimento.

6. Los pesos secos de raíces y tallos se determinaron después de secar las plantas a 70°C durante 3 días.
7. El contenido de agua en los tallos se calculó a partir de los pesos secos y húmedos.
8. Parte de las raíces obtenidas se utilizaron para determinar la longitud total de la raíz por el método de intersección de líneas (Giovannetti y Mosse 1980, ver apéndice).

II Sobrevivencia y crecimiento de plántulas de cardon en competencia con sorgo cultivadas en cuatro suelos diferentes.

- Cuatro suelos en macetas de 1.5 L; se utilizaron suelos de mezquite "maduro", mezquite "joven", palo fierro y de área carente de vegetación.
 - Las plántulas de cardon se obtuvieron de la forma ya descrita.
 - Seis repeticiones.
 - 24 unidades experimentales (macetas).
 - Los objetivos I, II y IV se abordaron en un mismo experimento con un diseño 3 X 4 factorial. Los factores fueron los tratamientos (3) y los suelos (4).
 - Los resultados fueron evaluados con un análisis de varianza (ANOVA). La relación de competencia entre las plantas de cardon y sorgo, utilizando los valores de peso seco, se evaluó con un análisis de regresión.
1. Se colocaron 10 plántulas de cardon, de aproximadamente el mismo tamaño, por maceta.
 2. Se colocó una planta de sorgo por maceta.
 3. Las plantas se cultivaron durante 6 meses en condiciones de vivero; la intensidad máxima luminosa fue aproximadamente la mitad de la radiación solar total en el exterior ($900 \mu\text{mole}/\text{cm}^2\text{sec}$), la temperatura ambiente varió entre 20 y 40°C (noche y día respectivamente).
 4. Las macetas se irrigaron a saturación una vez por semana con agua de la llave para evitar la acumulación de sales.

5. Se contaron las plantas sobrevivientes.
6. Se determinó el contenido de masa húmeda de raíces y tallos, inmediatamente después de terminado el experimento.
7. Los pesos secos de raíces y tallos se determinaron después de secar las plantas a 70°C durante 3 días.
8. El contenido de agua en los tallos se calculó a partir de los pesos secos y húmedos.
9. Las raíces de cardon y de sorgo se encontraron inseparablemente entrelazadas, debido a esto no se pudo determinar la longitud total de las raíces de las plantas de cardon.

III. Influencia de la radiación solar en el crecimiento y sobrevivencia de plántulas de cardon en suelo de mezquite.

- Dos tratamientos; con y sin sombra.
 - Dos suelos en macetas de 1.5 L; suelo de mezquite "maduro" y de área carente de vegetación.
 - Las plántulas de cardon se obtuvieron de la forma ya descrita.
 - Seis replicas.
 - 24 unidades experimentales.
 - El experimento tuvo un diseño 2 X 2 factorial; los factores fueron dos formas de exposición al sol (radiación completa y la mitad de la radiación) y dos suelos.
 - Los resultados se evaluaron con un análisis de varianza (ANOVA).
1. Se colocaron 10 plántulas de cardon, de aproximadamente el mismo tamaño, por maceta.
 2. Las macetas se enterraron al nivel del suelo alternadamente; una maceta con suelo de mezquite seguida de una con suelo de área carente de vegetación (tres líneas y ocho columnas). Las macetas se colocaron a 25 cm unas de otras.
 3. La mitad de esta distribución (tres líneas y cuatro columnas) se cubrió con una malla que redujo la intensidad luminosa en aproximadamente 52% ($1061 \mu\text{mole}/\text{cm}^2\text{seg}$), esta intensidad luminosa es similar a la radiación promedio encontrada bajo el dosel de un mezquite. La otra mitad se expuso completamente a la radiación solar total presente en ese momento.

El promedio de la luz filtrada por el dosel del mezquite (48% de reducción; 980 $\mu\text{mole}/\text{cm}^2\text{seg}$) se determino realizando 50 mediciones de intensidad luminosa bajo su dosel utilizando un fotómetro Li-Cor, modelo Li185A.

4. Las plantas se cultivaron durante seis meses y se irrigaron dos veces por semana con agua de la llave.
5. En todas las macetas se midió la temperatura del suelo a nivel superficial y a 5 cm de profundidad. Para este propósito se utilizo un termómetro Markson modelo 7001 con electrodos para suelo. Las mediciones se realizaron a las 14:00 hrs durante los meses de mayo-agosto y se promediaron.
6. Se contaron las plantas sobrevivientes.
7. Se determinó el contenido de masa húmeda de raíces y tallos, inmediatamente después de terminado el experimento.
8. Los pesos secos de raíces y tallos se determinaron después de secar las plantas a 70°C durante 3 días.
9. El contenido de agua en los tallos se calculó a partir de los pesos secos y húmedos.
10. Parte de las raíces obtenidas se utilizaron para determinar la longitud total de la raíz por el método de intersección de líneas (Giovannetti y Mosse 1980, ver apéndice).

IV. Efecto de la inoculación de una cepa de *Azospirillum brasilense* sobre el crecimiento de plántulas de cardon.

- Cuatro suelos en macetas de 1.5 L; se utilizaron suelos de mezquite "maduro", mezquite "joven", palo fierro y de área carente de vegetación.
 - Se utilizó una cepa de *Azospirillum brasilense* Cd (ATCC #29710).
 - Las plántulas de cardon se obtuvieron de la forma ya descrita.
 - Seis repeticiones.
 - 24 unidades experimentales (macetas).
 - Los objetivos I, II y IV se abordaron en un mismo experimento con un diseño 3 X 4 factorial. Los factores fueron los tratamientos (3) y los suelos (4).
 - Los resultados fueron evaluados con un análisis de varianza (ANOVA).
1. La suspensión bacteriana se preparó de la forma ya descrita y se colocó en un matraz Kitazato (para vacío) junto con las semillas de cardon.
 2. Se aplicó vacío al matraz (600 mm hg) durante 5 minutos para promover la entrada de las células del *Azospirillum* en las cavidades de la superficie de la semilla previamente llenas de aire (Puente y Bashan 1993).
 3. Las semillas se germinaron de la forma ya descrita.
 4. Se colocaron 10 plántulas de cardon, de aproximadamente el mismo tamaño, por maceta.
 5. Las plantas se cultivaron durante 6 meses en condiciones de vivero; la intensidad máxima luminosa fue aproximadamente la mitad de la radiación solar total en el

exterior ($900 \mu\text{mole}/\text{cm}^2\text{sec}$), la temperatura ambiente vario entre 20 y 40°C (noche y día respectivamente).

6. Las macetas se irrigaron a saturación una vez por semana con agua de la llave para evitar la acumulación de sales.
7. Se contaron las plantas sobrevivientes.
8. Las raíces se separaron en dos partes. Una parte se utilizo para determinar el peso fresco y seco de las raíces después de haber cuantificado el nivel de colonización de las raíces por *Azospirillum*. Otra parte se utilizo para determinar la actividad de la nitrogenasa y la longitud total de las raíces.
9. Se determinó el contenido de masa húmeda de raíces y tallos, inmediatamente después de terminado el experimento.
10. Los pesos secos de raíces y tallos se determinaron después de secar las plantas a 70°C durante 3 días.
11. El contenido de agua en los tallos se calculó a partir de los pesos secos y húmedos.
12. La actividad de la nitrogenasa se determinó por medio de la técnica de reducción de acetileno (Potts 1979).
 - Las raíces recién obtenidas y sin lavar se colocaron en viales de 25 mL.
 - Los viales se sellaron con cubiertas de aluminio y se extrajeron 2.5 mL de aire el cual se reemplazo con 2.5 mL de acetileno.
 - Los viales se incubaron por dos días a 30°C y posteriormente se midió la producción de etileno en un cromatógrafo de gases (Varian 6000).

13. Después del ensayo de reducción de acetileno, se lavaron las raíces para determinar la longitud total de la raíz por el método de intersección de líneas (Giovannetti y Mosse 1980, ver apéndice).
14. Por último, se midió el nivel de colonización de *Azospirillum* en las raíces utilizando el siguiente procedimiento:
 - Las raíces se suspendieron en 5 mL de una solución al 0.85% de NaCl y se homogeneizaron con un disruptor de tejidos (Polytron, Brinkman Instruments, NY).
 - La densidad bacteriana presente en las raíces al final del experimento se determina como se describe del punto 5-7 en las páginas 11 y 12.
 - El tejido macerado se filtra en papel Whatman No.1 (Puente et al. 1999) y se seca a 70°C durante tres días para la determinación del peso seco.

V. Respuesta de plántulas de cardon a la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio cultivadas en suelo pobre en estos nutrientes.

- Se utilizo solamente suelo de área carente de vegetación.
- Cuatro soluciones minerales.

Solucion 8mm* de nitrógeno (N) como $\text{Na}(\text{NO}_3)_2$

Solucion 1mm* de fósforo (P) como NaH_2PO_4

Solucion 2mm* de potasio (K) como K_2SO_4

Solucion 8mm de nitrógeno, 1 mm de fósforo y 2 mm de potasio(NPK) como $\text{Na}(\text{NO}_3)_2$, NaH_2PO_4 y K_2SO_4 respectivamente.

*Estas cantidades se aproximaron a un 50% de las de la solución de Hoagland (ver apéndice).

- Las plántulas de cardon se obtuvieron de la forma ya descrita.
- Seis repeticiones.
- 30 unidades experimentales (macetas).
- Se organizo un diseño experimental completamente al azar consistente en cinco tratamientos (N, P, K, NPK y control) en el mismo tipo de suelo para todos.
- Los resultados fueron evaluados con un análisis de varianza (ANOVA). Las diferencias individuales entre la respuesta a cada tratamiento en comparación con el control se determinaron por medio de la *t* de Student.

1. Se colocaron 10 plántulas de cardon, de aproximadamente el mismo tamaño, por maceta.

2. Las plantas se cultivaron durante 6 meses en condiciones de vivero; la intensidad máxima luminosa fue aproximadamente la mitad de la radiación solar total en el exterior ($900 \mu\text{mole}/\text{cm}^2\text{sec}$), la temperatura ambiente vario entre 20 y 40°C (noche y día respectivamente).
3. Las macetas se irrigaron a saturación una vez por semana con su correspondiente solución mineral.
4. Se contaron las plantas sobrevivientes.
5. Se determinó el contenido de masa húmeda de raíces y tallos, inmediatamente después de terminado el experimento.
6. Los pesos secos de raíces y tallos se determinaron después de secar las plantas a 70°C durante 3 días.
7. El contenido de agua en los tallos se calculó a partir de los pesos secos y húmedos.
8. Parte de las raíces obtenidas se utilizaron para determinar la longitud total de la raíz por el método de intersección de líneas (Giovannetti y Mosse 1980, ver apéndice).

VI. Acidificación de la rizosfera de plántulas de cardon como respuesta a la inoculación con *Azospirillum brasilense* y dos fuentes de nitrógeno.

Condiciones de crecimiento para el cultivo de plántulas de cardon en solución mineral

Potencial de agua (Ψ_w)

Obtención de plantas

1. Las semillas de cardon se enjuagaron con agua de la llave en un vaso de precipitado de 200 ml.
2. Se adiciono tween 20 al 2% agitándose durante 10 minutos.
3. Se deshecho la solución de tween 20 y las semillas se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril.
4. Se adiciono una solución de hipoclorito de sodio al 3% (NaClO_3) agitándose durante 5 minutos.
5. Se deshecho la solución de hipoclorito de sodio y las semillas se enjuagaron cinco veces con agua destilada estéril.
6. Las semillas desinfectadas se colocaron en placas Petri estériles con 10 ml de agua destilada estéril para promover su germinación.
7. Las placas Petri se envolvieron en papel café y se introdujeron en una cámara de cultivos (27°C; 40% HR).
8. Después de cinco días, las plántulas bien formadas se expusieron a fotoperíodo de 12 h luz 12 h oscuridad.

9. Las plántulas se fueron cambiando a placas Petri con agua destilada estéril cada cuatro días, y se organizaron de acuerdo a su tamaño.
10. Para los experimentos se utilizaron plántulas con 16 días de crecimiento y con características similares (desarrollo de cotiledones y radículas).

Soluciones de cultivo

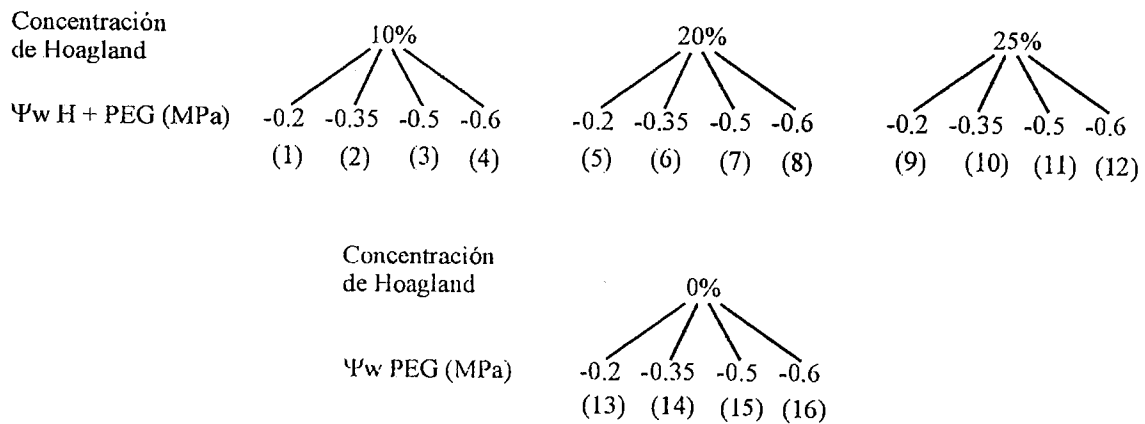
Valores elevados de potencial de agua (Ψ_w) son ligeramente negativos para el desarrollo de cactáceas. En las raíces de algunas plantas suculentas del desierto se han medido valores de potencial de agua de -0.2 a -0.5 MPa (Nobel y Lee 1991). Por lo tanto, es de esperarse que el Ψ_w de la solución de cultivo sea cercano a esos valores. En este experimento se evaluaron soluciones con Ψ_w de -0.2, -0.35, -0.5 y -0.6 MPa para determinar el mas apropiado para el cultivo de plántulas de cardon en solución mineral.

El polietilenglicol (PEG) es comúnmente utilizado para incrementar el potencial osmótico de soluciones de cultivo sin dañar a la planta. Se recomienda utilizar PEG con peso molecular promedio de 6000 en adelante debido a que PEG con pesos moleculares menores pueden penetrar en la raíz (Carpita et al. 1979, Verslues et al. 1998).

Para determinar las mejores condiciones de cultivo se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones:

- Solución de Hoagland (H) en cuatro diferentes concentraciones; 0%, 10%, 20% y 25% de su concentración original (ver apéndice).

- Se obtuvieron cuatro diferentes valores de potencial hídrico por la adición de PEG 6000 (peg) y las sales minerales de las soluciones de Hoagland; -0.2 , -0.35 , 0.5 y -0.6 MPa.
- 16 soluciones en total.



Para obtener el Ψ_w de la solución (9) no fue necesario adicionar PEG a la solución de Hoagland.

Debido a que el Ψ_w de las soluciones esta dado por las sales de la solución de Hoagland y por la concentración de PEG, el Ψ_w de las soluciones se determino tomando en cuenta las siguientes consideraciones.

- En general, el Ψ_w esta dado por todos los elementos o condiciones que lo afectan.

$$\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_g \quad (1)$$

Donde:

Ψ_s = Potencial osmótico

Ψ_p = Presión hidrostática

Ψ_g = Gravedad

- En una solución solamente los componentes que la integran determinan su Ψ_w .

$$\Psi_w(\text{solución}) = \Psi_w(\text{H}) + \Psi_w(\text{PEG}) \quad (2)$$

H = solución de Hoagland

- En virtud de que el Ψ_w de una solución es equivalente al Ψ_s de la misma solución a presión atmosférica, la siguiente relación puede ser usada para calcular el Ψ_w de una solución como la de Hoagland.

$$\Psi_s = 0.36 (\text{C.E.} \times 10) \quad (3)$$

Donde:

Las unidades de Ψ_s están dadas en bars (1 bar = 0.1 Mpa)

C.E. = Conductividad eléctrica en mmhos

- La concentración de PEG necesaria para obtener el Ψ_w deseado (-0.2, -0.35, -0.5 y 0.6 Mpa) se calculo una vez determinado el Ψ_w de las soluciones de Hoagland.
Para este propósito se utilizo la siguiente relación.

$$\Psi_w(\text{Mpa}) = -11.2[\text{PEG}]^2 + 0.59[\text{PEG}] - 0.07 \quad (4)$$

(Emmerich y Hardegree 1991)

De donde:

$$-11.2[\text{PEG}]^2 + 0.59[\text{PEG}] - 0.07 - \Psi_w = 0 \quad (5)$$

[PEG] = concentración de PEG (g/g H₂O)

- Se conoce el Ψ_w deseado, por lo que la concentración de PEG necesaria para obtenerlo se puede calcular empleando la relación que se utiliza para resolver una ecuación lineal de segundo grado.

$$ax^2 + bx + c = 0 \quad (6)$$

$$x = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a} \quad (7)$$

Procedimiento

1. Para cultivar las plántulas de cardon se utilizaron placas multi-pozo con seis cavidades.
2. Se colocaron seis perlas de vidrio en cada uno de los pozos.
3. Cada uno de los pozos se cubrió con una película de plástico multi-horadada para permitir la aireación de las raíces.
4. Se adicionaron 10 mL de cada solución en sus respectivos pozos.
5. Para el control se utilizo agua destilada.

6. Se colocó una plántula por pozo sosteniéndola en la película de plástico de tal forma que solo las raíces estuvieran en contacto con la solución.
7. Las plántulas se cultivaron dentro de una cámara ambiental de cultivo a 26°C, 70% HR, 12:12 h de fotoperíodo y agitación orbital de 150 rpm durante 15 días.
8. Se prepararon tres repeticiones de cada tratamiento.
9. Al final del experimento se determinó el peso seco de las plantas como se describió anteriormente.

pH

Se diseñó un nuevo experimento para determinar el pH de la solución de crecimiento.

1. Soluciones Hoagland al 25% de su concentración original, -0.2 MPa (Ψ_w) y a tres diferentes valores de pH (5.0, 5.5 y 6.0).
2. Soluciones de PEG a -0.2 MPa (Ψ_w) con los mismos valores de pH que la solución anterior.
3. Las soluciones fueron esterilizadas en autoclave y posteriormente el pH se ajustó a los valores mencionados utilizando NaOH 0.1 N o HCl 0.1 N.
4. Las plántulas se obtuvieron de la forma ya descrita pero substituyendo el agua destilada por solución de Hoagland al 25% para la germinación de las semillas.
5. Las plántulas y las soluciones se colocaron en los pozos de la misma forma que en el experimento anterior.
6. Se prepararon seis repeticiones de cada tratamiento.

7. Las plántulas se cultivaron durante 20 días en una cámara ambiental de cultivo a 26°C, 70% HR, 12:12 h de fotoperíodo y agitación orbital de 150 rpm.
8. Al final del experimento se determinó el peso seco de toda la planta de la forma ya descrita.

Debido a algunos problemas técnicos (ver resultados) en el anterior sistema de crecimiento (placas multipozo) desarrolle un nuevo experimento para evaluar un segundo sistema de crecimiento (placas Petri inclinadas) tomando en consideración los resultados del experimento anterior.

1. Soluciones Hoagland al 25% de su concentración original, -0.2 MPa (Ψ_w) y a tres diferentes valores de pH (5.0, 5.5 y 6.0).
2. Para los controles se utilizó agua destilada (pH 5.0 y 6.1).
3. Las soluciones fueron esterilizadas en autoclave y posteriormente el pH se ajustó a los valores mencionados utilizando NaOH 0.1 N o HCl 0.1 N.
4. Las plántulas se obtuvieron de la forma ya descrita pero substituyendo el agua destilada por solución de Hoagland al 25% para la germinación de las semillas.
5. Se adicionaron 10 mL de cada solución en sus respectivas placas Petri estériles.
6. Se colocaron dos plántulas por placa.

7. Las placas se cerraron con una película de parafilm y se colocaron dentro de una cámara de crecimiento ambiental a 26°C, 70% HR, 12:12 h de fotoperíodo durante 15 días.
8. Se prepararon cinco repeticiones de cada tratamiento.
9. Al final del experimento se determino el peso seco de toda la planta de la forma ya descrita.

Experimento *in vitro* para evaluar la acidificación del rizosfera de plántulas de cardon.

Soluciones:

Sol. 1. 25% H sin $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ y con KH_2PO_4 *

Sol. 2. 25% H sin $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KNO_3 y con KCl^* , CaCl_2 *

Sol. 3. 25% H sin fuentes de nitrógeno y con KCl^* , CaCl_2 *

* Estas sales se adicionaron para mantener la misma concentración iónica y conservar el $\Psi_w = -0.2$ MPa.

Tratamientos:

1. Cardón + *Azospirillum* (C+A) con $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KNO_3 (Sol.1)
2. C+A con $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (Sol.2)
3. C+A sin fuentes de nitrógeno (Sol.3)
4. Cardón (C) con $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KNO_3 (Sol.1)
5. C con $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (Sol.2)
6. C sin fuentes de nitrógeno (Sol.3)

Plantas

Las plántulas se obtuvieron de la forma ya descrita

Bacteria

El cultivo bacteriano para la inoculación de las plántulas se obtuvo de la forma ya descrita.

Procedimiento

1. Para los tratamientos 1, 2 y 3 se seleccionaron 24 plántulas con raíces de longitud similar para ser inoculadas con la suspensión bacteriana. Solo se escogieron plántulas con raíces blancas, en crecimiento y con abundantes pelos radiculares.
2. Las raíces de estas plantas se sumergieron en la suspensión bacteriana durante cinco minutos.
3. Las plántulas así inoculadas se colocaron en lacas Petri estériles con 10 mL de solución Hoagland al 25% y sin fuentes de nitrógeno, $\text{pH} = 6.2$ y $\Psi_w = -0.212 \text{ MPa}$ (dos plántulas por placa).
4. Las placas se colocaron dentro de una cámara de crecimiento ambiental a 27°C , 70% HR, 12:12 h de fotoperíodo durante 72 h.
5. Las plántulas para los tratamientos 4, 5 y 6 se seleccionaron de la misma manera y se transfirieron a placas Petri con 10 mL de solución Hoagland al 25% y sin fuentes de nitrógeno, $\text{pH} = 6.2$ y $\Psi_w = -0.212 \text{ MPa}$ (dos plántulas por placa). Y se colocaron en la misma cámara ambiental durante el mismo tiempo y bajo las mismas condiciones.
6. Transcurridas las 72 h las plántulas se transfirieron a placas Petri con las soluciones de sus respectivos tratamientos.
7. Las placas así preparadas se organizaron en una campana de flujo laminar en condiciones estériles y con fotoperíodo de 12:12 h.
8. Se midió el pH de cada una de las soluciones a diferentes tiempos (23, 26, 31, 51 y 71 h).

9. Al termino del experimento las raíces se disectaron de los tallos y se colocaron en tubos Eppendorf con 1.5 mL de solución de NaCl al 0.85%.
10. Los tubos Eppendorf se agitaron vigorosamente en un mezclador de vortex durante cinco minutos.
11. Estas suspensiones se utilizaron para determinar la densidad bacteriana en la rizosfera de las plántulas de cardon por medio del método de las diluciones descrito anteriormente.
12. Se determino el peso seco de las raíces y los tallos de la forma ya descrita.

Experimento en suelo para estimar la acidificación de la rizosfera de plántulas de cardon

Preparación del suelo

1. Se recolecto suelo de un área carente de vegetación en la localidad de El Comitán.
2. El suelo se cribó en mallas de 2.0, 1.7, 1.0 y 0.5 mm.
3. Se mezclaron los suelos retenidos en las mallas de 1.0 y 0.5 mm.
4. El suelo se esterilizó en un horno a 180°C durante 72 h.
5. Se determinó el contenido de nitrógeno total del suelo con el procedimiento descrito anteriormente.
6. Seis placas multi-pozo se llenaron con 17 g de suelo estéril y 25 mg de $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
7. Se prepararon seis repeticiones por tratamiento, cada placa consta de seis pozos y cada pozo significa una repetición.
8. Las placas se organizaron de acuerdo a la siguiente distribución.

Solución	Tratamientos
1	1 C+Ab+ NH_4^+
2	2 C+Ab+ NO_3^-
3	3 C+Ab
1	4 C+ NH_4^+
2	5 C+ NO_3^-
3	6 C

} + $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

C = Cardon, Ab = *Azospirillum brasilense*

9. Se utilizaron las mismas soluciones que en el experimento anterior.

Procedimiento

1. Las plántulas y el cultivo bacteriano se obtuvieron como se describió anteriormente.
2. Las plántulas se seleccionaron como se describe en el experimento anterior.
3. Las raíces de las plantas que se inocularon se sumergieron en la suspensión bacteriana durante cinco minutos.
4. Las plántulas inoculadas se transfirieron a placas Petri estériles con 10 mL de solución Hoagland al 25% y sin fuentes de nitrógeno, $\text{pH} = 6.2$ y $\Psi_w = -0.212$ MPa.
5. Las placas se colocaron dentro de una cámara de crecimiento ambiental a 27°C , 70% HR, 12:12 h de fotoperíodo.
6. Transcurridas 72 h las plántulas se transfirieron a sus respectivas placas multi-pozo, una laca por pozo.
7. Cada pozo se irriego con 5 mL de sus respectivas soluciones.
8. Las placas se colocaron dentro de una cámara de crecimiento ambiental a 27°C , 70% HR, 12:12 h de fotoperíodo durante 45 días.
9. Las plántulas se irrigaron alternadamente cada cuatro días con 3 mL de agua destilada y 3 mL de sus respectivas soluciones.
10. Transcurridos los 45 días las plántulas se extrajeron del suelo y se midió el pH del suelo.

11. Las plántulas se colocaron en tubos Eppendorf quedando solamente las raíces, aun con suelo de la rizosfera, dentro del tubo, una planta por tubo.
12. Se adiciono 1.5 mL de agua destilada por tubo.
13. Los tubos se agitaron vigorosamente durante dos minutos en un mezclador de vortex.
14. Las suspensiones así preparadas se utilizaron para determinar el pH y el nivel de colonización de *Azospirillum* en la rizosfera de las plántulas.
15. Finalmente, se determino indirectamente la cantidad de $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ que no se disolvió midiendo el fósforo soluble por el método del paramolibdato de amonio ().

RESULTADOS

- I. Efecto de cuatro suelos diferentes sobre el establecimiento y crecimiento de plántulas de cardon.
- II. Supervivencia y crecimiento de plántulas de cardon en competencia con sorgo cultivadas en cuatro suelos diferentes.
- IV. Efecto de la inoculación de una cepa de *Azospirillum brasilense* sobre el crecimiento de plántulas de cardon.

Sobrevivencia y Competencia

La supervivencia de las plantas de cardon no se vio afectada por la inoculación con *Azospirillum* o por la competencia con plantas de sorgo ($p > 0.1$ en control vs. *Azospirillum* o tratamiento con sorgo en todos los suelos) durante los seis meses que duró el experimento (Tabla I). El efecto del suelo fue significativo en el control (Fig. 1) y en el tratamiento con *Azospirillum*.



Fig. 1. Crecimiento de plántulas de *Pachycereus pringlei* (cardon) en cuatro diferentes suelos.

Se presentó una mayor sobrevivencia de plantas de cardon en el suelo de mezquite del control y el tratamiento con *Azospirillum* en comparación con el suelo de área carente de vegetación. En el tratamiento con sorgo (Tabla I), las diferencias en las características de los suelos (Tabla IV, ver apéndice) no afectó la sobrevivencia de las plántulas de cardon debido a que los efectos del suelo presentados en el control fueron aparentemente contrarrestados por los diferentes tamaño de las plantas de sorgo (Fig. 2). Respondiendo al mismo estímulo del suelo que las plantas de cardon, se obtuvieron plantas de sorgo de mayor tamaño en los suelos de mezquite "maduro" y mezquite "joven" que en los suelos de palo fierro y de área carente de vegetación. Un mejor indicador del efecto del suelo sobre el cardon resulto ser el contenido de materia seca del tallo (Tabla I): las plantas de cardon de los dos tratamientos sin estrés (control y *Azospirillum*) crecieron mas grandes en suelo de mezquite "maduro" que las cultivadas en los otros suelos, mientras que las plantas de cardon en suelo carente de vegetación crecieron menos que en los demás suelos. Al igual que en la sobrevivencia, las diferencias del contenido de materia seca de las plantas de cardon en el tratamiento con sorgo no fueron significativas, mientras que en los tratamientos sin estrés las diferencias fueron altamente significativas (Tabla I).

Las diferencias en el contenido de agua de las plantas de cardon en el control fueron pequeñas pero significativas al comparar las plantas de cardon en los suelos de mezquite "maduro" y "joven con las del suelo de área carente de vegetación. Sin embargo, el estado de hidratación de las plantas de cardon al interior del tratamiento con sorgo fue prácticamente el mismo (Tabla I). La inoculación con *Azospirillum* no afectó el estado de hidratación de las plántulas.

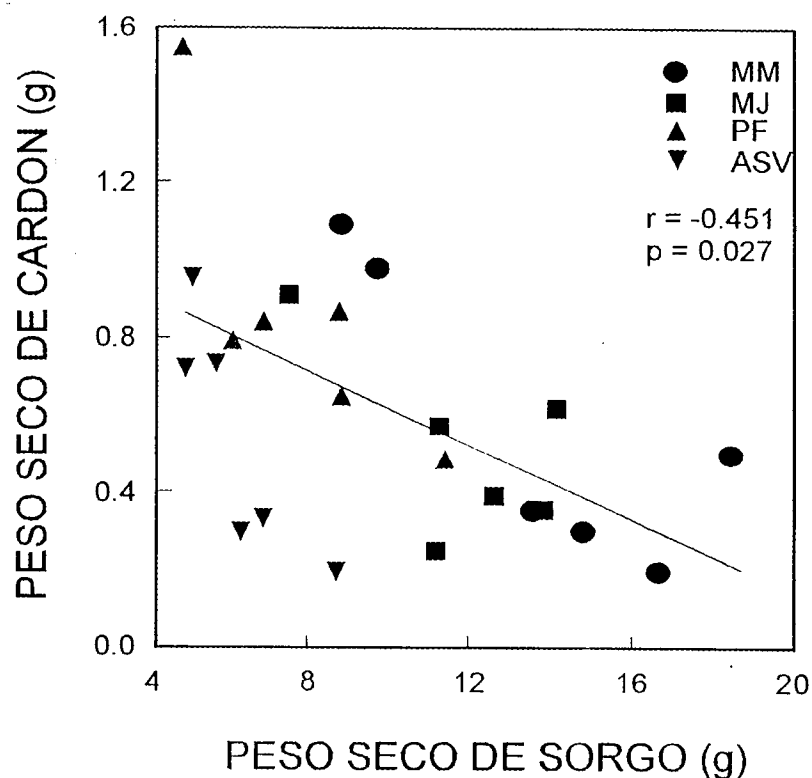


Fig. 2. Correlación de los contenidos de materia seca acumulada en el tallo de plantas de cardon y sorgo. Las plantas fueron cultivadas en cuatro diferentes suelos (mezquite "maduro", MM; mezquite "joven", MJ; palo fierro, PF; área sin vegetación, ASV).

Tabla I. Sobrevivencia y características del tallo de plantas de cardon cultivadas en cuatro diferentes suelos. Tratamiento con *Azospirillum* (+Ab), tratamiento con sorgo (+S).

	Sobrevivencia %			Materia Seca del Tallo (g)			Contenido de Agua (%)		
	Control	+Ab	+S	Control	+Ab	+S	Control	+Ab	+S
Suelo									
Mezquite Maduro	9.3	8.7	8.8	4.3	3.9	0.6	96	96	92
Mezquite Joven	9.3	8.3	7.3	2.2	2.4	0.5	96	94	92
Palo Fierro	7.7	7.7	8.2	1.4	1.9	0.7	94	94	92
Área sin Vegetación	7.3	6.3	8.0	0.5	0.6	0.3	92	93	91
ANOVA									
(p)	0.016	0.050	0.697	<0.001	<0.001	0.197	<0.001	0.074	0.240
Contraste Ortogonal									
(p)									
MM vs. MJ	0.998	0.692	0.838	<0.001	<0.001	0.729	0.192	0.135	0.0663
MM vs. PF	0.032	0.242	0.418	<0.001	<0.001	0.477	0.016	0.110	0.586
MM vs. ASV	0.012	0.011	0.314	<0.001	<0.001	0.151	<0.001	0.010	0.388
MJ vs. PF	0.033	0.431	0.542	0.036	0.079	0.259	0.211	0.909	0.907
MJ vs. ASV	0.014	0.026	0.418	<0.001	<0.001	0.265	<0.001	0.080	0.660
PF vs. ASV	0.650	0.124	0.838	0.009	<0.001	0.036	0.001	0.263	0.746

Efectos de la Inoculación con *Azospirillum*

El contenido de materia seca y la longitud de las raíces de las plantas de cardon (Tabla II) se incremento conforme mejoro la calidad del suelo (Tabla IV, ver apéndice). En comparación con el control *Azospirillum* no afecto la longitud de la raíz de las plantas en suelo de mezquite "maduro", sin embargo, el desarrollo de las raíces si se incremento significativamente en el suelo mas pobre (Tabla II y Tabla IV, ver apéndice); el efecto promotor del crecimiento de *Azospirillum* fue mayor conforme disminuyo la calidad del suelo.

Tabla II. Materia seca, longitud de raíz y relación raíz/tallo de plantas de *Pachycereus pringlei*.

	Materia Seca de la Planta			Relación Raíz/Tallo			Longitud de Raíz (m)		
	Control	+Ab	t-test	Control	+Ab	t-test	Control	+Ab	t-test
	(g)								
Suelo									
Mezquite Maduro	4.6	4.2	0.182	0.082	0.090	0.114	11.6	11.2	0.873
Mezquite Joven	2.3	2.7	0.025	0.108	0.125	0.083	5.5	9.5	0.091
Palo Fierro	1.5	2.1	0.058	0.114	0.154	0.044	2.8	5.0	0.008
Arca Sin Vegetación	0.6	0.8	0.070	0.166	0.256	0.097	1.9	3.4	0.025
ANOVA									
(p)	<0.001	<0.001		0.022	0.006		<0.001	0.007	
Contraste Ortogonal									
(p)									
MM vs. YM	<0.001	<0.001		0.330	0.539		<0.001	0.435	
MM vs. MI	<0.001	<0.001		0.284	0.315		<0.001	0.012	
MM vs. BA	<0.001	<0.001		0.003	0.001		<0.001	0.002	
YM vs. MI	0.026	0.075		0.850	0.689		0.013	0.063	
YM vs. BA	<0.001	<0.001		0.024	0.006		0.002	0.13	
MI vs. BA	0.007	<0.001		0.038	0.014		0.0418	0.462	

La relación raíz/tallo aumento conforme disminuyo la calidad del suelo (Tabla II), indicando que el crecimiento de la raíz en relación al tallo incremento a medida que el suelo fue mas pobre en nutrientes y de textura mas gruesa. La relación raíz/tallo de las plantas en suelo de mezquite "maduro", mezquite "joven" y palo fierro fue significativamente menor la de las plantas en suelo de área carente de vegetación.

III. Influencia de la radiación solar en el crecimiento y sobrevivencia de plántulas de cardon en suelo de mezquite.

La respuesta de todas las variables del crecimiento de las plantas de cardon se vio afectada significativamente en los diferentes tratamientos (Fig. 4). Las temperaturas en la superficie del suelo fueron menores en las macetas con sombra que en aquellas expuestas a la radiación completa del sol a las 14:00 horas de marzo a agosto, 1998, (sombra vs. sol, suelo de mezquite "maduro" 47.7 vs. 51.0°C, $p= 0.059$; suelo de área carente de vegetación 48.1 vs. 53.4°C, $p= 0.024$). Las temperaturas subsuperficiales fueron menores que las registradas en la superficie y no fueron afectadas por la sombra (sombra vs. sol, suelo de mezquite "maduro" 37.1 vs. 41.2°C, $p= 0.207$; suelo de área carente de vegetación 37.4 vs. 41.1°C, $p= 0.161$). Aunque el suelo de área carente de vegetación (ligeramente colorido y rico en arena) probablemente reflejo mas radiación solar que el suelo de mezquite (oscuro y mas rico en arcillas), no hubo diferencias significativas en las temperaturas que se registraron en estos suelos ($p>0.5$).



Fig. 3. Plántulas de cardon cultivadas en suelo de isla de recursos (mezquite) o suelo de área sin vegetación, en tratamiento de sombra o expuestos completamente al sol.

Los suelos oscuros, con superficie áspera y de textura fina tienden a presentar temperaturas mas elevadas que los suelos ligeramente coloreados como resultado de una mayor absorción de calor cuando se encuentran expuestos al sol. Este efecto puede ser contrarrestado por el contenido de agua mas alto que generalmente presentan los suelos con mas cantidad de arcillas (oscuros) ya que el agua requiere mucha energía para calentarse y enfría el suelo conforme se evapora. (Brady y Weil 1996). La similitud de las temperaturas registradas en los suelos de área carente de vegetación y de mezquite "maduro" aparentemente se deben a diferentes factores: una mayor cantidad de luz reflejada por parte del primero y un mayor contenido de agua por parte del ultimo. La diferencia en el contenido de agua entre estos dos suelos a capacidad de campo (12 vs. 23% respectivamente, $p= 0.046$) esta en función de su composición granulométrica: los suelos de mezquite tienen una mayor cantidad de arcilla (23 vs. 8%, $p<0.001$) y limos (14 vs. 8%, $p<0.001$), mientras que su contenido de arenas es menor (63 vs. 84%, $p<0.001$) que el suelo de área carente de vegetación. Por lo tanto, es probable que las características del suelo hayan influido en la temperatura del suelo además del tratamiento de sombreado.

Las temperaturas registradas en el suelo como consecuencia de la radiación solar afectaron todas las características de las plantas (Fig. 4). Todas las 60 plantas en suelo de mezquite bajo el régimen de sombra sobrevivieron hasta el final del experimento (6 meses) (Fig. 4A), mientras que las tasas de sobrevivencia disminuyeron en los tres tratamientos restantes, especialmente en el suelo carente de vegetación expuesto a la radiación completa del sol.

El efecto del sol y del suelo, analizados por ANOVA, resultaron significativos para las características de la planta que se utilizaron para medir su crecimiento (Fig. 4B, C, F). Las plantas cultivadas en suelo de mezquite presentaron un mejor desarrollo de tallo y de la planta completa (Fig. 3, 4B) así como de la longitud de raíz (Fig. 4F) que las plantas cultivadas en suelo carente de vegetación. Estas características fueron mejoradas por el tratamiento de sombra.

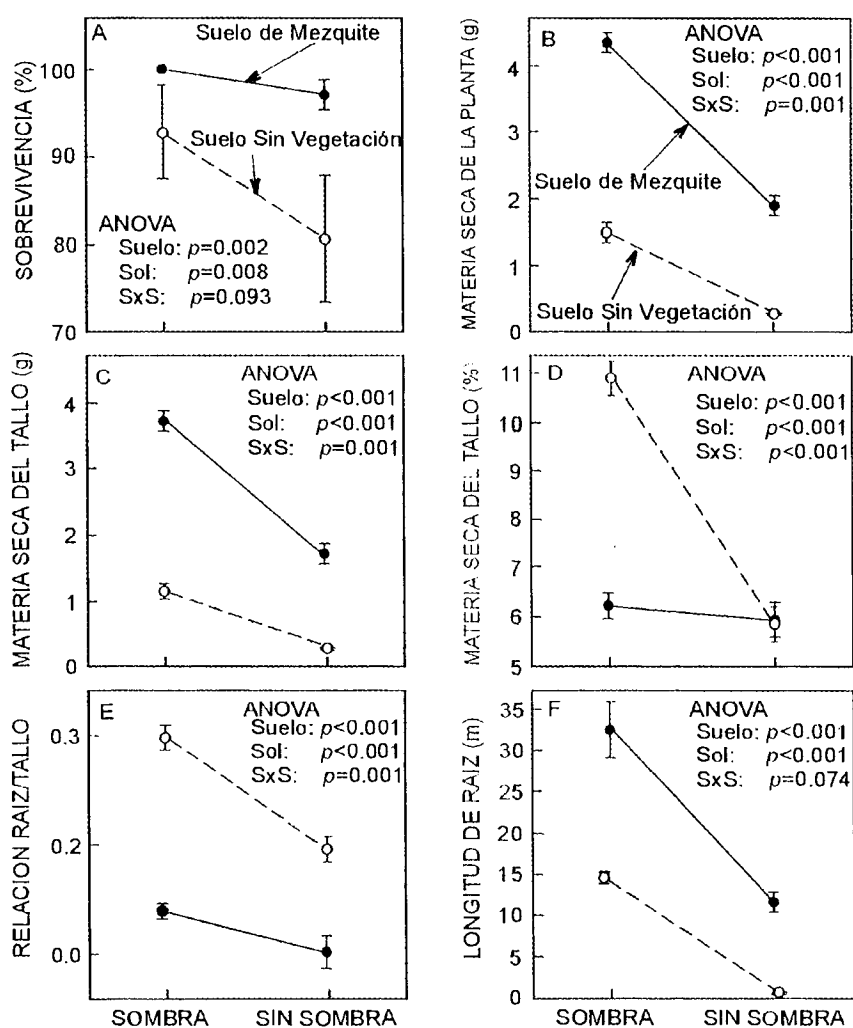


Fig. 4. Efecto de la sombra en la sobrevivencia y crecimiento de plántulas de cardon en dos suelos diferentes durante 6 meses. Las plántulas fueron expuestas a la radiación completa del sol o protegidas por una malla que reduce el 52% de la radiación.

V. Respuesta de plántulas de cardon a la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio cultivadas en suelo pobre en estos nutrientes.

La fertilización con nitrógeno (N) o fósforo (P) en suelo de área carente de vegetación tuvo un efecto significativo en el crecimiento de las plantas de cardon (Fig. 5, Tabla III) así como en la sobrevivencia (Tabla III). De las 60 plantas de cada tratamiento, solo sobrevivió el 48% de ellas en el control, en comparación con el 72% de sobrevivencia de las plantas fertilizadas con nitrógeno, fósforo, potasio (NPK) o con fósforo (P) solamente. La diferencia entre la sobrevivencia de los tratamientos de NPK y N no fue significativa ($p= 0.284$). Los tratamientos con N y P aumentaron la sobrevivencia pero su efecto no fue sinérgico (Fig. 6A).

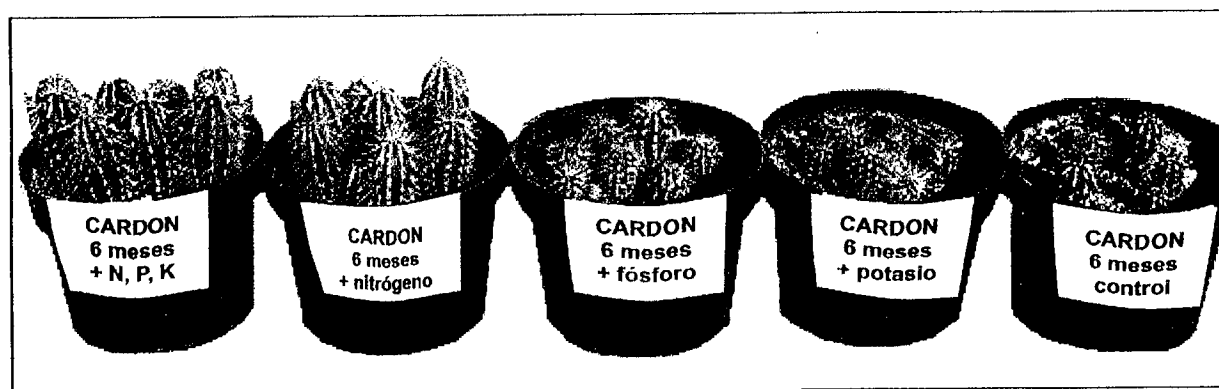


Fig. 5. Plántulas de cardon cultivadas en suelo de área sin vegetación (control) o fertilizadas con N, P, K o NPK.

La incorporación de nitrógeno (Tabla III) incremento el contenido de materia seca de las plantas cultivadas en suelo de área carente de vegetación en el mismo nivel ($p=0.465$) que las plantas cultivadas en suelo de mezquite bajo régimen de sombra en el experimento anterior (Fig. 4B), mientras que el contenido de materia seca en los tratamientos NPK y N (4.7 g y 4.2 g respectivamente) no vario significativamente del observado en las plantas cultivadas en suelo de mezquite "maduro" en condiciones de vivero sin adición de nitrógeno (4.6 g, $p>0.5$). Este aumento en el crecimiento como respuesta a la fertilización con nitrógeno refleja las diferencias significativas en el contenido de nitrógeno del suelo (suelo de mezquite "maduro" vs. suelo de área carente de vegetación, 0.34 vs. 0.24 g/kg, $p=0.006$). Los contenidos de materia seca de los controles en este experimento y los encontrados en las plantas cultivadas en la sombra del experimento anterior resultaron estadísticamente iguales ($p=0.506$). Debido a que la intensidad luminosa a la cual crecieron las plantas cultivadas en el vivero y bajo el régimen de sombra en el experimento anterior es similar, se dice que el aumento en el crecimiento de las plantas cultivadas en suelo de mezquite "maduro" en la sombra es equivalente a la fertilización con nitrógeno a el nivel aplicado. Sin embargo, el efecto de este suelo de mezquite equivalente a la fertilización con nitrógeno disminuyo cuando se expuso a la radiación completa del sol (Fig. 4B, C). El nitrógeno también incremento el contenido de materia seca del tallo (Fig. 6B) y la longitud de la raíz (Fig. 6D).

El contenido de fósforo disponible, al igual que el de nitrógeno, encontrado en el suelo de área carente de vegetación es significativamente menor al del suelo de mezquite "maduro" (0.0028 vs. 0.0045 g/kg, $p=0.007$), aun así la respuesta de la planta a la

fertilización con fósforo fue mucho menor a la de nitrógeno (Fig. 6B, C, Tabla III). La fertilización con P no afectó la longitud de la raíz (Fig. 6D). El efecto del K (concentración no determinada) fue muy pequeño y no significativo (Fig. 6, Tabla III).

Tabla III. Respuesta de plantas de cardon cultivadas en suelo de área sin vegetación o fertilizadas. Los números representan las medias y el (error estándar) de seis repeticiones.

Nutrientes	Características de la planta			
	Sobrevivencia (%)	Materia seca en el tallo (g)	Materia seca en la planta (g)	Longitud de raíz (m)
Control	48 (7)	1.0 (0.2)	1.3 (0.2)	13.3 (3.0)
NPK	72 (5)	4.1 (0.8)	4.7 (0.9)	33.6 (6.6)
N	67 (5)	3.5 (0.6)	4.2 (0.7)	36.0 (5.8)
P	72 (9)	1.5 (0.1)	1.7 (0.2)	12.1 (1.4)
K	55 (10)	0.8 (0.1)	1.0 (0.1)	7.9 (0.8)
ANOVA (<i>p</i>)	0.084	<0.001	<0.001	<0.001

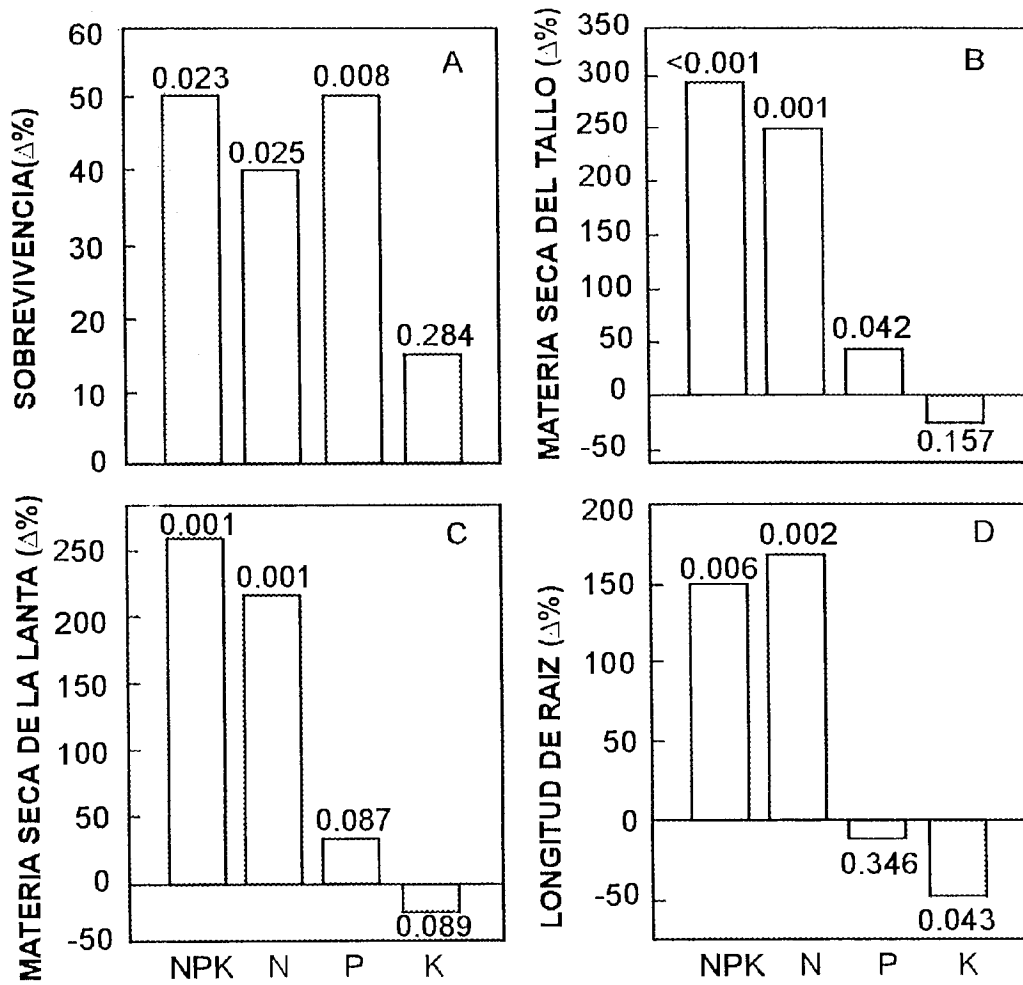


Fig. 6. Respuesta de las plantas de carbon a la fertilización con N, P, K o NPK expresada como porcentaje de cambio [$\% \Delta$, $100 \times (\text{nutriente-control}) / \text{control}$]. Los números (p) representan la significancia o diferencias entre los tratamientos y el control (t de student).

VI. Acidificación de la rizosfera de plántulas de cardon como respuesta a la inoculación con *Azospirillum brasilense* y dos fuentes de nitrógeno.

Condiciones de crecimiento para cultivar plántulas de cardon en solución.

Las placas multi-pozo se colocaron sobre un agitador orbital debido a que las raíces de las plántulas de cardon requieren de una buena aireación (el PEG proporciona cierta viscosidad a las soluciones). Así mismo, las placas multi-pozo son un sistema abierto por lo que la evaporación es un problema constante concentrando el PEG y las sales minerales de la solución de Hoagland. Aun y cuando se adiciono agua destilada para mantener el volumen original, la agitación no fue suficiente para homogenizar las sales y el PEG haciendo muy difícil el mantener las mismas condiciones durante todo el experimento. Las plántulas se estresaron severamente debido a la evaporación. En casi todos los tratamientos, las plantas presentaron una apariencia muy subdesarrollada; tan pequeñas y subdesarrolladas que no se tomo ninguna medición. Las plantas que presentaron una apariencia normal (cotiledones verdes y turgentes y bulbo espinoso) fueron las que se cultivaron en solución de Hoagland (H) al 25% y $\Psi_w = -0.2$ MPa). El Ψ_w de este tratamiento se obtuvo sin la adición de PEG.

$$\text{Conductividad Eléctrica de H 25\%} = 0.561 \text{ mMhos}$$

$$\Psi_s = 0.36 (\text{CE mMhos} \times 10) = 2.019 \text{ bars (1 bar} = 0.1 \text{ MPa)}$$

$$\Psi_w = -0.2019 \text{ MPa}$$

Las plantas más dañadas (cotiledones pequeños y rojos) fueron aquellas que se cultivaron en todos los tratamientos con $\Psi_w = -0.6$ MPa.

El pH inicial de las soluciones varió de 4.37 a 7.02. Debido a esto, se diseñó otro experimento para evaluar la influencia del pH inicial de las soluciones sobre el crecimiento de las plántulas de cardón. En este último experimento, el tratamiento con H 25%, $\Psi_w -0.2$ MPa y pH 6.0 fue significativamente superior con respecto a los demás tratamientos (Fig. 7).

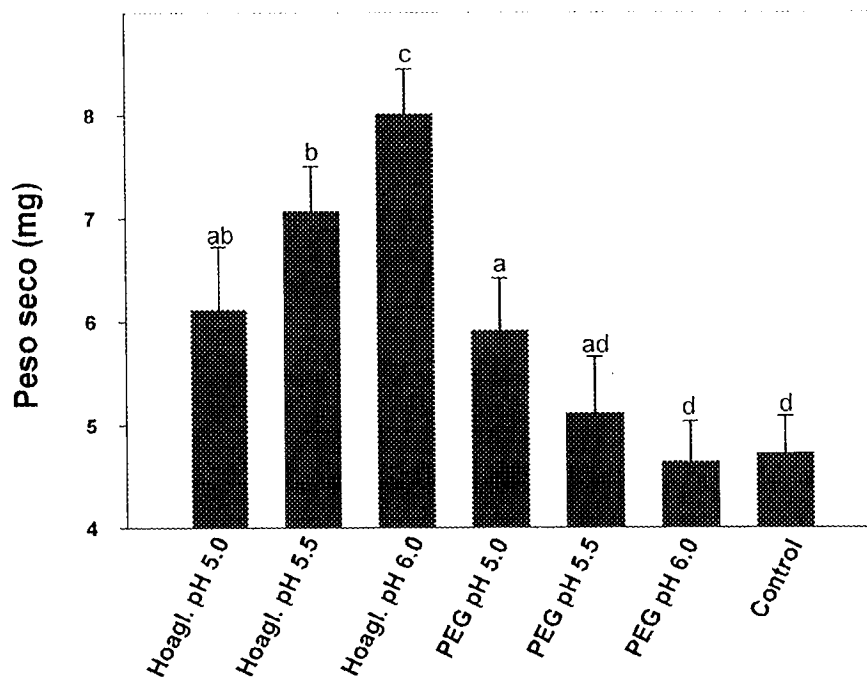


Fig. 7. Materia seca acumulada en las plantas de cardón cultivadas durante 20 días en placas multi-pozo con solución mineral de Hoagland al 25% o polietilenglicol (PEG) a $\Psi_w = -0.2$ MPa y tres valores de pH; 5.0, 5.5 y 6.0. las líneas testadas representan el error estándar.

Además del problema de evaporación, la contaminación con hongos y bacterias es otra consecuencia de trabajar con un sistema abierto, aun dentro de la cámara de crecimiento ambiental. Tomando en cuenta lo anterior, se repitió el experimento utilizando placas Petri como sistema de crecimiento y H 25%, Ψ_w -0.2 MPa y tres diferentes valores de pH (5.0, 5.5 y 6.0). En este ultimo experimento, la producción de materia seca presento el mismo patrón que el observado en el experimento con placa multi-pozo (Fig. 7 y 8), y no se detecto ningún tipo de contaminación. Por lo tanto, la solución de Hoagland al 25%, Ψ_w -0.2 MPa y pH =6.0, y las placas Petri como sistema de crecimiento parecen ser las condiciones mas apropiadas para el desarrollo del experimento de la acidificación de la rizosfera.

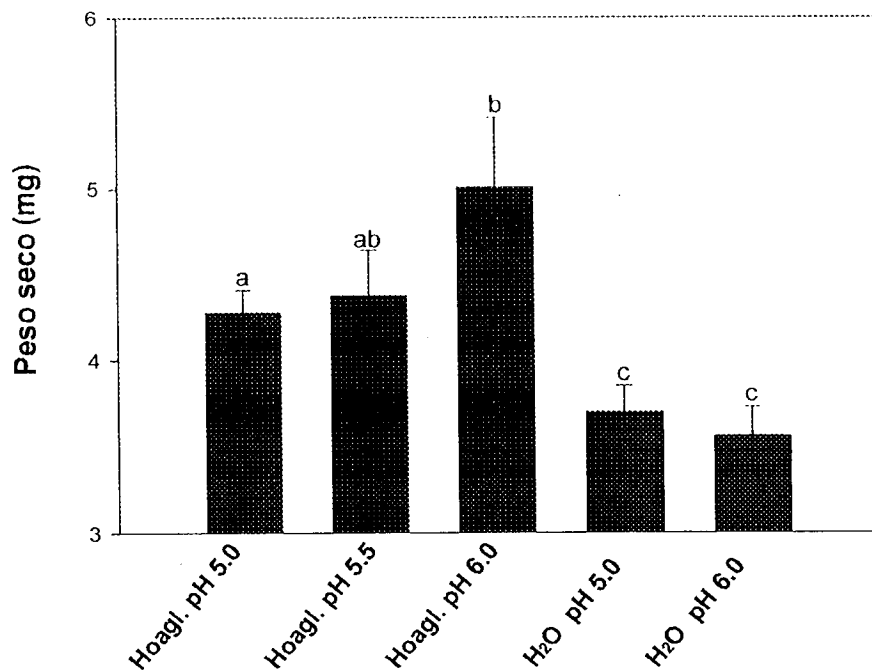


Fig. 8. Materia seca acumulada en las plantas de carbon cultivadas durante 15 días en placas Petri con solución mineral de Hoagland al 25% o polietilenglicol (PEG) a Ψ_w = -0.2 MPa y tres valores de pH; 5.0, 5.5 y 6.0. las líneas testadas representan el error estándar.

Experimento *in vitro* para estimar la acidificación de la rizosfera de plántulas de cardon.

Se utilizaron iones NH_4^+ (promotores de la actividad de la bomba de protones) y NO_3^- (inhibidores del efecto de la bomba de protones) para comparar su efecto con el de la inoculación con *Azospirillum brasilense* (Ab) en la acidificación de la rizosfera de plántulas de cardon.

La acidificación de las soluciones donde se cultivaron las plántulas de cardon se determino por mediciones directas de pH, y se reporto como diferencias de pH (ΔpH) entre el pH original de las soluciones y el pH final determinado a 23, 26, 31, 51 y 71 h. Por lo tanto, números positivos indican una disminución en el pH (acidificación) y números negativos indican un aumento en el pH (alcalinización). Se encontraron diferencias significativas de las 23 h en adelante. No se encontraron diferencias significativas en muestras tomadas a las 1, 2.5, 4, 5.5 y 7 h en experimentos preliminares de corta duración. El experimento se repitió tres veces y se observo el mismo patrón en dos de las repeticiones mientras que el otro experimento resulto diferente debido a causas que solo pueden ser imputables a errores técnicos: Ab y NH_4^+ indujeron un decremento significativo en el pH cuando los dos elementos actuaron juntos en el mismo tratamiento. El efecto mas grande fue el que se observo a las 71 h ($\text{Ab} + \text{NH}_4^+ \Delta\text{pH}$ vs. $\text{NH}_4^+ \Delta\text{pH}$ y $\text{Ab} \Delta\text{pH}$; 1.28 vs. 0.93 y 0.55, respectivamente). Un patrón similar se observo a las 51 h (Fig. 9A). El mismo patrón de acidificación se observo en los tratamientos con nitrato (Fig. 9B) donde a las 51 y 71 h

Ab evito que el pH aumentara tanto como en el tratamiento con NO_3^- y sin Ab ($\text{Ab}+\text{NO}_3^-$ ΔpH vs. NO_3^- ΔpH ; -0.14 vs. -0.32, respectivamente).

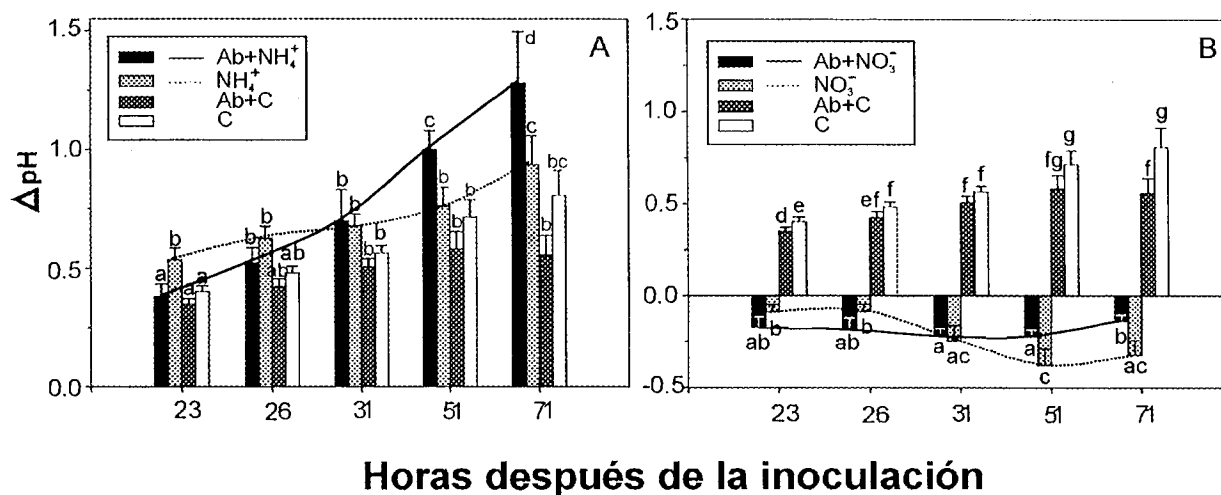


Fig. 9. Diferencias entre el pH inicial y final (ΔpH) de las soluciones donde se cultivaron las plántulas de cardon (C) con una fuente de amonio (NH_4^+) o de nitrato (NO_3^-). Las plantas de algunos tratamientos fueron inoculadas con *Azospirillum brasilense* (Ab). Las líneas testadas representan el error estándar.

La densidad de *Azospirillum* encontrada en la rizosfera de las plántulas de cardon refleja una buena sobrevivencia al final del experimento en todos los tratamiento donde se incluyeron plántulas inoculadas ($2-8 \times 10^5$ UFC/mL o $1.5-5.3 \times 10^5$ UFC/mg de raíz).

Experimento en suelo para determinar la acidificación de la rizosfera en plántulas de cardon y su efecto en la solubilización de una fuente de fósforo.

El pH se midió solamente al final del experimento para evitar alteraciones en el suelo. Solo son 17 g de suelo en un contenedor muy pequeño por lo que se trato de evitar cualquier manipulación mecánica durante el transcurso del experimento. No se observaron diferencias significativas en el pH del suelo. Por otro lado, si se observaron diferencias significativas en el pH de la rizosfera de algunos tratamientos (Fig. 10). Los valores del pH de la rizosfera en todos los tratamientos estuvieron por encima de 7.0, sin embargo, los tratamientos con $Ab+NH_4^+$ y solo Ab indujeron valores de pH mas bajos que los demás tratamientos (7.5 y 7.51, respectivamente).

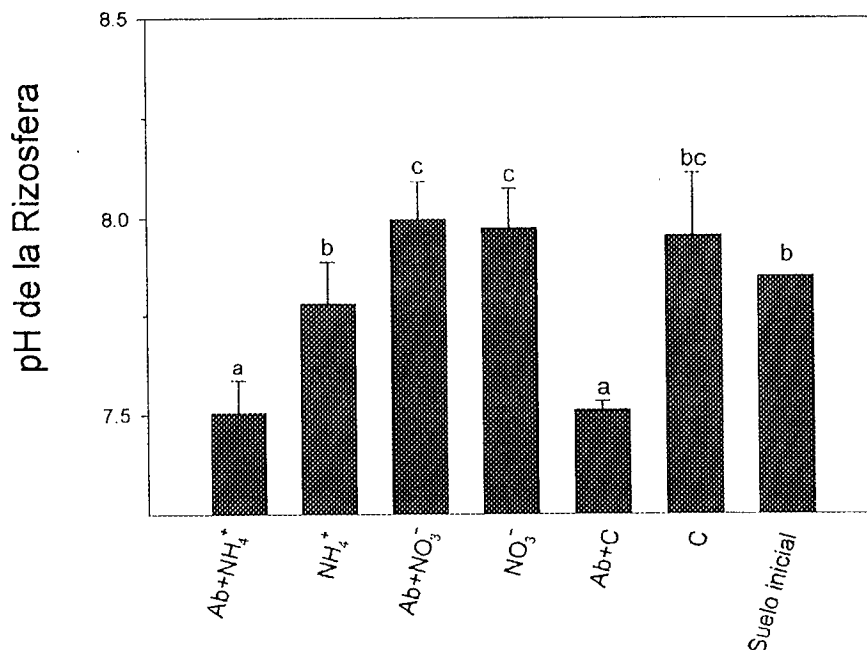


Fig. 10. pH de la rizosfera de plantas de cardon (C) cultivadas en suelo con una fuente de fósforo altamente insoluble ($FePO_4$). Las plantas de algunos tratamientos fueron inoculadas con *Azospirillum brasilense* (Ab) y una fuente de amonio (NH_4^+) o de nitrato (NO_3^-). Las líneas testadas representan el error estándar.

Considerando que el valor inicial del pH del suelo fue de 7.85, valores de pH de 7.5, 7.51 y 7.78 (tratamientos con $\text{Ab}+\text{NH}_4^+$, Ab y NH_4^+ , respectivamente) pueden indicar una producción activa de protones lo suficientemente capaz de cambiar el estado de oxidación de formas de fósforo altamente insolubles (ie. FePO_4), movilizándolas a formas mas asimilables para las plantas. Los tratamientos con Ab y NH_4^+ promovieron una mayor disolución de FePO_4 que los tratamientos con NO_3^- y Ab (Fig. 11). El tratamiento con $\text{Ab}+\text{NH}_4^+$ (pH de la rizosfera de 7.5) vs. $\text{Ab}+\text{NO}_3^-$ (pH de la rizosfera de 7.99) disolvió 0.9 vs. 0.8 mg de FePO_4 , respectivamente, mostrando que a determinado nivel el NO_3^- inhibió la disolución de la fuente de fósforo.

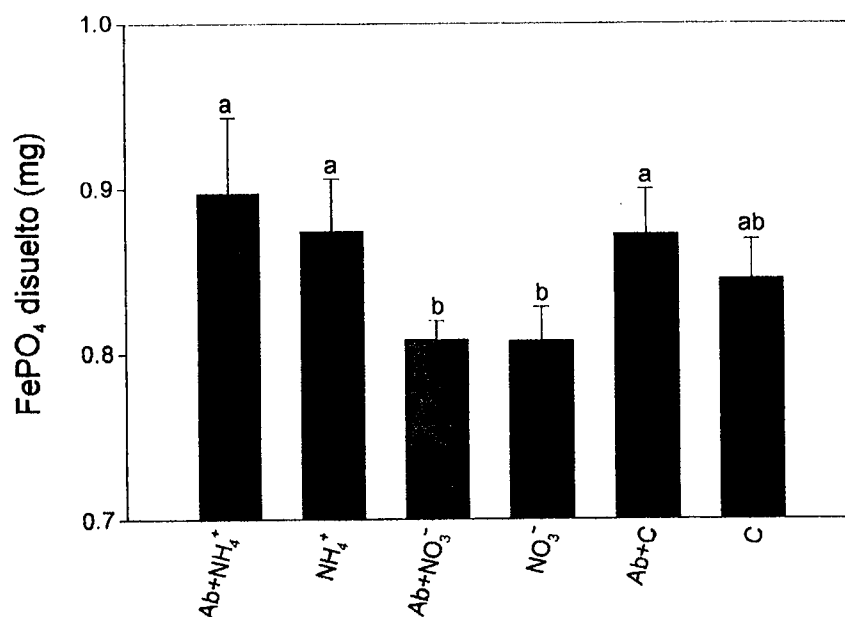


Fig. 11. FePO_4 disuelto por plantas de cardon (C) inoculadas con *Azospirillum brasilense* (Ab) e irrigadas con una fuente de amonio (NH_4^+) o de nitrato (NO_3^-). Las líneas testadas representan el error estándar.

Los tratamientos en que la actividad de acidificación de la rizosfera fue mas notoria produjeron una mayor cantidad de materia seca que los demás tratamientos (Fig. 12). Este efecto fue mas notorio en la producción de materia seca de las raíces (Fig. 12B), donde las plantas de los tratamientos con $Ab+NH_4^+$ (pH de la rizosfera de 7.5) produjeron 4.46 mg de materia seca de raíz vs. ≈ 3 mg de las plantas en los tratamientos con $Ab+NO_3^-$ y control (plántulas no inoculadas con *Ab* y sin fuentes de nitrógeno) o 2 mg del tratamiento con NO_3^- solamente (pH de la rizosfera de 8.0, 7.95 y 7.97, respectivamente). Se observo el mismo patrón de producción de materia seca en el tallo y la planta completa (Fig. 12A, C).

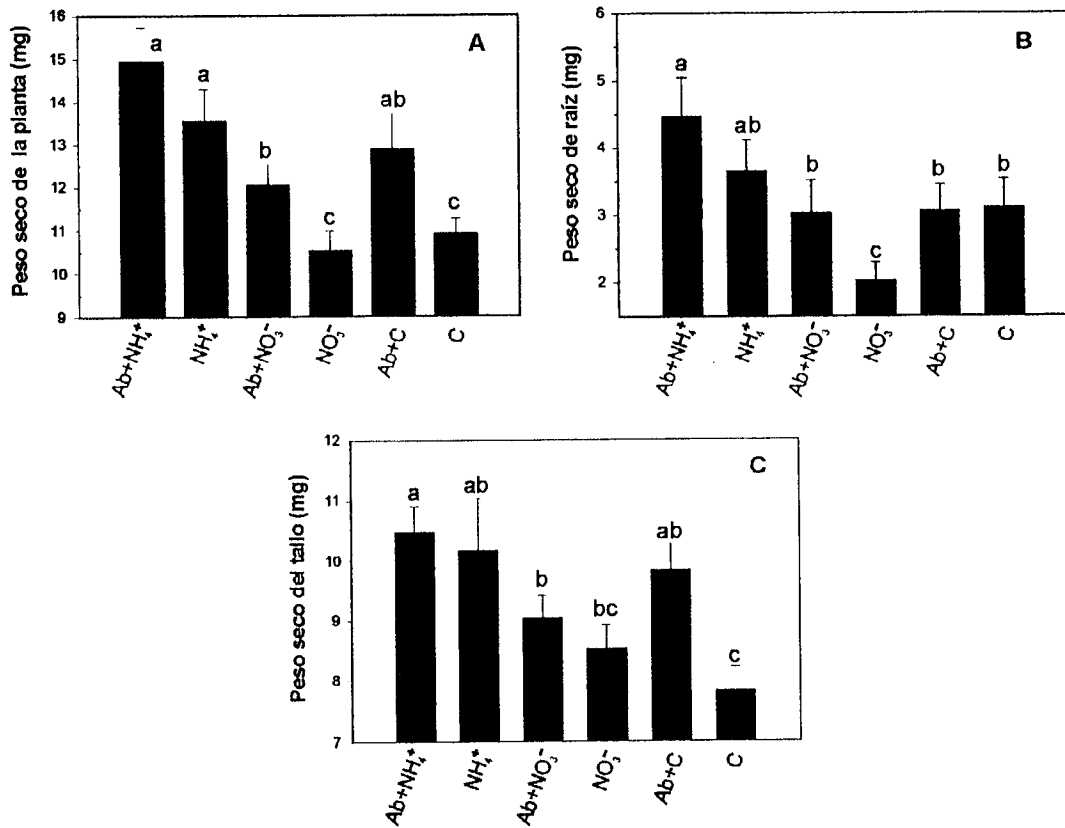


Fig. 12. Producción de materia seca en las plantas de carbon (C) cultivadas en suelo con una fuente de fósforo altamente insoluble ($FePO_4$). Las plantas de algunos tratamientos fueron inoculadas con *Azospirillum brasilense* (*Ab*) y una fuente de amonio (NH_4^+) o de nitrato (NO_3^-). Las líneas testadas representan el error estándar.

La densidad de *Azospirillum* encontrada en la rizosfera de las plántulas de cardon reflejo una buena sobrevivencia al final del experimento en todos los tratamiento donde se incluyeron plántulas inoculadas ($1-10 \times 10^6$ UFC/mL o $3-29 \times 10^5$ UFC/mg de raíz).

DISCUSION

La respuesta al suelo por parte de las plántulas de cardon en ausencia de estrés por sequía o temperatura, mostró que la naturaleza del suelo por si mismo es un factor importante para el establecimiento de plantas; los cardones crecieron mejor en suelo de mezquite "maduro" que en cualquiera de los otros suelos evaluados. En el medio natural, la competencia o facilitación de las plantas asociadas (Callaway y Walker 1997) afecta positiva o negativamente la respuesta de las plantas a la calidad del suelo como único factor (Doran y Parkin 1994) modificando variables importantes como la disponibilidad de agua, intensidad luminosa y estructura del suelo (Noy-Meir 1973). La contribución de este estudio para mejorar actividades de restauración ambiental es la de demostrar que la naturaleza del suelo donde crecen las plántulas de cardon es importante para su sobrevivencia y que suelos pobres pueden ser mejorados con la adición de microorganismos del suelo y rizosfericos promotores del crecimiento en plantas. Posiblemente se podría hacer uso en cantidades limitadas de suelos naturalmente disponibles, como los de las islas de recursos (mezquite), para facilitar la sobrevivencia de algunas plantas durante su fase temprana, y mas critica, de desarrollo. Otra posibilidad es la de reproducir las principales características de un suelo de isla de recursos, creando así un suelo artificial favorable para el establecimiento de plantas (Bashan y Vazquez 2000). Después de la germinación, la temporada mas critica es la primera estación de calor, por lo que un gran número de plántulas podrían beneficiarse con estas propuestas (Puente y Bashan 1993).

Los efectos del suelo sobre las plántulas de cardon se contrarrestaron por la competencia con plantas de sorgo. La planta competidora elimino los efectos benéficos de un suelo mas rico en nutrientes y con una textura mas fina. Aunque no bajo el número de plántulas sobrevivientes, al menos durante el tiempo que duro este experimento, si disminuyo la acumulación de biomasa en el tallo en casi un 90% en el suelo de mezquite "maduro". Estos resultados no impiden suponer que a largo plazo la sobrevivencia de las plántulas de cardon pudiera disminuir en un ambiente dominado por este tipo de plantas competidoras. Esto se puede apreciar en el campo donde en el área de influencia de un mezquite "maduro" que se encontraba completamente invadida por *C. Ciliaris* no se observaron plántulas de cardon asociadas (G.J. Bethlenfalvay, datos sin publicar). El mecanismo de competencia que se pudo observar en este estudio, es posiblemente la inducción de estrés por sequía como lo muestra la reducción del contenido de agua en las plántulas de cardon en comparación con los controles, este efecto se observo en todos los suelos (Tabla 1).

Uno de los resultados importantes de este estudio es la relación entre la respuesta del cardon a la inoculación con *Azospirillum* en relación a la calidad del suelo. No hubo respuesta de las plantas a la inoculación con *Azospirillum* en el suelo de mezquite "maduro", pero la respuesta se incremento al disminuir la calidad del suelo. Las comparaciones de la respuesta se realizaron entre el tratamiento con *Azospirillum* y el control no inoculado de cada uno de los suelos, la respuesta disminuyo dentro del mismo tratamiento con *Azospirillum* a medida que la calidad del suelo disminuyo. Este patrón no ha sido reportado anteriormente en suelos no agrícolas, aunque se han reportado elevados

rendimientos en campos que presentaban baja producción cuando no eran inoculados con *Azospirillum* (Jagnow 1987). El único dato que se tiene hasta el momento en relación a la respuesta de *Azospirillum* a una característica específica del suelo es en relación a la fertilización con nitrógeno: se obtuvieron elevados rendimientos de manera consistente cuando la cantidad de nitrógeno se encontraba por debajo de la óptima (Mertens y Hess 1984, O'Hara et al. 1987). Finalmente, se puede apreciar que los rasgos de crecimiento de las plántulas en respuesta a la inoculación con *Azospirillum* fueron significativamente afectados por algunas características del suelo: el crecimiento de la planta se vio favorecido cuando se cultivaron en suelo con bajo nivel de nutrientes y textura más gruesa.

Estos resultados pueden parecer contradictorios con los obtenidos por Puente y Bashan (1993) donde *Azospirillum* mejoró algunos parámetros de crecimiento de las plantas en relación a los controles, sin embargo, ellos cultivaron a las plántulas de cardón en vermiculita como soporte de crecimiento en condiciones ambientales completamente controladas y las irrigaron con solución mineral de Hoagland al 25%. De esta manera, podemos considerar a este experimento en suelo como la continuación de su estudio en un ambiente más cercano al natural.

Algunos suelos, aparentemente, poseen características (como el de mezquite "maduro") que le permiten a otras plantas, como el cardón, desarrollar un buen crecimiento sin la ayuda de inoculantes microbianos. Por otro lado, para otros suelos como el de mezquite "joven", palo fierro y especialmente el de área carente de vegetación, la

inoculación con *Azospirillum* fue lo suficientemente importante para aumentar el crecimiento de las plántulas.

Los componentes del suelo (textura, pH y nutrientes) tienen un efecto muy reducido en la sobrevivencia de *Azospirillum* y este puede ser positivo o negativo (Bashan 1999). Sin embargo *Azospirillum* no presenta una buena tasa de sobrevivencia en el suelo, mientras que sí persiste en la rizosfera de plantas de trigo y tomate (Bashan et al. 1995) al igual que en plantas de otras especies. La desaparición de estas bacterias en suelos donde no son nativas, como en este experimento, ya se ha reportado anteriormente (Albercht et al. 1983, Smith et al. 1984). Por otro lado, algunos autores han reportado que *Azospirillum* sobrevive en la rizosfera de plantas hasta 300 días después de haber sido inoculado semillas (Puente y Bashan 1993) en condiciones de laboratorio completamente controladas, así como hasta por dos años a niveles muy bajos en la rizosfera de cactáceas transplantadas en su ambiente natural, sin embargo la bacteria desapareció completamente del suelo siete meses después de la inoculación (Bashan et al. 1999). Es difícil explicar por qué *Azospirillum* no pudo ser detectado al final del experimento en este estudio, pero el efecto benéfico de la bacteria fue significativamente diferente en el suelo más pobre en comparación con su control demostrando la presencia de *Azospirillum* al menos durante una parte del tiempo que duró el experimento.

La interacción significativa entre los factores (sol y suelo) mostró que el efecto de la sombra en la sobrevivencia de las plantas fue diferente entre los dos tipos de suelo evaluados (Fig. 4A): los efectos fueron significativamente diferentes indicando que los

factores no fueron independientes uno de otro. La interpretación de este fenómeno es que las elevadas temperaturas del suelo (exposición completa al sol) afecto negativamente la sobrevivencia de las plantas en el suelo de área carente de vegetación (arenoso y bajo contenido de agua) de una forma mas intensa que en el suelo de mezquite "maduro" debido a la falta de humedad que promoviera un ambiente refrescante.

Los principales efectos del sol y del suelo, comparados por un análisis de varianza, resultaron ser significativos en las principales características del crecimiento (Fig. 4B, C, F). El desarrollo de la planta completa y del tallo (Fig. 3), así como de la longitud de la raíz (Fig. 4F) fue mayor en el suelo de isla de recursos (mezquite maduro) que en el de área carente de vegetación. El nivel de estas características aumento en la sombra. Las interacciones estadísticas para medir el efecto en el crecimiento fueron significativas pero diferentes al patrón observado en la sobrevivencia en donde la respuesta en el crecimiento de la planta cambio menos en el tratamiento completamente expuesto al sol que en el tratamiento de sombra. La interpretación de este patrón de respuesta es que las temperaturas mas bajas y la mejor calidad del suelo (Doran y Parkin 1994) tienen un efecto sinérgico sobre el crecimiento.

Esta interpretación apoya otros valiosos resultados que relacionan el crecimiento y la sobrevivencia de la planta principalmente al efecto de la radiación solar (Franco y Nobel 1989, Shreve 1931, Turner et al. 1966, Valiente y Ecurra 1991, Valiente et al. 1991). Sin embargo, también considero al suelo como un modificador de los efectos de la temperatura: se ha demostrado que suelos formados por diversas plantas nodrizas (Barth y Klemmedson

1982, Turner 1966) o por diferentes periodos de tiempo (Archer et al. 1988) afectan el establecimiento de plántulas independientemente de la temperatura del suelo. Los datos aquí presentados sugieren que el papel de la planta nodriza en el establecimiento de las plántulas no esta restringido a la disminución de temperaturas extremas, sino que incluye la formación de un suelo de isla de recursos de textura fina (Joffre y Rambal 1993) como parte del efecto total. Es bien sabido que las mejores condiciones de humedad en estos suelos (Noy-Meir 1973) contribuyen junto con el efecto del dosel a la sobrevivencia y el crecimiento de las plántulas.

La acumulación de materia seca del tallo de las plántulas (Fig. 4D) y la relación raíz/tallo (Fig. 4E), indicaron que el factor Sol influyo en aspectos del desarrollo (hidratación del tejido del tallo y distinta distribución de nutrientes en la planta, respectivamente) en mayor medida en suelo de área carente de vegetación que en suelo de isla de recursos. Mientras que la acumulación de materia seca en el tallo de las plantas cultivadas en suelo de mezquite no respondió al tratamiento de sombra ($p= 0.340$), hubo una respuesta muy marcada en el suelo de área carente de vegetación sugiriendo diferencias relacionadas al suelo en cuanto a la respuesta fisiológica a la radiación solar o sombra. La relación raíz/tallo presento un patrón similar; el desarrollo de la raíz en relación al total de la planta fue mayor en el suelo mas pobre, reflejando un aumento en el desarrollo de la raíz comúnmente observado bajo condiciones limitantes de nutrientes. Un mejor desarrollo de las raíces en el tratamiento de sombra (Fig. 4E, F) también refleja temperaturas mas favorables del suelo sub-superficial.

El experimento donde se cultivaron las plántulas de cardon en cuatro suelos diferentes mostró un aumento significativo en el crecimiento de las plantas cuando estas se cultivaron en suelo de isla de recursos en comparación con el suelo de área carente de vegetación en idénticas condiciones a las utilizadas en el experimento de nutrientes. Por lo tanto, en este trabajo se estudio la capacidad de algunos nutrientes para estimular el crecimiento de plántulas de cardon en suelo pobre en estos nutrientes y comparar su efecto con los resultados encontrados en el experimento de los cuatro suelos.

El crecimiento de las plantas cultivadas en suelo pobre se incremento considerablemente (>200%) en respuesta a la fertilización con nitrógeno, y fue muy similar al observado en las plantas de cardon en suelo de mezquite "maduro" sin adición de nitrógeno. En cambio, se obtuvo una pequeña respuesta del crecimiento a la aplicación del fósforo (<50%), mientras que el potasio no influyo significativamente en el crecimiento de las plantas. La repuesta de las plantas a la aplicación de los tres nutrientes juntos (NPK) fue similar a la de la fertilización con nitrógeno solamente. Estos resultados sugieren una interacción entre los efectos de sombreado y nutrientes para determinar la sobrevivencia temprana así como el crecimiento del cardon en diferentes suelos.

Este efecto del nitrógeno en plantas creciendo en suelos áridos, en comparación con otros nutrientes, ya ha sido reportado con anterioridad (Franco y Nobel 1989, Virginia 1986, Virginia y Jarrel 1983). Los resultados aquí presentados confirman estos hallazgos y los relacionan a los efectos producidos por la radiación solar y la temperatura (Valiente et al. 1991, Valiente y Escurra 1991) que conjuntamente con el efecto de sequía (Jordan y

Nobel 1981) y uso del suelo (Niering y Lowe 1985) determinan los tipos y las dinámicas de las poblaciones en ambientes áridos (Niering et al. 1963, Noy-Meir 1973). La determinación de los niveles de factores críticos que limitan a las comunidades vegetales dentro de sus ambientes naturales es un tema de estudio dentro del campo de la ecología-fisiológica (Niering et al. 1963).

A medida que la población humana se incrementa, impone una presión cada vez mayor sobre las comunidades naturales, sin embargo, una mayor comprensión sobre las interrelaciones entre los factores limitantes del crecimiento de plantas, puede ser un elemento muy importante dentro del contexto de restauración del medio ambiente (Hobbs y Norton 1996).

Finalmente, se determinó el efecto benéfico de la acidificación de la rizosfera. La acidificación de la rizosfera se debe principalmente a la extrusión de protones y a la liberación de ácidos orgánicos, por lo tanto, y de acuerdo a la metodología utilizada en este estudio, no se pudo determinar directamente el incremento de la actividad de extrusión de protones como respuesta a la inoculación con *Azospirillum*. Debido a que la extrusión de protones no es el único elemento responsable de la acidificación de la rizosfera, he decidido llamar incremento o decremento de la actividad de acidificación de la rizosfera al efecto que produce un promotor de la actividad de la bomba de protones (*Azospirillum*, NH_4^+) o un inhibidor del efecto de su actividad (NO_3^-).

Las auxinas producidas por *Azospirillum* (Mascarua et al. 1988, Horemans et al. 1986) pueden inducir a las células a transportar protones hacia la pared celular estimulando la H⁺-ATPasa (Taiz y Zeiger 1998), enzima responsable de la extrusión de protones. Este efecto producido por *Azospirillum* produce un aumento en la acidificación de la rizosfera y se determinó indirectamente midiendo el pH de la rizosfera de plantas de cardon y sus efectos benéficos; promoción del crecimiento y disolución de una fuente de fósforo altamente insoluble (FePO₄·2H₂O). En relación a la solubilización del FePO₄·2H₂O, debe tomarse en cuenta que el pH de la rizosfera solo puede ser considerado como un indicador de la actividad de acidificación. A pesar de que los valores encontrados en el pH de la rizosfera se deben principalmente a la extrusión de protones y a la liberación de ácidos orgánicos, estos no pueden ser directamente considerados como responsables de la disolución de la fuente de fósforo ya que los protones que participaron en esta actividad fueron consumidos por la misma no pudiendo ser ya detectados por simples mediciones de pH.

El efecto de los iones NH₄⁺ y NO₃⁻ en la acidificación de la rizosfera es similar al reportado por Marshner et al. (1986, 1982); la adición de amonio indujo un incremento del flujo neto de excreción de protones (H⁺) sobre el de HCO₃⁻ y OH⁻ en lupin blanco (*Lupinus albus* L.), mientras que el nitrato ocasionó el efecto contrario. Bashan y Levanony (1989) también reportaron el mismo patrón en trigo (*Triticum aestivum*). En este trabajo de tesis, el experimento *in vitro* claramente mostró el efecto de la inoculación con *Azospirillum* como promotor de la acidificación de la rizosfera. Cuando *Azospirillum* actuó junto con otro promotor de la actividad de la bomba de protones, ayudó a las plantas de cardon a bajar

mas el pH de la rizosfera que cuando *Azospirillum* o NH_4^+ actuaron independientemente. Cuando se encontró en presencia de un inhibidor del efecto de la extrusión de protones (NO_3^-), *Azospirillum* evito que el pH se incrementara tanto como en el tratamiento con NO_3^- sin *Azospirillum*. Estos resultados concuerdan con lo que Bashan et al. (1989) encontró en trigo; *Azospirillum brasilense* ayudo parcialmente a la recuperación de la actividad de la extrusión de protones en las raíces de trigo cuando se incluyo NO_3^- .

Se ha reportado que *Azospirillum* produjo un descenso en el pH de una solución hidropónica para el cultivo de trigo, casi inmediatamente después de la inoculación de las plantas de trigo y después de 20 h no se detectaron diferencias entre las plantas inoculadas y las no inoculadas Bashan et al. 1989). Este mismo efecto de reducción del pH se detecto en este estudio pero hasta 23 h después de la inoculación de las plántulas de cardon, y antes de este tiempo no se detectaron diferencias significativas. Esto pudiera parecer contradictorio con lo que Bashan et al. (1989) reportaron, pero tenemos que considerar que el trigo (de rápido crecimiento) y el cardon (de lento crecimiento) son plantas que evolucionaron en diferentes ambientes por lo que sus diferencias metabólicas deben ser tomadas en cuenta.

En el experimento en suelo se evaluaron los beneficios potenciales de la acidificación de la rizosfera. Las plantas produjeron mas materia seca acumulada en las raíces, tallo y en la totalidad de la planta cuando se inocularon con *Azospirillum* y se expusieron a una fuente de NH_4^+ simultáneamente. De acuerdo a la hipótesis del crecimiento ácido, las células crecen mucho mas rápido a pH ácido que a pH neutro. Por lo

tanto, cualquier compuesto o microorganismo que promueva la extrusión de protones debería estimular el crecimiento (Taiz y Zeiger 1998). Los resultados aquí presentados parecen corroborar la propuesta anterior así como los hallazgos de Marshner et al. (1986); fosfatos de hierro y aluminio son movilizados por la exudación de sustancias quelantes (probablemente citrato) y la extrusión de protones, al menos en parte, y un aumento en la extrusión de protones por NH_4^+ moviliza mas nutrientes que la inhibición de la extrusión de protones por NO_3^- . Puente y Bashan (1993) también encontraron que *Azospirillum* estimula el desarrollo de las plántulas de cardon inoculadas.

El cardon, al igual que otras plantas del desierto, es de muy lento crecimiento, por lo tanto, un programa de reforestación puede ser claramente beneficiado por cualquier elemento que ayude a las plantas a crecer mas rápidamente, al menos en las etapas iniciales de su desarrollo cuando son mas susceptibles a las difíciles condiciones de las zonas áridas.

El desarrollo de un suelo, por parte de algunas plantas, capaz de soportar micro comunidades biológicas puede ser considerado como una actividad de restauración natural, por lo que este fenómeno puede ser tomado como modelo para comenzar un programa de restauración de zonas áridas. En estos ambientes desérticos es importante identificar cuales son las mejores plantas formadoras de islas de recursos y modificadoras del suelo. La información encontrada en este estudio pudiera marcar la pauta para futuros trabajos sobre el mismo tema que permitirán comprender de una mejor manera las asociaciones naturales entre algunos organismos vegetales de zonas áridas. De esta forma, el siguiente paso sería el diseño de una estrategia que permita manipular algunas de las características biológicas del modelo con el fin de acelerar el crecimiento de las plantas propuestas. Para este fin se

propondría la utilización de microorganismos benéficos (bacterias del género *Azospirillum* y hongos micorrizicos vesiculo-arbusculares).

CONCLUSIONES

1. La naturaleza del suelo en donde crecen las plántulas de cardon es importante para su sobrevivencia.
2. El suelo de mezquite "maduro" demostró ser el mejor soporte para la promoción de la sobrevivencia y desarrollo de las plantas de cardon.
3. La inducción de estrés por sequía por parte del sorgo, parece ser un mecanismo de competencia entre pastos y plantas de cardon cuando convergen en la misma isla de recursos.
4. Los suelos pobres pueden ser mejorados como sustrato de cactáceas al aplicarles microorganismos del suelo promotores del crecimiento en plantas.
5. El menor contenido de nutrientes y la textura mas gruesa del suelo de área carente de vegetación favorecieron el crecimiento de las plantas cuando estas se inocularon con *Azospirillum*.
6. Se confirmó la calidad de *Azospirillum* como bacteria promotora del crecimiento de cactáceas.
7. El papel de la planta nodriza no esta restringido a la disminución de temperaturas extremas como efecto de su dosel sino a la formación de suelo con textura fina, rico en nutrientes y con mejor capacidad para retener la humedad, como parte del efecto total.
8. Parece ser que el nitrógeno es un importante factor limitante y el suelo de mezquite "maduro" demostró estar al nivel del mejor tratamiento de fertilización (N) para estimular el crecimiento de las plantas.

9. La incorporación de microorganismos promotores del crecimiento en plantas puede acelerar las actividades de restauración de áreas perturbadas, mientras que la introducción irresponsable de plantas exóticas (especialmente pastos de crecimiento rápido) pudiera perjudicarlas.
10. El desarrollo natural de un suelo de mezquite puede servir como modelo para un programa de recuperación de zonas áridas.
11. La acidificación de la rizosfera de plántulas de cardon puede ser incrementada por la inoculación con *Azospirillum* promoviendo el crecimiento a través de dos posibles mecanismos:
 - Movilización de nutrientes que de otra manera no estarían disponibles para la planta (se demostró en este estudio).
 - Las paredes celulares crecen mucho mas rápido a pH ácido (hipótesis del crecimiento ácido).

Bibliografía.

- Agnew, C. y Warren, A. 1996. A framework for tackling drought and land degradation. *J. Arid Environ.* 33:309-320
- Armbrust, D.V. y Bilbro. 1997. Relating plant canopy characteristics to soil transport capacity by wind. *Agro. J.* 89:157-162.
- Arriaga, L., Maya, Y., Diaz, S. y Cancino, J. 1993. Association between cacti and nurse perennials in a heterogeneous tropical dry forest in northwestern Mexico. *J. Veg. Sci.* 4: 349-356.
- Baldani, V., Baldani, J. y Dobereiner, J. 1983. Effects of *Azospirillum* inoculation on root infection and nitrogen incorporation in wheat. *Can. J. Microbiol.* 29:924-929.
- Barbieri, P., Trambaioli, C., Sanetti, G. y Galli, E. 1995. Inoculation with *Azospirillum brasilense* Cd affects the root system development of *sorghum bicolor*. In "Azospirillum VI and Related Microorganisms: NATO ASI Series. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg. Vol. G37: 335-340.
- Barth, R. y Klemmedson, J. 1982. Amount and distribution of dry matter, nitrogen, and organic carbon in soil-plant systems of mesquite and palo verde. *J. Rang. Man.* 35:412-418.
- Bashan, Y. 1986. Significance of timing and level of inoculation with rhizosphere bacteria on wheat plants. *Soil Biol. Biochem.* 18: 297-301.
- Bashan, Y. 1999. Interactions of *Azospirillum* spp. In soils: a review. *Biol. Fertil. Soils.* 29:246-256

- Bashan, Y., Davis, A., Carrillo-García, A. y Linderman, R. 2000. Assesment of VA mycorrhizal inoculum potential in relation to the establishment of cactus seedlings under mesquite nurse-trees in the Sonoran Desert. *Appl. Soil Ecol.* 14:165-175.
- Bashan, Y. y Holguin, G. 1997. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Can. J. Microbiol.* 43:103-121.
- Bashan, Y. y Levanony, H. 1985. An improved selection technique and medium for the isolation and enumeration of *Azospirillum brasilense*. *Can. J. Microbiol.* 31: 947-952.
- Bashan, Y. y Levanony, H. 1989. Effect of root environment on proton efflux in wheat roots. *Plant and Soil.* 119:191-197.
- Bashan, Y. y Levanony, H. 1990. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. *Can. J. Microbiol.* 36:591-608.
- Bashan, Y., Levanony, H. y Mitiku, G. 1989. Changes in proton efflux of intact wheat roots induced by *Azospirillum brasilense* Cd. *Can. J. Microbiol.* 35:691-697.
- Bashan, Y., Mitiku, G., Ziv-Vecht, O. y Levanony, H. 1991. Estimation of minimal numbers of *Azospirillum brasilense* using time-limited liquid enrichment combined with enzyme-linked immunosorbent assay. *Soil Biol. Biochem.* 23: 135-138.
- Bashan, Y., Rojas, A. y Puente, M.E. 1999. Improved establishment and development of three cacti species inoculated with *Azospirillum brasilense* transplanted into disturbed urban desert soil. *Can. J. Microbiol.* 45:441-451.
- Belsky, A., Amudson, R., Duxbury, J., Riha, S., Ali, A. y Mwonga, S. 1989. The effects of trees on their physical, chemical, and biological environments in a semi-arid savanna in Kenya. *J. App. Ecol.* 26: 1005-1024.

- Bradshaw, A.D. y Chadwick, M.J. 1980. The restoration of land. University of California Press, Berkeley.
- Bremner, J. y Mulvaney, C. 1982. Nitrogen-total. Pages 595-624 in A.L. Page, editor. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and biological methods, 2nd edition. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.
- Callaway, R. 1995. Positive interaction between plants. *Bot. Rev.* 61: 306-349.
- Carpita, N., Sabulase, D., Montezinos, D., y Delmer, D.P. 1979. Determination of the pore size of cell walls of living plants cells. *Science*. 205:1144-1051.
- Charley, J. y West, N. 1975. Plant-induced soil chemical patterns in some shrub-dominated semi-desert ecosystem of UTAH. *J. Ecol.* 63: 945-967.
- Cordiki, L. y Rincon, R. 1997. Arbuscular mycorrhizae in a tropical sand dune ecosystem on the Gulf of Mexico. II. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of species distributed in early successional stages. *Mycorrhiza*. 7: 17-23.
- Emmerich, W. y Hardegree, S. 1991. Seed germination in polyethylene glycol solution: effects of filter paper exclusion and water vapor loss. *Crop Sci.* 31: 454-458.
- Fauci, M. y Dick, R. 1994. Microbial biomass as an indicator of soil quality: Effects of long-term management and recent soil amendments. In "Defining soil quality for sustainable environment", special publication. J.W.Doran. D.C.Coleman, D.F.Bezdicek y B.A. Stewart (eds.). *Soil Sciences Society of America*, Madison, Wisconsin. P: 229-234.
- Franco, A. y Nobel, P. 1989. Effect of nurse plants on the microhabitat and growth of cacti. *J. Ecol.* 77: 870-886.

- Garner, W. y Steinberger, Y. 1989. A proposed mechanism for the formation of "Fertile Islands" in the desert ecosystem. *J. Arid Environ.* 16:257-262.
- Gee, G. y Bauder, J. 1986. Particle-size analysis. Pages 383-411 A. Klute, editor. Methods of soil analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods. 2nd edition. American Society of Agronomy and Soil Science of America, Madison, Wisconsin.
- Gibson, A. y Nobel, P. 1986. Succulence: Roots and roots succulence, In "The Cactus Primer". Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts. London, England. P: 46-72.
- Giovannetti, M. y Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in roots. *New Phytol.* 84: 489-500.
- Grover, H.D., y Musick, H.B. 1990. Mexico, U.S.A.: an analysis of desertification processes in the American southwest. *Climatic Change.* 17:305-330.
- Gurney, W. y Lawton, J. 1996. The population dynamics of ecosystem engineers. *Oikos.* 76: 273-283.
- Hadas, R. y Okon, Y. 1987. Effect of *Azospirillum brasilense* inoculation on root morphology and respiration in tomato seedlings. *Biol. Fertil. Soils.* 5:241-247.
- Halvorson, J., Bolton, H., Smith, J. y Rossi, R. 1994. Geostatistical analysis of resource islands under *Artemisa tridentata* in the shrub-steppe. *Great Bas. Nat.* 54:313-328.
- Halvorson, J., Smith, J. y Rossi, R. 1995. Evaluating shrub-associated spatial patterns of soil properties in a shrub-steppe ecosystem using multiple-variable geostatistics. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59:1476-1487.
- Hofer, R. 1996. Root hairs. In "Plant Roots, The Hidden Half". Waisel, Y., Eshel, A. y Kafkafi, V. (eds.). 2nd ed. Marcel Dekker, Inc. New York. Hong Kong. P: 111-126.

- Horemans, S., Koninck, K., Neuray, J., Hermans, R. y Vlassak, K. 1986. Production of plant growth substances by *Azospirillum* sp. and other rhizosphere bacteria. *Symbiosis*. 2:341-346.
- Ingatov, V., Stadnik, G., Iosipenko, O., Selivanov, N., Iosipenko, A. y Sergeeva, E. 1995. Interaction between partners in association wheat-*Azospirillum brasilense*. In "Azospirillum VI and Related Microorganisms.: NATO ASI Series". Springer-Verlag Berlin, Heidelberg. Vol. G37: 271-278.
- Jain, D. y Patriquin, D. 1984. Root hair deformation, bacterial attachment and plant growth in wheat-*Azospirillum* associations. *Appl. Environ. Microbiol.* 48:1208-1213.
- Janzen, R., Rood, S., Dormaar, J. y McGill, W. 1992. *Azospirillum brasilense* produces gibberellin in pure culture on chemically-defined medium and in co-culture on straw. *Soil Biol. Biochem.* 106:91-95.
- Jones, C., Lawton, J. y Shachak, M. 1997. Positive and negative effects of organisms as physical ecosystem engineers. *Ecology*. 78: 1946-1957.
- Lajtha, K. y Schlesinger, W. 1986. Plant response to variations in nitrogen availability in a desert shrubland community. *Biogeochemistry*. 2:29-37.
- León de la Luz, J.L., Coria Benet, R. y Cruz Estrada, M. 1996. Fenología Floral de una comunidad árido-tropical de Baja California Sur, México (Floral phenology of an arid-tropical community of Baja California Sur, Mexico). *Acta Botánica Mexicana*. 35:45-64.
- León de la Luz, J.L., Pérez-Navarro, J.J. y Breceda, A. 2000. a transitional xerophitic tropical plant community in the cape region, Baja California. *J. Veg. Science*. 11:555-564.

- Levanony, H., Bashan, Y., Romano, B. y Klein, E. 1989. Ultraestructural localization and identification of *Azospirillum brasilense* Cd on and within wheat roots by immunogold labeling. *Plant Soil*. 117:207-218.
- Lin, W., Okon, Y. y Hardy, R. 1983. Enhancement mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:1775-1779.
- Marquez, V.J. y Allen, E.B. 1996. Ineffectiveness of two annual legumes as nurse plants for establishment of *Artemisa californica* in coastal sage scrub. *Restor. Ecol.* 4:42-50.
- Marshner, H. 1986. Mineral nutrition of higher plants. 1st ed. Academic Press, Harcourt Brace Jovanovich, Publishers, London. P. 674.
- Marshner, H., Römheld, V., Horst, W.J. y Martin, P. 1986. Root induced changes in the rhizosphere: Importance for the mineral nutrition of plants. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.* 149:441-456.
- Marshner, H., Römheld, V., y Ossenberg-Neuhaus, H. (1982). Rapid method for measuring changes in pH and reducing processes along roots of intact plants. *Z. Pflanzenphysiol.* 105:407-416.
- Mascarua-Esparza, M., Villa-Gonzalez, R. y Caballero-Mellado, J. 1988. Acetylene reduction and indolacetic acid production by *Azospirillum* isolates from cactaceous plants. *Plant and soil*. 106: 91-95.
- Maya, Y. y Guzmán, J. 1998. Recursos terrestres y suelo (Terrestrial resources and soil). Pages 165-242 in Sociedad de la Historia Natural Niparajá, editor. Diagnóstico

Ambiental de Baja California Sur. Fundación Mexicana para la Educación Ambiental, Mexico City.

- McAuliffe, J. 1984. Saguaro-nurse tree associations in the Sonoran desert: Competitive effects of sahuaros. *Oecologia*. 64:319-321.
- Mertens, T., J. y Hess, D. 1984. Field increases in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) inoculated with *Azospirillum lipoferum* under greenhouse and field conditions of a temperate region. *P. and soil*. 82:87-99.
- Nelson, D. y Sommers, L. 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter. Pages 539-579 in A.L. Page, editor, Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and biological methods, 2nd edition. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, Winconsin.
- Niering, W.A., Whittaker, R.H. y Lowe, C.H. 1963. The saguaro: a population in relation to environment. *Science*. 142:15-23.
- Nobel, P. 1980. Morphology, Nurse plants, and minimum apical temperatures for young *Carnegiea gigantea*. *Bot. Gaz.* 141: 188-191.
- Nobel, P. 1996. Ecophysiology of roots of desert plants, with special emphasys on agaves and cacti. In "Plant Roots, The Hidden Half". Waisel, Y., Eshel, A. y Kafkafi, V. (eds.). 2nd ed. Marcel Dekker, Inc. New York. Hong Kong. P: 823-844.
- Nobel, P. y Lee, C. 1991. Variations of environmental factors for two succulent species. *Ann. Bot.* 67: 549-554.
- O'Hara, G. Davey, M. y Lucas, J. 1987. Effect of nitrogen on yield responses of *Pennisetum americanum*, *Triticum aestivum*, and *Zea mais* to inoculation with

Azospirillum brasilense under temperate conditions. *Biol. And Fertility of Soils*. 4:67-72.

Olin, G., Alcorn, S. y Alcorn, J. 1989. Dispersal of viable saguaro seeds by white-winged doves (*Zenaida asiatica*). *Southwestern Naturalist*. 34:282-284.

Olsen, S. and Sommers, L. 1982. Phosphorus. Pages 403-430 in A.L. Page, editor, Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and biological methods, 2nd edition. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.

Potts, M. 1979. Nitrogen fixation (acetylene reduction) associated with communities of heterocystous and non-heterocystous blue-green algae in mangrove forests of Sinai. *Oecologia*. 39:359-373.

Puente, M. y Bashan, Y. 1993. Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* strains on the germination and seedlings growth of the giant columnar cardon cactus (*Pachycereus pringlei*). *Symbiosis*. 15: 49-60.

Pugnaire, F. y Haase, P. 1996. Facilitation between higher plant species in a semiarid environment. *Ecology*. 77: 1420-1426.

Rose, S. 1981. Vesicular-arbuscular endomycorrhizal associations of summer desert plants of Baja California. *Can. J. Bot.* 59:1056-1060.

Sarig, S., Blum, A. y Okon, Y. 1988. Improvement of water status and yield of field grown grain sorghum (*Sorghum bicolor*) by inoculation with *Azospirillum brasilense*. *J. Agr. Sci.* 110:271-277.

Shearer, G., Kohl, D., Virginia, R., Bryan, B., Skeeters, J. Nilsen, E., Sharifi, M. y Rundel, P. 1983. Estimates of N²-fixation from variation in the natural abundance of ¹⁵N in Sonoran Desert ecosystems. *Oecologia*. 56:356-373.

- Steenberg, W. y Lowe, C. 1977. Ecology of the saguaro: II. Reproduction, germination, establishment, growth, and survival of the young plant. National Parks Service Scientific Monograph Series, No. 8. *US Government Printing Office*, Washington, D.C.
- Summer, M. 1990. Crop responses to *Azospirillum* inoculation. In B.A. Steward (ed.). *Advances in soil science*. Springer-Verlag, N.Y. P:53-123.
- Taiz, L. y Zeiger, E. 1998. *Plant physiology*. 2nd edition. Sinauer Associated, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts. 792. pags.
- Tiedemann, A. y Klemmedson, J. 1973. Effect of mesquite on physical and chemical properties of the soil. *J. Rang. Manag.* 26: 27-29.
- Turner, R., Alcorn, S., Olin, G. y Booth, J. 1966. The influence of shade, soil and water on saguaro seedling establishment. *Bot. Gaz.* 127: 95-102.
- Valiente, A. y Ezcurra, E. 1991. Shade as a cause of the association between the cactus *Neobuxbaumia tetetzo* and the nurse plant *Mimosa luisiana* in the Tehuacan valley, Mexico. *J. Ecol.* 79: 961-971.
- Valiente, A., Vite, F. y Zavala, A.^a 1991. Interaction between the cactus *Neobuxbaumia tetetzo* and the shrub *Mimosa luisiana*. *J. Veg. Sci.* 2: 11-14.
- Valiente, A., Bolongaro, A., Briones, O., Ezcurra, E., Rosas, M., Nuñez, H., Barnard, G. y Vazquez, E.^b 1991. Spatial relationships between cacti and nurse shrubs in a semi-arid environment in central México. *J. Veg. Sci.* 2: 15-20.
- Verslues, P., Ober, E., y Sharp, R. 1998. Root growth and oxygen relations at low water potentials. Impact of oxygen availability in polyethylene glycol solutions. *Plant Physiol.* 116:1403-1412.

- Vinton, M. y Burke, I. 1995. Interactions between individual plant species and soil nutrient status in shortgrass steppe. *Ecology*. 76: 1116-1133.
- Virginia, R. 1986. Soil development under legume tree canopies. *Forest Ecol. Manag.* 16: 69-79.
- Virginia, R. y Jarrel, W. 1983. Soils properties in a mesquite-dominated Sonoran desert ecosystem. *Soil sci.Soc.Am. J.* 47: 138-144.
- Warren, A., Sud, Y.C. y Rozanov, B. 1996. The future of deserts. *J. Arid Environ.* 32:75-89.

APÉNDICE

Tabla IV. Características de suelos provenientes de cuatro distintos microsítios dentro de un área perturbada.

	Nutrientes (g/kg)			Textura (mm)				
	N	P	C	<0.004	0.004 to 0.04	0.04 to 0.25	0.25 to 2.0	>2.0
Suelo								
Mezquite Maduro	0.340	0.0045	6.68	27.7	9.2	47.4	15.2	0.5
Mezquite Joven	0.312	0.0032	4.16	15.0	11.9	34.7	31.2	7.2
Palo Fierro	0.296	0.0026	4.43	10.2	5.0	29.8	45.7	9.5
Area Sin Vegetación	0.284	0.0028	3.63	8.2	6.9	37.5	39.9	7.2
ANOVA								
(p)	0.042	0.032	0.003	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Contraste ortogonal								
(p)								
MM vs. YM	0.391	0.069	0.004	0.013	0.020	0.089	0.040	0.180
MM vs. MI	0.327	0.015	0.013	0.001	0.63	0.023	0.001	0.077
MM vs. BA	0.006	0.007	0.001	0.001	0.485	0.176	0.003	0.176
YM vs. MI	0.902	0.364	0.666	0.305	<0.001	0.491	0.061	0.630
YM vs. BA	0.052	0.525	0.290	0.166	0.005	0.699	0.244	0.988
MI vs. BA	0.068	0.784	0.529	0.702	0.218	0.288	0.433	0.640

Tabla V. Solución mineral de Hoagland (Taiz y Zeiger 1998).

Compuesto	Peso molecular g mol ⁻¹	Concentración de la solución	Concentración de la solución	Volumen de la	Elemento	Concentración final de los	
		stock	stock	solución stock por		μM	ppm
		mM	g L ⁻¹	litro de solución			
				mL			
Macronutrientes							
KNO ₃	101.1	1,000	101.1	6.0	N	16,000	224
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	236.16	1,000	236.16	4.0	K	6,000	235
NH ₄ H ₂ PO ₄	115.08	1,000	115.08	2.0	Ca	4,000	160
MgSO ₄ ·7H ₂ O	246.48	1,000	246.49	1.0	P	2,000	62
					S	1,000	32
					Mg	1,000	24
Micronutrientes							
KCl	74.55	25	1.864	2.0	Cl	50	1.77
H ₃ BO ₃	61.83	12.5	0.773		B	25	0.27
MnSO ₄ ·H ₂ O	169.01	1.0	0.169		Mn	2.0	0.11
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	287.54	1.0	0.288		Zn	2.0	0.13
CuSO ₄ ·5H ₂ O	249.68	0.25	0.062		Cu	0.5	0.03
NaMoO ₄ ·2H ₂ O	218.95		0.057		Mo	0.5	0.05
FeSO ₄ ·7H ₂ O	(0.5%) +	Acid tartarico	(0.4%)	0.3-1.0	Fe		1.0-3.0

Longitud de raíz (método de intersección de líneas)

Materiales

1. Placa Petri de plástico: se marca una cuadrícula en la base de la placa (cuadros de 1 cm).

Procedimiento

1. Se corta la raíz en pequeñas piezas de tamaño similar y se distribuyen homogéneamente en la base cuadrículada de la placa Petri.
2. Se efectúa un recorrido por las líneas horizontales y verticales para detectar cada punto en donde la raíz intercepta una línea.
3. Se realizan tres conteos (replicas) de la misma muestra de raíz.
4. El número total de entrecruzamientos es igual a la longitud total de las raíces en la placa expresada en centímetros. Los cálculos se realizan utilizando la siguiente formula.

$$R = \frac{\pi A \times n}{2H} \quad (9)$$

Donde:

R = longitud total de la raíz

A = área en que se distribuyen las raíces

n = número de intersecciones entre raíces y líneas

H = longitud total de las líneas.