



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**Cultivo orgánico de *Avena sativa* L. mediante
el uso de micorrizas arbusculares y de
Azospirillum brasilense en condiciones de
invernadero**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I O L O G A
P R E S E N T A :
GRACIELA SÁNCHEZ VENANCIO

**UNIDAD DE INVESTIGACIÓN
EN ECOLOGÍA VEGETAL**

DIRECTOR DE TESIS: DR. ARCADIO MONROY ATA

MÉXICO, DF

Junio 2011



Investigación Realizada con financiamiento de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM, mediante el proyecto PAPIIME con clave PE205109



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Que linda experiencia, que no se puede expresar porque llegan los recuerdos de grandes obstáculos que debemos pasar para llegar ha esta meta, que hoy solo va a empezar. Atrás han quedado los miedos de aquella tarea que cuando solo era una niña me prometieron concretar

Anónimo

DEDICADA A:

Mi mamá que me llevó de la mano el primer día de escuela, y desde entonces vivió cada alegría, cada primera experiencia, cada tristeza, el fin de cada ciclo en mi vida, que me prohibió decir “no puedo”, que siempre tuvo un abrazo, a pesar del cansancio, del enojo, del dolor.

Mi papá que trabajó hasta tarde y se levantó muy temprano, que me enseñó el valor de hacer las cosas y cuya mejor enseñanza fue la satisfacción de valerse por si mismo y disfrutar la satisfacción de cada victoria, que supo vencer sus barreras y temores para poder hacerme sentir su cariño.

Se que dieron todo para que llegara hasta aquí, este sueño es tan mío como suyo, no lo olviden

Mis chaparros y adorados hermanitos, Caritos y Ana, quienes son únicos, a quienes ojala un día vivan esta experiencia y me muestren mi nombre en sus tesis.

Jhon González por las plantas medidas, las correcciones hechas, los consejos sabios, las experiencias vividas, las lágrimas consoladas, las risas compartidas, las pláticas eternas y los regaños oportunos, por no dejarme abandonar mis sueños y porque siempre me has enseñado a ser mejor persona, y por dejarme conocer al maravilloso ser que hay bajo esa sonrisa, corazón, cambiara la vida y cambiaremos nosotros pero este logro siempre será de ambos, gracias por haberlo hecho posible.

Y a Mary Flores que presionó, aconsejó, ayudó, alentó, y es la persona que siempre estuvo ahí para mí.

Sin todos ustedes, hoy no tendríamos motivos para reunirnos aquí

AGRADECIMIENTOS

La presente Tesis es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente, participaron varias personas leyendo, opinando, corrigiendo, teniéndome paciencia, dando ánimo, acompañando en los momentos de crisis y en los momentos de felicidad.

A mis padres, que un día se conocieron, me concibieron, me crecieron, me educaron y aunque la vida cambió, siempre serán lo mejor que me ha pasado ¡Los Amo!

Al Dr. Arcadio Monroy por tenerle paciencia a mi inconsistencia y apoyarme para poder llenar la vida laboral de una colega más, a todos mis sinodales por compartir conmigo un poco de su valiosa experiencia y a Eduardo Chimal por ofrecerme un curso que salvó una tesis.

A Mary, amiga, insisto, debiste de haber sido política.

A Jhon González por prometerse ayudarme a llegar hasta aquí, y además lograrlo, faltas tú, y te lo repito hay grandes cosas destinadas para ti. TSKY+

A Josesito Almaráz, con quien compartí todos los días de esta carrera, proyectos, experimentos, vivencias, viajes, dolores, amores y alegrías, entramos con grandes sueños, me ayudaste a trabajar para alcanzarlos, y cuenta conmigo para lograr los tuyos.

A toda mi gente del museo, en especial a los evos que son varios, a mi dream team divulgativo, Yoaly y Mina, que estuvieron mas de un año apoyando y presionando

Y también a los químicos, que son todos muy talentosos y me dieron una razón para ir cada día a trabajar, a los OV7, Serge, Marquito, Eren y todos aquellos amigos que han estado en los momentos difíciles y también en los fáciles.

A la familia González- Moreno que en algún momento me permitieron conocer y apreciar a su familia, que tuvo para mí consejos, a veces de electricidad, a veces de la vida, y que me enseñaron lecciones que no podré olvidar.

A mi familia, a cada uno de mis profesores y a todas esas personas que han dejado una enseñanza, por pequeña que sea.

Y a todas esas personas que me preguntaron para cuando, pero sobre todo a las que me dijeron que no iba a llegar.

A mi UNAM, me sigue dando alegrías profesionales día a día.

A la vida, que siempre me ha dado momentos que me quitan la respiración.

ÍNDICE

1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Marco teórico	3
3.1 Cultivo orgánico y salinidad	3
3.2 Biofertilizantes	4
3.3 Bacterias nitrificantes	4
3.3.1 <i>Azospirillum</i>	4
3.4 Hongos micorrícicos	6
3.5 <i>Avena sativa</i> L.	9
4. Justificación científica	11
5. Preguntas a responder	12
6. Hipótesis	12
7. Objetivos	12
Objetivos particulares	13
8. Material y métodos	13
8.1 Sitio de experimentación	13
8.2 Suelo	13
8.3 Inóculo micorrícico	13
8.4 <i>Azospirillum brasilense</i>	14
8.5 Semillas	14
8.6 Medición de altura, hojas, ramas y espigas	15
8.7 Fenología	15
8.8 Porcentaje de supervivencia	15
8.9 Tasa de Crecimiento Relativo	15

8.10	Uso Eficiente de Agua (UEA)	16
8.11	Cociente (biomasa radical) / (biomasa aérea)	16
8.12	Porcentaje de colonización micorrícica	16
9.	Diseño experimental	17
9.1	Análisis estadístico	18
9.2	Diagrama de flujo de la metodología	19
10.	Resultados y discusión	20
10.1	Parámetros edáficos	20
10.2	Viabilidad	20
10.3	Supervivencia	21
10.4	Porcentaje de colonización	21
10.5	Crecimiento	22
11.	Tabla de resultados	31
12.	Discusión de resultados	32
	Análisis general de resultados	34
	Conclusiones	35
	Recomendaciones	35
13.	Referencias	36
14.	Anexos	42

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1	
Clasificación de las micorrizas arbusculares	8
Cuadro 2	
Parámetros edáficos	20
Cuadro 3	
Viabilidad de semillas	20
Cuadro 4	
Cálculo de porcentaje de colonización	21
Cuadro 5	
Tasa de crecimiento relativo de <i>Avena sativa</i> L. sometidas a 4 tratamientos durante 160 días en condiciones de invernadero	23
Cuadro 6	
Fases fenológicas de <i>Avena sativa</i> L. Cultivada durante 160 días en invernadero	24
Cuadro 7	
Medias de número de hojas, ramas y espigas de <i>Avena sativa</i> después de 160 días de cultivo en invernadero	25
Cuadro 8	
Peso de la espiga	27
Cuadro 9	
Promedio de peso húmedo y seco (g) de plantas de <i>Avena sativa</i> bajo tres tratamientos y el testigo, así como cociente biomasa radical/ biomasa aérea (R/S) y eficiencia en el uso de agua (EUA)	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	
<i>Azospirillum brasilense</i>	6
Figura 2	
<i>Avena sativa</i>	10
Figura 3	
Gráfica de crecimiento de altura máxima de plantas de <i>Avena sativa</i> L. en cultivo en invernadero durante 160 días	22
Figura 4	
Medias de la última semana para el parámetro de altura de los 4 tratamientos al final de los 160 días de experimento	25
Figura 5	
Medias del número de hojas de la última semana del experimento	26
Figura 6	
Medias del peso de la espiga en la última semana del experimento	27
Figura 7	
Medias de la última semana para el parámetro de cociente biomasa radical/ biomasa aérea (R/S) de los 4 tratamientos al final de las 16 semanas de experimento	29
Figura 8	
Valores para el parámetro de uso eficiente de agua (EUA) para <i>Avena sativa</i> durante 16 semanas de cultivo en invernadero	30
Figura 9	
Tabla de síntesis de resultados	31

1. Resumen.

Actualmente la sobreexplotación de tierras agrícolas ha tenido como consecuencia la disminución de tierras disponibles para agricultura, aumento en la salinidad de algunas de ellas, así como un uso excesivo de pesticidas, de tal modo que se comenzó a utilizar la agricultura orgánica para aminorar algunos de estos problemas. Atendiendo a esto, el objetivo del presente es determinar como es la respuesta de un tratamiento inoculado con hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y con una bacteria fijadora de nitrógeno: *Azospirillum brasilense* (Ab), sobre un cultivo de *Avena sativa* L. en condiciones de invernadero, durante 4 meses para después dilucidar cuál es la técnica que permite una mayor biomasa vegetal para que esta sea propuesta posteriormente como modelo de agricultura orgánica en una parcela de Xochimilco. Se consideró un testigo y 3 tratamientos (inoculación con HMA, HMA+Ab, Ab). Para esto, se utilizó como sustrato una muestra de suelo colectada de un huerto frutal de la localidad de San Gregorio, Xochimilco, D. F. El inóculo de HMA se obtuvo de una muestra de suelo obtenido de una chinampa ubicada en el Sabino, Xochimilco, se le hizo un conteo de esporas; se registraron 160 esporas por 100 g de suelo, lo que fue utilizado como inóculo de HMA para el presente estudio. *Azospirillum brasilense* se adquirió comercialmente. Semanalmente se registró el desarrollo de la avena, mediante la altura, el número de hojas, el número de espigas, la cantidad de ramas y la fenología. Después del periodo de cultivo se obtuvo una muestra representativa y al azar de 10 plantas de cada tratamiento y posteriormente se determinó la tasa de crecimiento relativo (TCR), la biomasa seca y húmeda, así como el cociente de (biomasa del vástago) / (biomasa radical) o cociente r/s, por sus siglas en inglés: root/ shoot) y la eficiencia del uso del agua.

Los resultados obtenidos muestran que el tratamiento *Azospirillum brasilense* y micorriza arbusculares obtiene mejor respuestas en los parámetros de biomasa húmeda y cociente biomasa radical/biomasa del vástago, sin embargo, en lo que corresponde a biomasa seca y eficiencia en el uso de agua, el tratamiento con medias más altas fue el inoculado con *Azospirillum brasilense*. Al hacer el análisis estadístico de estos parámetros, se obtuvo que no existe una diferencia significativa entre éstos dos

tratamientos, por lo que se puede asegurar que para el cultivo de *Avena sativa* bajo condiciones de invernadero son viables tanto el tratamiento inoculado con *Azospirillum brasilense* y así como aquel con micorrizas arbuscular y *Azospirillum brasilense*,

2. Introducción

En los últimos años, la sobre explotación de tierras para la agricultura, cuya finalidad es alimentar a la población que está creciendo de manera desmedida, ha tenido como consecuencia la contaminación, salinización y erosión del sustrato edáfico. En el caso particular de la zona de Xochimilco, desde la época prehispánica este hábitat ha desarrollado una alta actividad agrícola y muchas de las parcelas han sido regadas tradicionalmente con aguas de las zonas lacustres. Sin embargo, actualmente el riego se hace con aguas residuales parcialmente tratadas con las que se recargan los canales, las cuales están contaminadas con sales y metales pesados, causando que estos suelos se vuelvan salinos y con baja productividad. Los suelos afectados por salinidad ocupan más del 7% de la superficie de la Tierra y es el mayor limitante para las cosechas (Tian, 2004).

Actualmente, existen estudios tendientes a resolver la contaminación originada por metales pesados en suelos, mediante estrategias basadas en el uso de plantas que tienen la propiedad de acumular estos contaminantes. Uno de los procesos más utilizados es la llamada “fitorremediación”, que consiste en la remoción, transferencia, estabilización, degradación y neutralización de compuestos orgánicos, inorgánicos y/o radioactivos que resultan tóxicos en suelos y agua (Sierra-Villagrana, 2006). Esta biotecnología tiene como uno de sus objetivos el degradar o asimilar los metales pesados presentes en el suelo, lo cual tiene ventajas con respecto a los métodos convencionales de tratamiento de lugares contaminados, además de tratarse de una ecotecnología económica.

Con base en lo anterior en este estudio se trabajará con una especie vegetal: avena (*Avena sativa* L.), para poder evaluar su crecimiento al ser cultivada sin el uso de fertilizantes químicos, es decir, poniendo en práctica un modelo de agricultura conocida como orgánica, la cuál consiste en un método específico de producción con respecto a la explotación agraria que implica una utilización menos intensiva de la tierra y una restricción en la utilización de fertilizantes o pesticidas que tengan efectos desfavorables para el medio ambiente o dan lugar a residuos en los productos orgánicos

(Armesto, 2007), que ha ganado terreno en los países desarrollados y subdesarrollados al desenvolverse como una alternativa agrícola que incluya el desarrollo económico y social junto con la protección ambiental (Gómez y Schewentesius, 2002).

3. Marco teórico.

3.1 Cultivo orgánico y salinidad.

El riego agrícola con aguas residuales parcialmente depuradas genera un exceso de sales y metales pesados en el suelo, conduciendo al suelo a un estado de basicidad que impide que las raíces de las plantas absorban de manera adecuada los nutrientes y agua en el suelo, además de crear un estado de toxicidad para la biota edáfica y para las plantas.

Ante este problema que hoy en día pone en peligro a los cultivos, ha surgido la necesidad de establecer un modelo en agricultura orgánica, la cual es un sistema holístico de producción que promueve y mejora la salud del agroecosistema incluyendo la biodiversidad, los ciclos biológicos del suelo, que se caracteriza por utilizar insumos naturales, maximizar el reciclaje de los nutrientes y evitar los productos derivados de la energía fósil, tales como fertilizantes y pesticidas químicos. (Gómez Hernández, 2000)

Por otra parte, la producción orgánica en el mundo continúa creciendo a un ritmo acelerado y en este sentido los países latinoamericanos no son la excepción (CCI, 1998; Coelho, 2001; Halweil, 2001; ONAGRI, 2001; POM, 2001; SOL, 2001; Willer y Yusefi, 2001; Sala, 2002). De los 130 países alrededor del planeta que cultivan productos orgánicos en cantidades comerciales, al menos 90 (69%) son países en desarrollo. En el caso de México, el 27.62% de las hectáreas de riego son cultivadas por agricultura orgánica (García, 2004).

La producción orgánica en México inició en la década de los ochenta y se ha incrementado en los últimos años. Actualmente se dedican más de 23, 000 has. a la producción de cultivos orgánicos, esta superficie se encuentra distribuida en 76 zonas diferentes que generan mas de 30 productos como son: café, hortalizas (tomate, chile, calabaza, ajo, chicharo, pepino, berenejena, lechuga, melón); hierbas olorosas y

medicinales (cardomo, gobernadora, Damiana, tomillo, mejorana, menta); ajonjolí, manzana, así como algunos cereales (Gómez Hernández, 2000)

Entre las técnicas que utiliza este tipo de agricultura están la inoculación con bacterias rizosféricas, hongos endomicorrícicos, la adición de abonos y de materia orgánica, labranza mínima o cero, control biológico de plagas, rotación de cultivos, uso de plantas cebadoras de plagas, cultivos multiestratificados, etc., así como otras prácticas de cultivo, teniendo una repercusión favorable en la producción y en el ambiente (Martínez, 2001).

3.2 Biofertilizantes.

Se trata de productos que incorporan al medio de cultivo (suelo, sustrato, etc.) una población de microorganismos capaces de enriquecer dicho medio nutrientes que pueden ser utilizados directamente por las plantas (Noceti, 2009). Son microorganismos que fijan el nitrógeno atmosférico, transportan fósforo, otros nutrimentos y agua al sistema radical de los cultivos e inducen un mayor crecimiento de las raíces.

La microflora constituida por las bacterias, los actinomicetos, los hongos y las algas representan el grupo dominante en la mayoría de los suelos, la actividad saprofítica de este grupo (con excepción de las algas) tienen gran importancia en el ciclo de los nutrimentos, debido a que durante la transformación de las moléculas orgánicas complejas se liberan nutrimentos que son disponibles para las plantas, así como para otros microorganismos y la fauna del suelo, por su parte las algas contribuyen a elevar el nivel de materia orgánica en los suelos a través de la fijación de CO₂ (Aguirre, 2000)

3.3 Bacterias nitrificantes.

En la última década ha tomado auge, tanto por razones económicas como ecológicas, el empleo de los biofertilizantes e inóculos en la producción agrícola, incluyendo las especies hortícolas (Hernández, 2000; Dibut, 2001; Ramírez, 2001) y destacándose su uso en la producción de pasturas. Dentro de los microorganismos del suelo que se han utilizado como inoculantes bacterianos, están las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV), denominación empleada para describir a las bacterias que habitan preferentemente la rizósfera de las plantas y que tienen un efecto positivo sobre el desarrollo de los cultivos; también se utilizan los hongos micorrizógenos arbusculares

(HMA), que forman asociaciones simbióticas con la mayoría de las plantas cultivadas (Casanova, 2001).

3.3.1 *Azospirillum*

Existe un gran número de bacterias de vida libre o asociadas que fijan Nitrógeno, pero de los microorganismos promotores del crecimiento vegetal que se emplean en la inoculación destaca *Azospirillum* (López, 2007).

Las bacterias del género *Azospirillum* son conocidas como rizobacterias promotoras del crecimiento de la planta.

Azospirillum deriva del sustantivo francés azote, nitrógeno, y del griego spira una espiral; spillum-una espiral pequeña, por lo que su nombre significa una pequeña espiral de nitrógeno.

Su efecto es el incremento considerable del número y longitud de pelos radicales, el ritmo de aparición y número de raíces laterales, el diámetro y longitud de raíces adventicias y laterales, y el área de superficie de la raíz. La intensidad de estos efectos en la morfología de la raíz depende de la especie de la planta y de la cantidad de inóculo utilizado (Simancas, 2007)

Azospirillum puede transformar el nitrógeno atmosférico en amonio (fijación biológica de nitrógeno) fácilmente asimilable por la planta para luego incorporarlo a esqueletos carbonados que darán aminoácidos para las proteínas (Curá, 2005); también solubiliza el fósforo, produce sideróforos, sintetiza fitohormonas y enzimas que regulan los niveles de las auxinas (Díaz-Franco, 2008). Esta bacteria actúa colonizando la parte interna o externa de la raíz, en donde tiende a formar pequeños agregados, aunque se les puede encontrar aisladamente distribuida a lo largo de la superficie radical, embebida en la capa mucilaginosa que cubre la raíz. En el proceso de colonización interna, las células de *Azospirillum* penetran a través de los espacios intercelulares (Andraeeva *et al*, 1991 citado por Sánchez Colín, 2000).

La revisión bibliográfica de los experimentos en campo muestran estadísticas significativas en el incremento del crecimiento de los individuos, que van del 5-30% al 60-75% en *Lactuca sativa* L., que fueron tratados con esta bacteria (Dardanelli, 2008).

En cereales, la colonización ocurre principalmente en las zonas de elongación de la raíz y de los pelos absorbentes (Zamudio y Bastarrachea, 1994 citado por Sánchez Colín, 2000).

De manera experimental y exclusivamente para avena, se ha obtenido que al colocar cepas de *Azospirillum brasilense* en cultivos de ésta, se produce un incremento del 64% en materia verde, además de un mayor desarrollo radical, lo cual permite a la planta obtener mayor cantidad de nutrientes y de humedad edáfica (Micheli, 2005).

Los microorganismos, a través de su capacidad simbiótica y de las numerosas actividades que realizan en general, inducen a una mayor productividad de los cultivos (Dobbelaere, 2001; Irizar, 2003; Aguirre-Medina, 2008).

La distribución ecológica de éste es generalizada, se han reportado en una gran variedad de suelos y de regímenes climáticos, como zonas tropicales, semitropicales, húmedas frías y frías. Al parecer *Azospirillum* es una bacteria que no muestra especificidad por algún tipo de raíz pudiéndose encontrar en diversos tipos de plantas. Se ha aislado de raíces de vegetales muy diversos como maíz, trigo, sorgo, avena, centeno, cactáceas (Ramirez-Gama y Luna-Millan, 1995; citado por Sánchez Colín, 2000)

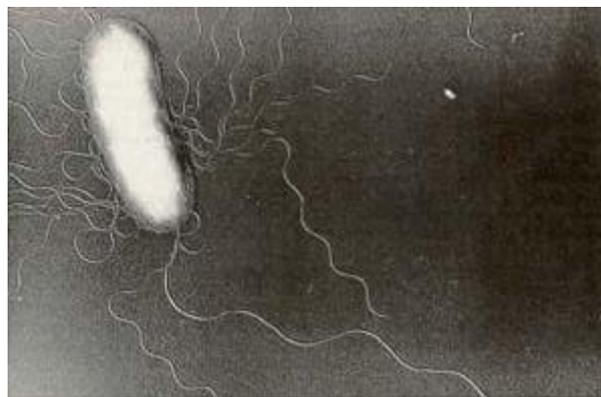


Figura 1. *Azospirillum brasilense*

3.4 Hongos micorrícicos.

Las micorrizas son la asociación simbiótica entre dos organismos pertenecientes a dos reinos eucariontes: Fungi y Plantae. Tradicionalmente se reconocen seis grupos de micorrizas basándose en criterios morfológicos, anatómicos y sistemáticos, tanto de las plantas como de los hongos (Hernández L *et al.*, 2003).

Tales grupos son:

Ectomicorrizas, micorrizas de Ericales, micorrizas de Orchidaceae, Arbutoides, Ectendomicorriza y micorrizas Arbusculares también llamadas Endomicorrizas (Aguilera *et al*, 2008)

Específicamente, el término micorriza se refiere a la asociación de hongos con las raíces de las plantas vasculares; en esta relación los hongos desarrollan una red de filamentos en torno a las raíces (Le Tacon, 1985); la modificación del sistema radical por la asociación simbiótica con las micorrizas, en general, contribuye a mejorar el transporte de agua (Salamanca, 2005).

Entre los beneficios que proveen las micorrizas al desarrollo de las plantas están:

-Mayor desarrollo de biomasa: como consecuencia de la micorrización, la planta experimenta un considerable aumento en su biomasa debido principalmente al mejoramiento de la nutrición mineral del vegetal inducida por el hongo.

-Nutrición mineral de la planta: existe un aumento en la absorción de nutrientes minerales de suelo, sobre todo aquellos minerales de lenta difusión en el suelo (P, Cu y Zn) que se expresa en un mayor crecimiento y desarrollo de las plantas. La adquisición de fosfato es de vital importancia para los vegetales por su papel clave en los sistemas biológicos; es sabido que las plantas micorrizadas captan fosfato más eficientemente que las raíces solas. Gracias al mejoramiento de la nutrición fosforada, aumenta también la adquisición de elementos nitrogenados por parte del vegetal (Hernández L *et al.*, 2003).

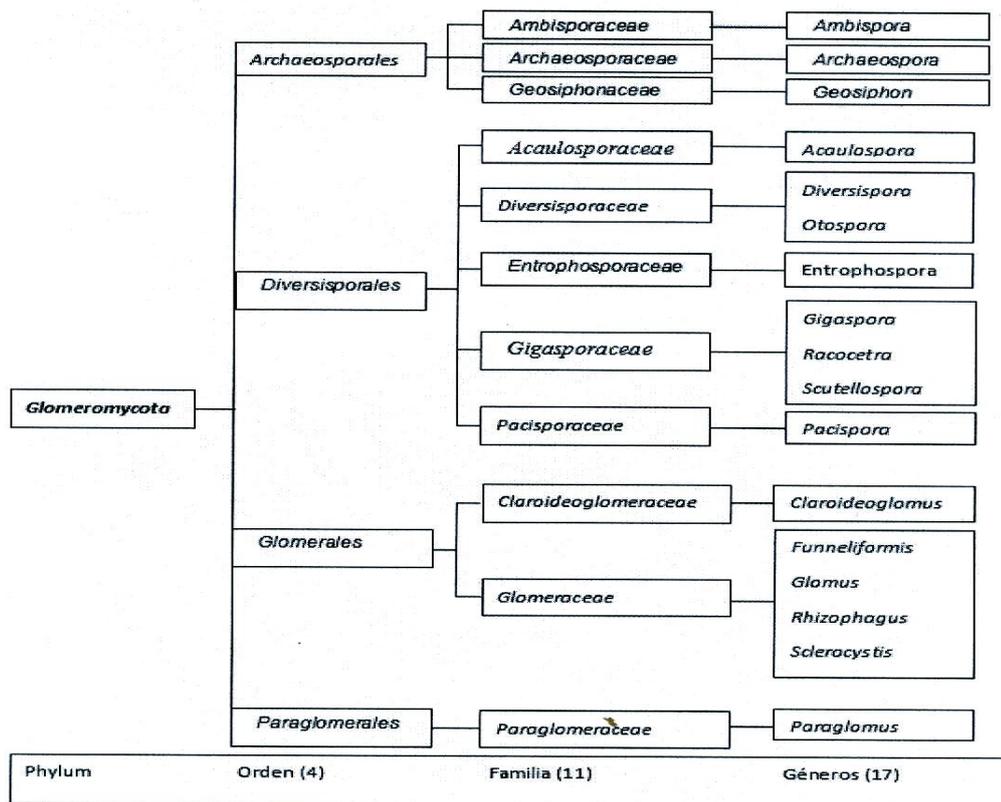
-Mejora en las relaciones hídricas de la planta: las micorrizas mejoran el balance hídrico en las plantas, especialmente en aquellas que crecen en suelos secos o salinos, en donde las micorrizas aumentan la resistencia al estrés hídrico. Esto se debe a que las hifas externas del hongo pueden captar agua más lejos de la zona de deficiencia hídrica, que normalmente rodea a las raíces en condiciones de sequía.

-Influencia de las micorrizas en la fotosíntesis: la tasa fotosintética es mayor en las plantas micorrizadas. Esto se debe a la mejora en la nutrición fosforada, ya que la disponibilidad de fosfato inorgánico puede ser un factor limitante en este proceso.

-Incremento de la tolerancia de la planta a patógenos: la micorrización induce una mayor tolerancia de las raíces a agentes patógenos; una de las razones podría ser que la planta, al estar mejor nutrida, se encuentra en una condición fisiológica mejor frente al patógeno o tal vez la micorriza pueda actuar directamente protegiendo al sistema radical, a través de procesos bioquímicos (Trujillo, 2009).

En relación a las endomicorrizas, la inoculación con HMA ha mejorado la productividad de diversos cultivos en condiciones de estrés hídrico (Kaya, 2003; Al Karai, 2004; Díaz-Moreno, 2007). Este tipo de hongos presentan una amplia distribución, ya que se encuentran en casi todos los ambientes terrestres y son capaces de asociarse con la mayoría de las raíces de angiospermas, gimnospermas, pteridofitas y briofitas.

Cuadro 1. Clasificación de las micorrizas arbusculares



Clasificación taxonómica de los hongos micorrizico arbusculares (HMA) de acuerdo a Schüßler (2011) disponible en sitio web: <http://www.lrz.de/~schuessler/amphylo/>

Cuadro editado: Biól. Eduardo Chimal Sánchez

Con base a lo anterior, en el presente trabajo se utilizarán micorrizas pertenecientes al grupo de las arbusculares las cuales se clasifican en un nuevo *phylum* (Glomerycota) de acuerdo al cuadro 1.

Para iniciar la colonización de micorrizas arbusculares en los suelos se debe aplicar previamente un inóculo con esporas; una vez que las esporas germinan y una hifa ha alcanzado a contactar una raíz, entonces se produce una diferencia Himal, la formación de un apresorio, penetración de las raíces, crecimiento intracelular, formación de arbusculos y transferencia de nutrientes (Harrier, 2001).

3.5 *Avena sativa* L.

La avena es un cereal robusto de aproximadamente un metro de altura, pertenece a la familia de las gramíneas y es distribuido en los climas templados y subtropicales.

La mayoría de los autores coinciden en que la avena tiene su origen en Asia Menor. Según Delgadillo (2001) fue introducida en México por los españoles poco después del año 1600.

Clasificación taxonómica.

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida.

Orden: Poales

Familia: Gramineae

Género: *Avena*

Especie: *Avena sativa*

Su nombre común es avena. Es una planta herbácea, anual, hasta de 1.5 m de altura. Tallos articulados, erectos simples, su tallo está hueco, con unos nudos de los que parten las hojas, de aspecto aplanado y áspero al tacto. Hojas envainadas, alternas, lineales, enteras, agudas. Flores glumosas, dispuestas en panículas de espiguillas pendulares, apicales, envueltas por dos glumas. Fruto cariósipide largo, estrecho, puntiagudo, duro (Fonegra, 2007).

Cuenta con raíces primarias que funcionan hasta el comienzo del ahijamiento, posteriormente aparecen las raíces secundarias, cuando la planta emite sus tallos estas raíces sustituyen a las raíces primarias. La planta cuenta con tres a cinco tallos huecos. Sus flores con hermafroditas autógamias, es decir, que el polen de cada una de ellas fecunda al órgano femenino que la acompaña (Bellido, 1991)

La floración se produce entre junio y agosto y la recolección se efectúa en verano. Las flores van emparejadas y adquieren una posición curva hacia el suelo. Se puede diferenciar la flor que se encuentra en la zona superior de la que se encuentra por debajo, pues esta última suele poseer una arista más larga.

De la fecundación se obtiene el grano, uno por cada flor, y estas aparecerán por parejas. El grano se encuentra encerrado en una cáscara.

Dentro del género *Avena* existen de diez a quince especies aproximadamente, ampliamente cultivadas para alimento humano y animal.

La *Avena sativa* L. representa el 80% de la producción mundial en cereales, en la región de la Mesa Central la producción es de 430 000 t de follaje; su cultivo se realiza en 80% del área bajo condiciones de temporal. (Alimentarium Codex, 2005)

En México el cultivo de avena destaca como una fuente importante como alimento en la industria pecuaria, del total de la producción, cerca del 80% de la producción nacional es destinada para consumirse como forraje verde, forraje henificado y alimentos balanceados.



Figura 2. *Avena sativa*

Las principales áreas productoras se localizan en el Valle de Tulancingo, Hidalgo; Huamantla, Tlaxcala; Tres Marías, Morelos y Juchitepec, Estado de México.

Cultivo de avena.

La planta de avena se adapta mejor a suelos ácidos, compuestos o sueltos, pH entre 5 y 7, no resiste suelos salinos. La temperatura óptima del suelo para el crecimiento es de 25 a 31°C (Delgadillo, 2001)

La semilla utilizada en la siembra deber estar limpia y clasificada y ser de buen poder germinativo.

Cuando haya necesidad de fertilizar un cultivo de avena, hay que tener en cuenta que el nitrógeno se debe agregar antes del ahijamiento ya que durante este periodo la planta lo toma en mayor cantidad. Para los cereales, los nutrientes de mayor importancia son nitrógeno, fósforo y potasio. El nitrógeno es necesario para mantener el follaje verde, el fósforo estimula el crecimiento de las raíces, acelera la maduración del grano y el potasio fortalece el tallo (Trujano, 2001)

4. Justificación científica

En los últimos diez años se ha presentado un incremento en el deterioro de zonas agrícolas. Uno de los sitios más representativos de este problema en nuestro país es la zona chinampera de Xochimilco, al sur del Distrito Federal. En esta se forma un agroecosistema en el que interactúan factores ambientales, culturales y sociales y que es reconocido por la UNESCO como Patrimonio de la Humanidad (López, 2004)

Los componentes de este sistema se han ido deteriorando, como consecuencia de la expansión de la mancha urbana, la sobre explotación de mantos acuíferos, hundimientos diferenciales, la contaminación del agua, la salinidad de los suelos y la presencia de plagas.

La capacidad para aprovechar los recursos y enfrentar a las presiones del ambiente ha generado una serie de modificaciones como la reducción de la superficie productiva, cambio en las técnicas de producción, así como en la introducción de nuevas variedades de cultivos y el incremento de la agricultura en invernadero.

Dadas las condiciones descritas, es necesario emprender acciones de rescate, restauración y manejo del sistema chinampero para la continuidad de las prácticas agrícolas. Del último punto surge el presente proyecto cuyos resultados están dirigidos a establecer un modelo de agricultura orgánica que sea viable para esta zona.

En este estudio se utilizó *Azospirillum brasilense* (Ab), así como esporas de hongos micorrizógenos arbusculares como biofertilizantes y se cultivó para fines experimentales *Avena sativa* L. Esta especie se eligió porque se cultiva en huertos y zonas agrícolas de Xochimilco, por su alta demanda como alimento y forraje, así como su importancia económica. La producción mundial de granos en el ciclo 2005/06 fue de 2 013 millones de toneladas (para la avena), lo que corresponde a más de 25000 toneladas por año y, en el caso de México, la producción de granos representa el 1.5% del total mundial, teniendo *Avena sativa* L. una producción total de 93 millones de toneladas al año (USDA, 2010).

5. Preguntas a responder.

Este estudio se planificó para dar respuesta a las siguientes interrogantes:

- ¿Cuál es el efecto de los HMA en el desarrollo de cultivos de avena en condiciones de invernadero?
- ¿Existe un incremento en la tasa de crecimiento relativo de *Avena sativa* en el tratamiento donde se aplicarán inóculos de HMA y de *Azospirillum brasilense* sobre aquellos con un solo inóculo?

6. Hipótesis

Las plantas que presentan una asociación con hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) tienen una mayor biomasa así como una tasa de crecimiento relativo más elevada, por ello si se aplica un inóculo de HMA junto con uno a base de *Azospirillum brasilense* se espera una tasa de crecimiento relativo mayor respecto al testigo, así como una mayor biomasa.

7. Objetivos:

-Determinar el efecto de HMA y Ab sobre el crecimiento de *Avena sativa* en condiciones de invernadero.

Objetivos particulares.

-Determinar la influencia de los tratamientos con Ab y HMA sobre el desarrollo de *Avena sativa* en condiciones de invernadero, para estimar la eficiencia en el uso de agua (g de biomasa seca por litro de agua irrigada) durante 160 días.

-Determinar cuál es el tratamiento que produce una mayor tasa de crecimiento relativo y en biomasa para poder ser propuesto como modelo de agricultura orgánica en la zona de Xochimilco

8. Material y métodos.

8.1 Sitio de experimentación

Se llevó a cabo en el Invernadero de la FES Zaragoza *Campus* II, de la UNAM, el cuál tiene una orientación norte-sur y está ubicado en la zona oriente de la Ciudad de México, de junio del 2009 a octubre del 2009.

8.2 Suelo.

El suelo se obtuvo de un huerto con problemas de salinidad ubicado en San Gregorio, Xochimilco. Al inicio del experimento, se midió la conductividad eléctrica del suelo con un conductímetro digital. Posteriormente fue utilizado como sustrato para el cultivo de las plantas.

Antes del cultivo en invernadero, se obtuvo una muestra del suelo obtenido de una parcela ubicada en San Gregorio, Xochimilco, para medir los diferentes parámetros edáficos, tales como densidad real, densidad aparente, conductividad eléctrica y pH.

8.3 Inóculo

En la comunidad de El Sabino, Xochimilco, se colectaron 5 cepellones de pasto (*Lolium perenne*) y 20 cm del suelo que se encontraba bajo ellos en 5 puntos con ayuda de palas (Lara *et al.*, 2008). Posteriormente el cepellón se puso a secar en una charola de aluminio a 25° C.

Después de dos días se retiró el suelo de la parte inferior y se hizo una mezcla compuesta con el suelo de los cinco puntos y posteriormente un conteo de esporas por medio del método de tamizado y decantación (Gerdermann y Nicolson, 1963) que consiste en:

- 1) Se pesan 100 g de suelo y se llevan a una suspensión en 2 L de agua.
- 2) Se agita manual y vigorosamente durante un periodo de 5 minutos y se deja decantar por 3 minutos (con la finalidad de eliminar partículas grandes por sedimentación).
- 3) La suspensión se pasa a través de un tamiz de 105 μ y uno de 44 μ Reteniendo así en el primero materia orgánica y a las esporas de mayor tamaño, mientras que en el segundo a las de menor tamaño.
- 4) Este procedimiento se repite dos veces más.
- 5) La fracción orgánica obtenida en el tamiz de 105 μ se pasa a una caja Petri, la cual es examinada con ayuda de un estereoscopio para hacer el conteo y la extracción manual de esporas.
- 6) De igual manera la fracción obtenida en el tamiz de 44 μ se pasa a una caja Petri, la cual es examinada con ayuda de un estereoscopio para hacer la extracción y el conteo de esporas.

Se obtuvo un promedio total de 160 esporas por cada 100 gramos de suelo.

8.4 *Azospirillum brasilense*

Para el caso del inóculo de *Azospirillum brasilense*, éste se obtuvo en su forma comercial (Biofábrica Siglo XXI S.A de C.V)

8.5 Semillas

Se adquirieron semillas de *Avena sativa* L. en su forma comercial

Uno de los factores que pueden llegar a incidir en los resultados del experimento es la viabilidad de las semillas, por lo que previa al experimento se determinó con el método de inmersión de semillas en agua, donde las semillas que permanecen a flote se cuentan como no viables y las que se hunden se toman como viables.

$$\% \text{ de viabilidad} = \frac{\text{No de semillas sumergidas}}{\text{No total de semillas en la muestra}} \times 100$$

No total de semillas en la muestra.

Posteriormente se pusieron a germinar 120 en cajas Petri con algodón humedecido con agua de la llave en condiciones de invernadero, que fueron colocadas en una estufa de germinación a 37°C. durante 24 horas.

8.6 Medición de altura, hojas, ramas y espigas.

Semanalmente se midió la altura de cada planta con un vernier o flexómetro y se registró el número de ramas, hojas y la cantidad de espigas.

8.7 Fenología

Las relaciones entre la funcionalidad del ciclo de vida de las plantas y su medio ambiente se define como fenología. Este concepto permite obtener información muy valiosa de la época de reproducción, producción de frutos y semillas, ciclos de crecimiento vegetativo, etc. (Mosquera, 2004).

Las fases fenológicas que se registraron fueron: Floración, fructificación, brote y caída de espigas anotando en que día se presentan estas fases.

8.8 Porcentaje de supervivencia.

El porcentaje de supervivencia de *Avena sativa* L. se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ supervivencia} = \frac{\text{No de individuos iniciales}}{\text{No de individuos finales}} \times 100$$

8.8 Tasa de crecimiento relativo

(RGR, siglas del inglés “relative growth rate”) es una medida del crecimiento y se define como la ganancia en altura o biomasa por unidad de tiempo.

Se calculó el promedio general de crecimiento en cada uno de los tres tratamientos y el testigo para enseguida aplicarle logaritmo natural (\ln) y dividirlo entre el número de

días que duro el experimento; este método corresponde al modelo de crecimiento exponencial, el cual describe adecuadamente la primera fase del desarrollo vegetal (Charles-Edwards *et al.*, 1986).

Las mediciones se llevaron a cabo con un vernier tomando semanalmente la altura de las plantas.

$$\text{TCR} = \frac{\ln(\text{altura final}) - \ln(\text{altura inicial})}{\text{número de días}}$$

8.8 Uso de eficiencia del agua

La eficiencia del uso de agua (WUE por sus siglas en inglés: water use efficiency) puede definirse como la biomasa producida por unidad de volumen de agua evapotranspirada. Una forma de medirla es dividir el cociente entre la biomasa producida por una planta y la cantidad de agua aportada para su desarrollo (González, 2003).

$$\text{WUE} = (\text{g de biomasa seca total}) / (\text{kg de agua total irrigada})$$

8.9 Cociente biomasa radical / biomasa aérea

La biomasa es un parámetro que caracteriza la capacidad de los ecosistemas para acumular materia orgánica a lo largo del tiempo y está compuesta, en el caso de las plantas terrestres, por el peso de la materia orgánica aérea y subterránea (Schlegel *et al.*, 2000). En este estudio se eligieron muestras a las cuales se les cortó la raíz (arriba del nudo principal de la raíz), se tomó el peso seco tanto de la raíz como de la parte aérea de cada planta y, posteriormente, se dividió entre el peso de la raíz con el de la parte aérea.

8.10 Porcentaje de colonización micorrícica.

El porcentaje de colonización micorrícica se obtiene por el número de hifas, vesículas y arbuscúlos encontrados en 20 campos observados con las raíces de 5 plantas. Para la

tinción de raíces se utiliza la técnica de Phillips y Hayman (Ferrera *et al*, 1993). Esta técnica consiste en:

1. Clareo. Se extrae la raíz de la plántula y se coloca en cajas histológicas
- 2.-Las cajas se colocan en un vaso de precipitado y se cubren con KOH al 10%
- 3.- Se colocan en Baño María por 15 minutos.
- 4.- Se elimina el KOH, se enjuaga con agua destilada
- 5.- Se aclara con Peróxido de Hidrógeno al 10% durante 3 minutos
- 6.- Se acidifica con HCl al 10% durante 10 minutos
- 7.- Se colocan en Azul de tripano al 0.05% durante 15 minutos en Baño María para su tinción.
8. Montaje. Se realiza cortando trozos de aproximadamente 2 cm y colocándolo paralelamente en las laminillas hasta un total de 10
7. Observación al microscopio. Se cuenta el número de secciones colonizadas, y se divide entre el número de secciones totales multiplicando por cien para obtener el porcentaje de colonización.

$$\% \text{ de colonización micorrícica} = \frac{\text{segmentos colonizados} \times 100}{\text{Total de campos observados}}$$

y

$$\% \text{ de colonización micorrícica} = \frac{\text{segmentos colonizados arbusculos} \times 100}{\text{Total de campos observados}}$$

9. Diseño experimental

100 semillas de cada tratamiento se colocaron para su germinación a 37 °C; después de dos días, cuando comenzaron a aparecer las primeras raíces, las plántulas se

trasplantaron a los recipientes con los diferentes tratamientos los cuales se mencionan a continuación

1.- Testigo: En 25 recipientes de 24 cm de alto y 7.3 cm de diámetro se le colocaron 425 g de suelo de San Gregorio, Xochimilco.

2.-Tratamiento 1: En 25 recipientes se colocaron 365 g de suelo y 60 g de inóculo de micorriza previamente preparado (HMA).

3.-Tratamiento 2: En 25 recipientes se colocaron los 365 g de suelo y 60 g de inóculo, las raíces de las plántulas que se colocaron en estos contenedores fueron remojadas durante 5 minutos en una solución con *Azospirillum brasilense* (HMA + Ab).

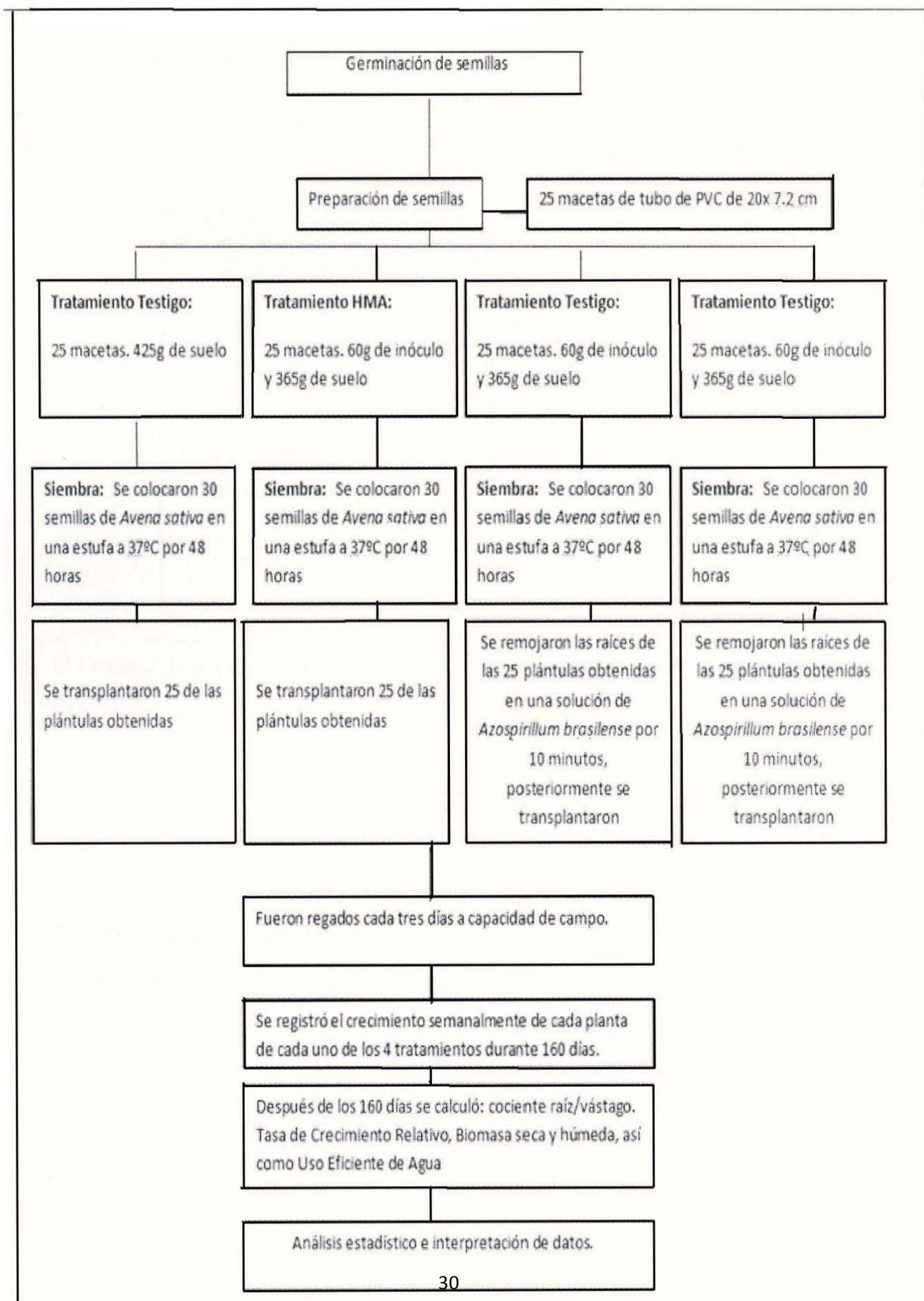
4.-Tratamiento 3: En 25 recipiente se colocaron 425 g de suelo y las raíces de las plántulas fueron remojadas 5 minutos en una solución con *Azospirillum brasilense* antes del trasplante (Ab).

Las plántulas se regaron cada semana a capacidad de campo y posteriormente se midieron los parámetros de crecimiento vegetal con una periodicidad semanal.

9.1 Análisis estadístico.

A los resultados se les aplicó pruebas estadísticas de significancia, que se basaron en la comparación de medias de los diversos tratamientos y el testigo, utilizando la ANOVA de un factor y la prueba de Tuckey para datos no paramétricos, según fue el caso, utilizando el programa estadístico BIOSTAT 2009.

9.2 Diagrama de flujo de la metodología



10. Resultados y discusión

10.1. Parámetros edáficos.

Se realizó la medición de los parámetros edáficos del suelo obtenido de San Gregorio, Xochimilco al inicio del experimento para determinar que tipo de suelo era, los datos obtenidos se presentan en el siguiente cuadro

Cuadro 2. Parámetros edáficos.

Parámetro	Valor
Densidad real	2.10 gr/cm ³
Densidad aparente	1.42 gr/cm ³
Conductividad eléctrica	3 dsm-1
pH	8

Los resultados mostraron que es un suelo con una baja conductividad eléctrica además de ser alcalino

10.2 Viabilidad.

Se obtuvo por medio del método de inmersión de semillas de *Avena sativa* L. en agua, con un porcentaje de 83.33%.

Cuadro 3. Cuadro de viabilidad de semillas

Lote	Viables	No viables.
1	100	20

10.3 Supervivencia

La supervivencia en las plántulas al trasplante fue la siguiente:

En el caso tanto del testigo como de las inoculadas con HMA (Micorrizas arbusculares) fue de 90%

Para el caso de la inoculación combinada (HMA+Ab) y *Azospirillum brasilense*(Ab) la supervivencia fue del 60% lo cual se debe a que el método mediante el cual se agrega *Azospirillum* a las plántulas consiste en el remojo de las raíces después de sacarlas del medio de germinación, generando esto un estrés en la raíz de la plántula, que propicia que no se pueda establecer adecuadamente y algunos mueran a los pocos días de trasplante.

10.4 Porcentaje de colonización

Para corroborar si el inóculo de hongos micorrísicos arbusculares colonizó las raíces de las plantas, se realizó un cálculo del porcentaje al final de los 160 días del experimento, los resultados obtenidos fueron:

Porcentaje de colonización	HMA	HMA+ Ab	Ab	Testigo
Total	15%	25%	0	0
Arbúsculos	5%	15%	0	0

Cuadro 5. Cuadro de porcentaje de colonización. La fila de “total” se refiere a la cuantificación de presencia de micelio, hifas presentes en 200 campos observados. La fila de “Arbúsculos” se refiere a la cantidad de arbúsculos presentes en 200 campos observados.

10.5 Crecimiento

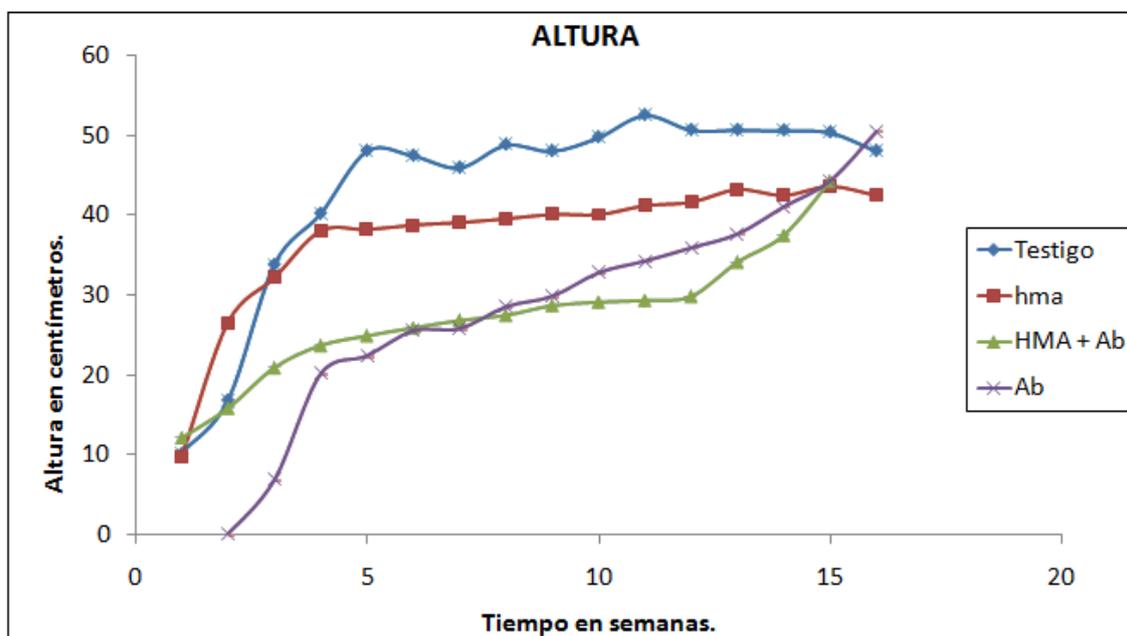


Figura 3. Crecimiento en altura máxima de plantas de *Avena sativa* en cultivo en invernadero durante 160 días. HMA: Hongos micorrizógenos arbusculares Ab: *Azospirillum brasilense*

En la figura 3 el tratamiento de Ab presenta alturas muy bajas en las primeras semanas, y es hasta la semana 4 cuando empieza a incrementar sus valores.

En el tratamiento testigo se observa en la semana 2 un valor bajo comparado con las plantas inoculadas con HMA que, en ésta obtiene las medias de altura mayores, sin embargo, el tratamiento de HMA en la semana 4 empieza a variar muy poco mientras que el tratamiento testigo obtiene las medias de altura más elevadas desde esta semana hasta la última del experimento.

Cuadro 6. Tasa de crecimiento relativo de plantas de *Avena sativa* sometidas a 4 tratamientos durante 160 días en condiciones de invernadero. n=10 TCR= Tasa de crecimiento relativo

	Altura final (cm)	Altura inicial (cm)	TCR (1/d)
TESTIGO	50.44	12.05	0.0115
HMA	44.28	10.13	0.0097
HMA+Ab	43.73	12.14	0.0091
Ab	44.26	1.06	0.0187

En este cuadro se muestra lo obtenido en cuanto a las medias de altura a los 160 días de cultivo con un tamaño de muestra de 10 plantas por tratamiento y se encontró que el tratamiento con una mayor media fue el testigo, pero el tratamiento inoculado fue el que obtuvo la Tasa de Crecimiento Relativo más alta.

Debido a que aparentemente no existe una diferencia marcada entre los 4 tratamientos, se sometieron a un análisis de varianza entre los 4 tratamientos y donde se corroboró que no existen diferencias significativas para este parámetro entre estos 4 tratamientos.

En el Cuadro 7 se observa que los 4 tratamientos germinan en la primera semana y sus hojas aparecen en la segunda semana, sin embargo, los tratamientos con el inóculo de Ab y HMA+Ab obtienen sus espigas en la semana 5, mientras que las de HMA y el tratamiento Testigo las obtienen hasta la semana 10.

Cuadro 7. Fases fenológicas de *Avena sativa* cultivada durante 160 días en invernadero. HMA: Hongos micorrizógenos arbusculares Ab: *Azospirillum brasilense*

Fases fenológicas.	
Semana	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16
Germinación	■
	■
	■
	■
Hojas	■
	■
	■
	■
Formación de espigas	■
	■
	■
	■
Dispersión de semillas	■
	■
	■
	■

HMA	■
Ab	■
HMA+Ab	■
Testigo	■

De acuerdo al cuadro 8, el tratamiento con los valores más elevados en los parámetros de espigas, hojas y ramas fue el testigo, lo cuál se corrobora con las Figuras 4 y 5.

Al realizarle el análisis de varianza se obtuvo que si existe una diferencia estadística para espigas y hojas en el tratamiento testigo. En el caso del número de ramas no existe una diferencia significativa entre los cuatro tratamientos

Tratamiento				
Parámetro	HMA	Ab	HMA + Ab	Testigo
Número de espigas	7.08 b	4.66 a	5.42 a	9.52 b
Número de ramas.	2.47	2.66	3	2.72
Número de hojas	10b	7.66a	6.92a	11.96 b

Cuadro 8 Medias de número de hojas, ramas y espigas de *Avena sativa* después de 160 días de cultivo en invernadero. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$). HMA: Hongos micorrizógenos arbusculares
Ab: *Azospirillum brasilense*

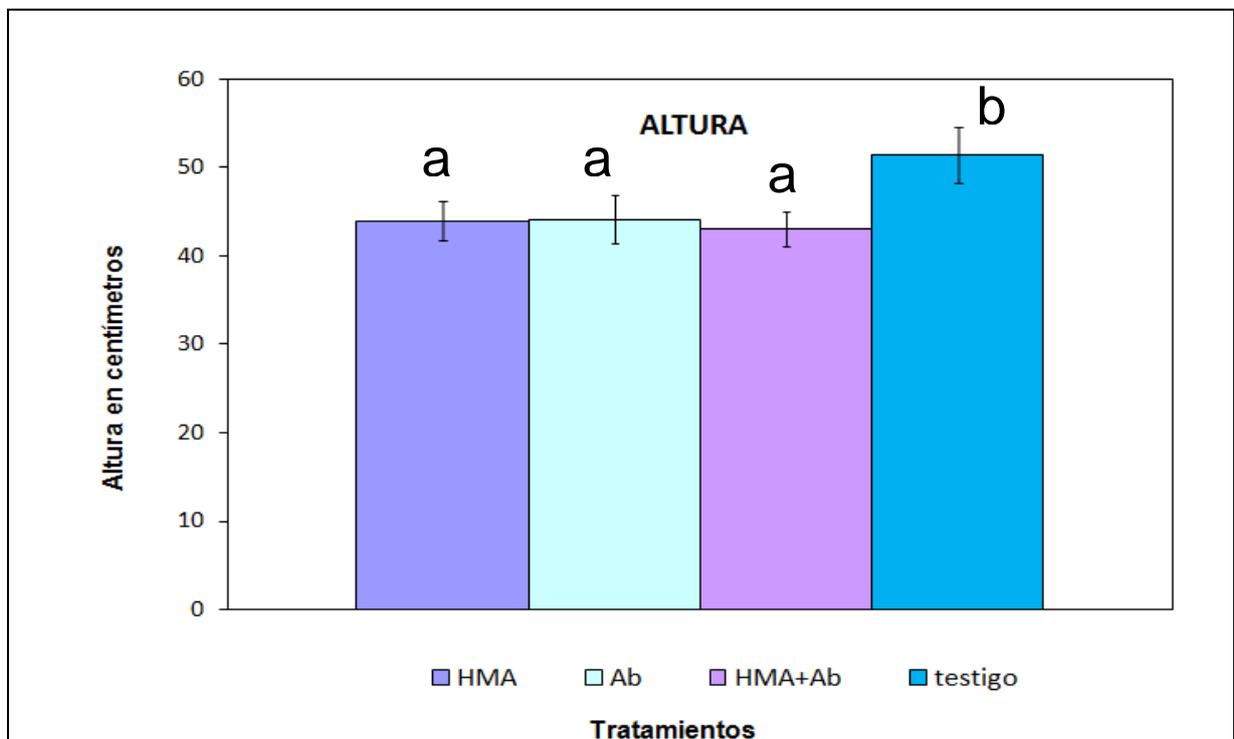


Figura 4. Medias de la última semana (16) para el parámetro de altura de los 4 tratamientos al final de los 160 días del experimento. Las barras muestran las medias de altura de cada uno de los cuatro tratamientos +/- el error estándar. “a” Indica la diferencia significativa con respecto al Testigo (b) con una $p < 0.05$ obtenida al realizar una ANOVA de un factor seguida de una Prueba de Tuckey. HMA: Hongos micorrizógenos arbusculares Ab: *Azospirillum brasilense*

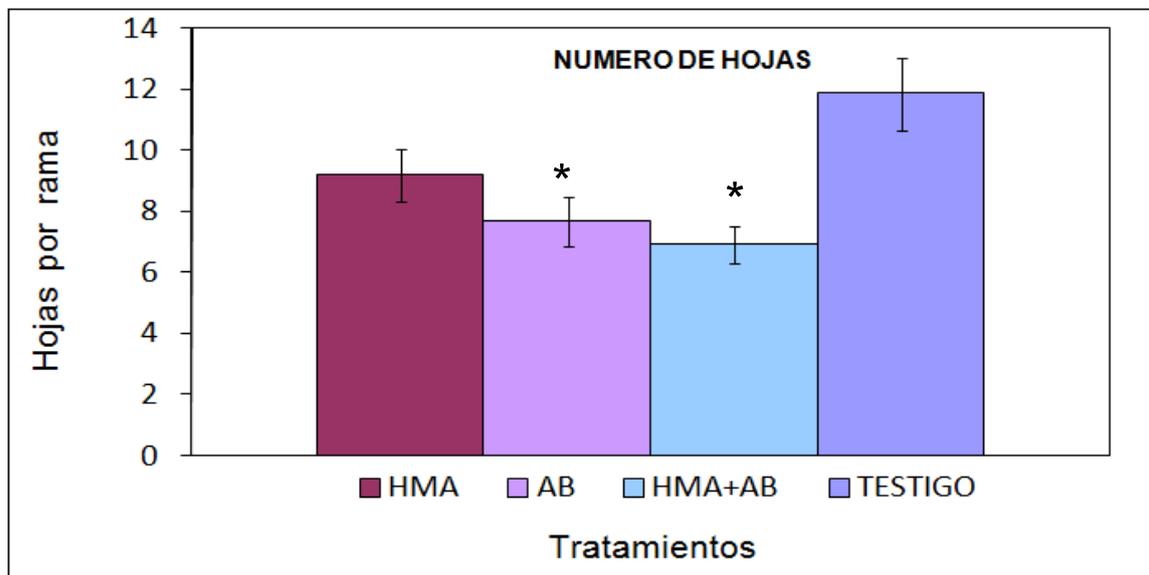


Figura 5. Medias del número de hojas de la última semana del experimento (16). Las barras muestran las medias para el número de hojas de cada uno de los cuatro tratamientos obtenidas en la semana 16 +/- el error estándar. * Indica la diferencia significativa con respecto al Testigo con una $p < 0.05$ obtenida al realizar una ANOVA de un factor seguida de una Prueba de Tuckey. HMA: Hongos micorrizógenos arbusculares Ab: *Azospirillum brasilense*

Debido a que el objeto de estudio se trató de un cereal, se pesó la espiga obteniendo que es el tratamiento de Ab el que tiene el valor más alto, lo cuál se muestra de manera gráfica en la Figura 6

Cuadro 9. Peso de la espiga.

Peso de la espiga (gramos)	
HMA.	0.0194
HMA+Ab	0.018
Ab	0.020
Testigo	0.188

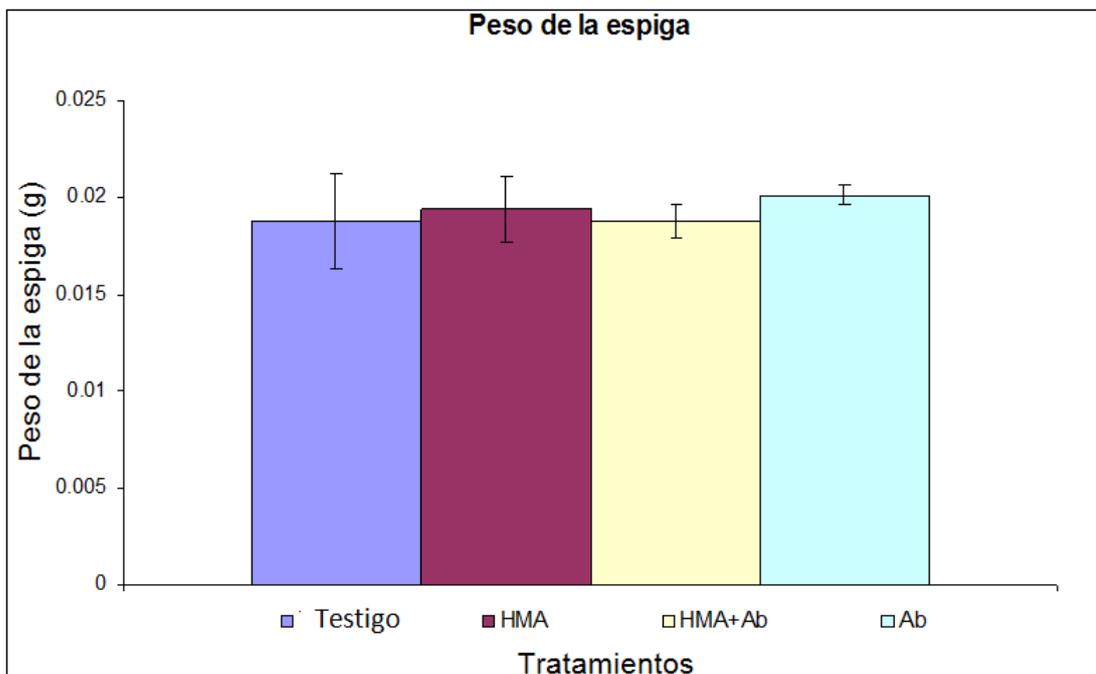


Figura 6 Medias del peso de la espiga en la última semana del experimento (16). Las barras indican el error estandar. Las barras muestran las medias para el peso de la espiga de cada uno de los cuatro tratamientos obtenidas en la semana 16 +/- el error estándar. No hay una diferencia significativa con respecto al Testigo con una $p < 0.05$ obtenida adespues de realizar una ANOVA de un factor seguida de una Prueba de Tuckey HMA: Hongos micorrizógenos arbusculares Ab: *Azospirillum brasilense*

Cuadro 10. Promedio de peso húmedo y seco (g) de plantas de *Avena sativa* bajo tres tratamientos y el testigo, así como cociente biomasa radical/ biomasa aérea (R/S) y eficiencia en el uso de agua (EUA)

Tratamiento	Peso húmedo		Peso seco		R/S	Agua irrigada (Kg)	EUA (g/Kg H ₂ O irrigada)
	Vástago (g)	Raiz (g)	Vástago (g)	Raiz (g)			
HMA	1.89	0.85	0.38	0.02	0.05	3.05	0.012
Ab	2.36	1.05	0.46	0.02	0.06	3.02	0.014
HMA+ Ab	4.11	1.4	0.43	0.01	0.02	2.98	0.015
Testigo	2	1.07	0.28	0.06	0.21	2.99	0.016

En este cuadro se sintetizan los valores destructivos, llamados así porque se requiere de sacrificio de la planta para su medición.

La cantidad de individuos considerados para estas pruebas fue de 10 individuos por tratamiento, de cada uno de los 4 tratamientos.

Lo obtenido en lo correspondiente a la biomasa húmeda fue que el tratamiento inoculado con HMA+Ab obtuvo las medias más altas que el resto de los tratamientos, tanto en vástago como en raíz.

Para el peso seco, el tratamiento con valores más altos fue el inoculado con Ab en vástago, pero en el caso de la raíz se obtuvo el mismo valor entre este tratamiento y el inoculado con HMA.

Para el cociente r/s, que indica la cantidad de materia orgánica producida durante el experimento, el que tuvo un r/s más alto fue el inóculo de HMA+Ab, lo cuál se observa en la Figura 7, en cuyo caso la columna del tratamiento testigo sobrepasa de manera evidente al resto de las columnas.

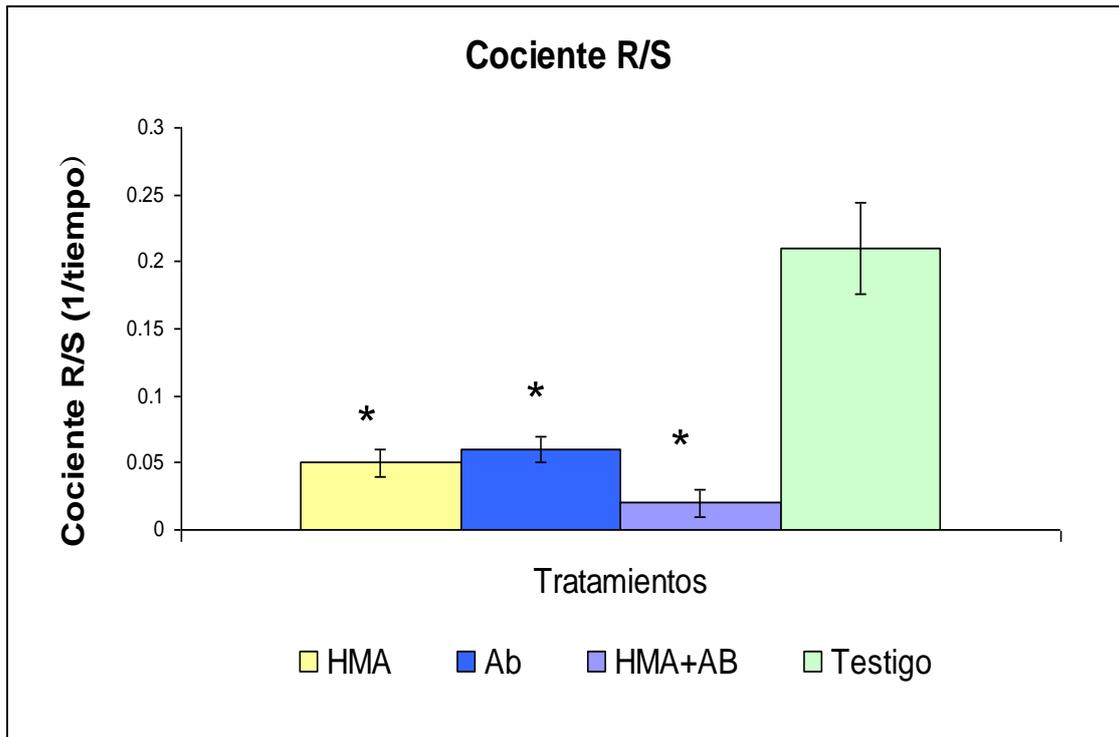


Figura 7 Medias de la última semana para el parámetro de cociente biomasa radical/ biomasa aérea (R/S) de los 4 tratamientos al final de las 16 semanas de experimento. Las barras indican las medias obtenidas para este parámetro en la semana 16 +/- el error estándar. * Indica la diferencia significativa con respecto al Testigo con una $p < 0.05$ obtenida al realizar una ANOVA de un factor seguida de una Prueba de Tuckey. HMA: Hongos micorrizógenos arbusculares Ab: *Azospirillum brasilense*

El cuanto al valor de uso eficiente de agua se observa tanto en el Cuadro 9, como en la Figura 7 que fue el inóculo de Ab el que permite un uso eficiente de agua mayor a los otros 3 tratamientos.

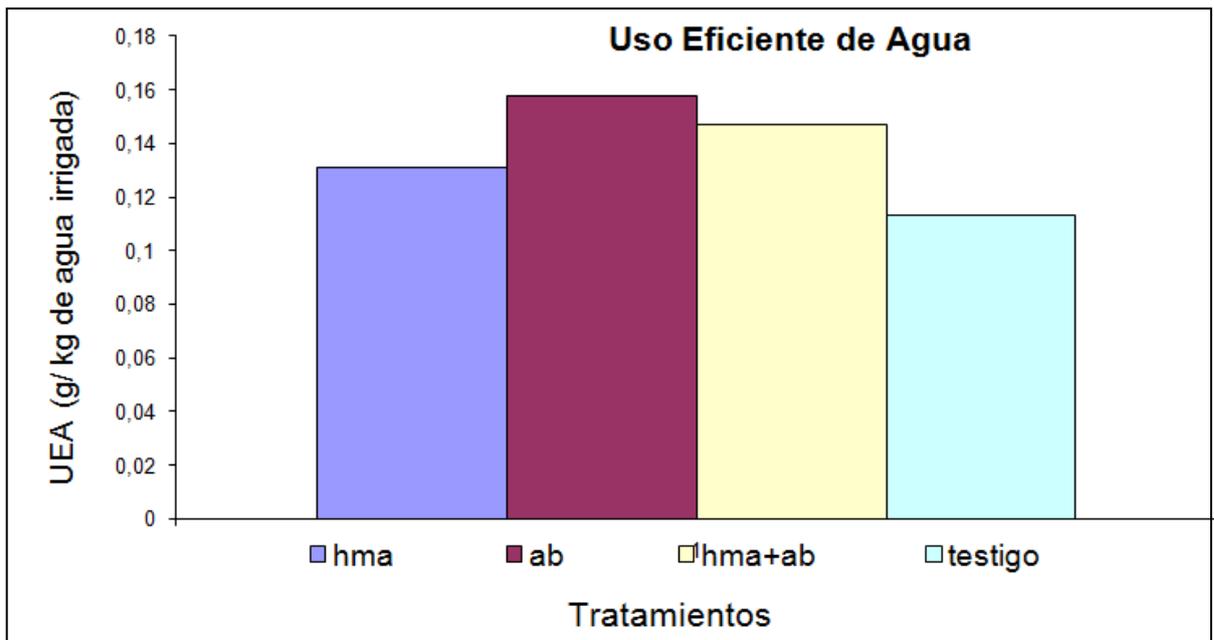


Figura 8 Valores para el parámetro de uso eficiente de agua (EUA) para *Avena sativa* durante 16 semanas de cultivo en invernadero. Las barras indican las medias obtenidas para este parámetro en la semana 16. Se realizó una ANOVA de un factor y posteriormente una prueba de Tuckey con una $p < 0.05$, no se encontraron diferencias significativas. HMA: Hongos micorrizógenos arbusculares Ab: *Azospirillum brasilense*

Parámetro	Testigo	HMA	HMA+Ab	Ab	Observaciones
-----------	---------	-----	--------	----	---------------

Figura 9. Tabla de síntesis de resultados

Porcentaje de supervivencia		92%	88%	72%	60%	El testigo fue el que tuvo mayor supervivencia, lo cuál se puede deber al estrés bajo el cuál se inoculó la planta con Ab
Altura (cm)	Inicial	12.05	10.13	12.14	1.06	El testigo obtuvo una mayor altura pues los dos inoculantes estaban siendo ocupados en la elongación de la raíz de las plantas
	Final	50.44 b	43.73 b	44.28 a	44.26 a	
Número de hojas (cm)		11.96 b	10 b	6.92 a	7.66 a	El Testigo obtiene los valores más altos con diferencias significativas porque el costo de azúcares para la simbiosis es alto cuando se hace una inoculación.
Número de ramas		2.72	2.47	3	2.66	A pesar de que el número de ramas más alto se obtuvo con el inóculo doble, los valores no son significativamente diferentes
Tasa de crecimiento relativo (TCR) (1/d)		0.012	0.0098	0.0091	0.018	En este parámetro se observa como la hipótesis de que la TCR más alta sería la del tratamiento con dos inoculantes, no se cumplió
Biomasa aérea (g)	Húmeda	2.45	2.19	3.35	2.4	La biomasa más alta fue para la doble inoculación. En cuanto a la biomasa seca se observa que la biomasa seca tiene otro tratamiento con un valor más alto, en este caso, el inoculado solo con Ab.
	Seca	0.02	0.38	0.43	0.46	
Biomasa raíz (g)	Húmeda	1.11	1	1.45	1.33	
	Seca	0.06	0.02	0.01	0.028	
Cociente vástago/raíz (R/S)		0.21	0.05	0.02	0.6	El tratamiento inoculado con <i>Azospirillum brasilense</i> fue el de mayor valor
Eficiencia en el uso de agua (EUA) (g/kg H2O)		0.012	0.014	0.015	0.016	Este parámetro indica que se puede cultivar más producto con menor cantidad de agua

12 Discusión de resultados.

En el Cuadro 4 se observa que es el tratamiento testigo el que obtiene medias más altas para el parámetro de altura, pero la tasa de crecimiento mayor fue la del tratamiento con *Azospirillum brasilense* (Ab).

En la altura inicial se observa que el tratamiento de Ab tiene una altura muy baja con respecto a los otros, esto se puede deber a que a planta se estresó demasiado al agregarle la bacteria, pero al finalizar los 160 días las plantas de este tratamiento lograron alturas finales similares a los tratamientos con micorrizas, Sánchez-Colín afirma que *Azospirillum brasilense* promueve el metabolismo y el crecimiento vegetal. Sin embargo, al realizar en análisis de varianza no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, por lo que se puede aseverar que estadísticamente no hay diferencia en la Tasa de crecimiento relativo de los cuatro tratamientos.

Resulta resaltante el hecho de que para el parámetro de altura, el tratamiento con una media más alta fue el testigo, sin embargo, en la biomasa seca el mayor tratamiento fue el inoculado con Ab, probablemente se debe a lo reportado por Aguirre-Medina *et al* (2007) que mencionan que este comportamiento podría reflejar la limitación inicial en la interacción de los microsimbiontes de carbohidratos, o bien la utilización de energía para favorecer los mecanismos de reconocimiento planta-bacteria que promuevan el establecimiento de la simbiosis.

En lo que corresponde al número de espigas y hojas se tiene una media más alta para el tratamiento testigo, lo cual corrobora el supuesto de que el costo de carbohidratos en la simbiosis fue muy alto, y ya que el testigo no invirtió carbohidratos para colonización, pudo invertir más para el desarrollo de sus estructuras de crecimiento

La cantidad de ramas no tuvo diferencias estadísticamente significativas por lo que se puede afirmar que la inoculación con Ab, Micorrizas arbusculares (HMA) o ambas, no incide en la cantidad de ramas que produce *Avena sativa* en condiciones de invernadero.

En el cuadro 7 se muestra que el peso de la espiga más alto fue el del tratamiento de *Azospirillum brasilense*, lo cual coincide con que menciona que al inocular con Ab sus plantas, obtuvo un rendimiento mayor en el peso del grano.

De acuerdo al cuadro 8, el tratamiento con el peso húmedo más alto fue el tratamiento inoculado con HMA+Ab, comparado con el resto de los tratamientos, Esto Coincide con lo encontrado por Irizar (2003) que utilizó un suelo alcalino en la zona de Tlahuac, DF y obtuvo un incremento del 25% en la producción de biomasa aérea húmeda respecto al testigo sin fertilizar. Este comportamiento se debe a lo citado por Sánchez Colín (2010) que menciona que la inoculación con HMA y Ab tiene un efecto de incremento en el crecimiento del sistema completo de raíces, lo que puede estar relacionado con cambios hormonales y esto originó una mayor capacidad de absorción de agua y minerales.

Para el peso seco se observa que el tratamiento micorrizado sí generó una mayor absorción de agua, pero que al evaporarla, el resultado fue más alto para el tratamiento con Ab, este resultado lo menciona Simancas, y afirma que *Azospirillum* incrementó considerablemente el número y longitud de los pelos radicales y número de raíces laterales, así como el área de la superficie de la raíz. De acuerdo a O'Keefe y Sylvia (1992) se incrementa la superficie de absorción externa que se presente con el crecimiento del micelio, y de igual manera se han reportado incrementos en la masa seca y en plantas inoculadas con Ab como son : maíz, trigo y sorgo.

En cuanto al cociente vástago-raíz, se consideró el valor más bajo como el de mejor respuesta ya que, para fines del estudio, una mayor biomasa del vástago representa un mayor beneficio, tratándose de un cereal de consumo, en este caso el tratamiento con mayo cociente R/S fue el de HMA+ Ab este mismo hecho lo consignan Aguirre-Medina y Velasco (1994) en Leucaena; Aguirre-Medina y Kohashi (2002) en frijol e Irizar et al. (1999) en maíz y frijol. Al parecer la hifa del hongo sustituye los pelos de la raíz y la planta transporta más fotosintatos a la parte aérea para la producción de biomasa.

En este caso el tratamiento con doble inoculación fue el que obtuvo mejor respuesta, Irizar *et al* (2003) obtuvo, de igual manera, un incremento de 25% en la producción de biomasa aérea respecto al testigo sin fertilizar para un suelo alcalino.

Esto se atribuye a lo reportado por Sánchez-Colín que menciona que las simbiosis asociativas entre HMA y bacterias promotoras del crecimiento, como Ab, las bacterias pueden aportar nitrógeno y además modificar el desarrollo de las raíces, por tanto, favorecen la absorción de agua y nutrimentos. Bashan y Levanony (1990) plantean que

más de un mecanismo de acción está involucrado en la asociación, y de acuerdo a Bacilio-Jiménez et al (2001) dentro de estos mecanismos se encuentra la producción de compuestos promotores del crecimiento vegetal, y aunado a esto, se suman las contribuciones al aumento de la biomasa de las plantas, a través de la enzima nitrato-reductasa, para una mejor asimilación de los nitratos presentes en el suelo (Fallil et al, 1994 y Ven, 1998)

Resulta resaltante el hecho de que para el parámetro de altura, el tratamiento con una media más alta fue el testigo, sin embargo, en la biomasa seca el mayor tratamiento fue el inoculado con Ab, esto es por la manera en la cuál se midió el parámetro, ya que, para la altura sólo se mide el tallo principal de la gramínea, sin embargo, para poder determinar la biomasa se considera toda la parte aérea, es decir, las ramas, hojas y semillas, así como la parte de la planta que se encontraba enterrada en el suelo durante todo el experimento.

Para el parámetro de eficiencia en el uso de agua, que menciona cuántos gramos de biomasa seca produce cada litro de agua irrigada, el valor más alto obtenido fue el del tratamiento con Ab, por lo que presenta una mayor producción por la misma cantidad de agua irrigada, así como una mayor productividad para el cultivo, que de acuerdo a Perrotto y Pidello (1999) se debe a que hay un mayor crecimiento del sistema radical y así pueden las raíces explorar un volumen mayor del suelo.

Análisis general de resultados.

Para los parámetros no destructivos (altura, número de hojas, ramas, espigas), las medias más altas obtenidas fueron para el tratamiento testigo, ya que el costo de la simbiosis para *Avena sativa*, bajo condiciones de invernadero, fue muy alta, por tanto las plantas no inoculadas pueden aprovechar todos sus nutrientes en desarrollar sus estructuras reproductivas.

En cuanto a los parámetros de peso húmedo y cociente vástago-raíz, el tratamiento más alto fue el doblemente inoculado, esto se debe a que una simbiosis entre éstos dos organismos aumentan la absorción de agua, sin embargo, debido a que en capo es necesario producir más biomasa con menor cantidad de agua, es el tratamiento inoculado con Ab el que aporta la mayor cantidad de biomasa, pero al someter los datos

de estos parámetros a un análisis de varianza, se obtuvo que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre el tratamiento HMA+ Ab y el de Ab para estos parámetros, por tanto, se puede aseverar que ambos tratamientos son viables para el cultivo de *Avena sativa* en condiciones de invernadero.

Parte de esta inconsistencia en las respuestas de rendimiento puede ser atribuida a factores ecológicos y ambientales, y a la habilidad de la bacteria para establecerse.

Conclusiones.

La hipótesis planteada fue rechazada ya que no hubo una diferencia estadísticamente significativa entre los tres tratamientos inoculados y el testigo, para el parámetro de Tasa de crecimiento relativo.

No hay diferencias en el efecto de los hongos micorrícicos arbusculares al combinarlos con *Azospirillum brasilense*.

La inoculación combinada de HMA+ Ab obtiene valores de biomasa húmeda y cociente raíz-vástago más altas, contrario a esto, el tratamiento con Ab obtiene valores más altos en biomasa seca y eficiencia en el uso de agua, por lo que se puede afirmar que ambos tratamientos son viables como modelo de agricultura orgánica para el cultivo de *Avena sativa* en condiciones de invernadero.

Recomendaciones.

-Se debe hacer una evaluación del porcentaje de colonización micorrícica durante las diferentes fases fenológicas del estudio

-Se debe variar la cantidad de inóculo de *Azospirillum brasilense* para observar si hay un cambio en los parámetros.

-Se sugiere evaluar el comportamiento del experimento en campo.

13. Referencias.

- Aguilera, I., Arriaga, R., Contreras, R., Olalde, V. 2008. Micorrizas arbusculares. *Ciencia Ergo Sum* 14 (3): 300-306.
- Aguirre-Medina, J.F., Kohashi-Shibata, J. 2002. Componentes morfológicos y fisiológicos del rendimiento, dinámica de la colonización micorrícica y contenido de fósforo en frijol *Phaseolus vulgaris* L. *Agricultura Técnica en México* 28 (1): 23-33
- Aguirre-Medina, F., Mendoza-Lopez, A., Cadena-Iniguez, J. 2007. Efecto de la biofertilización en vivero del cacao (*Theobroma cacao* L) con *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et döbereiner y *Glomus intradices* Schenk et Smith. *INCI* 32 (8): 541-546
- Aguirre-Medina, F. 2008. Biofertilizantes microbianos: Antecedentes del programa y resultados de validación en México. La biofertilización como Tecnología sostenible. Editorial Plaza-Valdés-CONACYT. México, D.F. 257 pp.
- Alimentarius codex. 2005. Alimentos producidos orgánicamente. Manual de procedimientos. Programa conjunto OMS/ FAO sobre normas alimentarias 15: 96-160.
- Arnesto, X. 2007. El concepto de agricultura ecológica y su idoneidad para fomentar el desarrollo rural sustentable. *Boletín de la A.G.E* 34: 155-172
- Bacilio- Jimenez, M; S Aguilar- Flores; MV Del Valle; A Perez; A Zepeda & E Zenteno. 2001. Endophytic bacteria in rice seeds inhibit early colonization of roots by *Azospirillum brasilense*. *Soil Biol. Biochem* 33:167-172.
- Bellido, L. 1991. Cultivos herbáceos: cereales, Editorial Mundi Prensa 539 pp
- Böhm, W. 1979. Methods Of studyng root systems, *Ecological studies analysis and shyntesis* 33: 155-157

Casanova, A. 2001. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas en cepellones de tomate. Encuentro Nacional de Agricultura orgánica. ACTAF 4: 4-6.

Charles-Edwards, D., Doley, D., Rirmmington-Glyn, M. 1986. Modeling plant growth and development. Ed. Academic Press. pp 21

CCI Corporation Colombia Internacional. 2001.El cultivo de bananito orgánico en Colombia. Monografía del producto. Boletín CCI: Exótica 1 (13): 7.

Coelho, C.N. 2001. A expanse o potencial do mercado mundial de produtos orgânicos. Secretaria de Política Agrícola do Miniterio da Agricultura e do abastecimento. Brasil.

Curá, J.A. 2005. Utilidad de las bacterias promotoras del crecimiento y fijadoras de nitrógeno en el cultivo de arroz durante las primeras etapas de desarrollo. FORO. Argentina. pp 10-12 .

Delgadillo

Díaz-Franco, A. 2008. Productividad de sorgo en campo asociada con micorriza arbuscular y *Azospirillum brasilense*. Universidad y ciencia 3 (24): .229-237.

Díaz-Moreno, R. 2007. Brassinoesteroides e inoculación con micorriza arbuscular (*Glomus intraradices*) en el crecimiento y la producción de sorgo en campo. Universidad y ciencia 3 (24): 229-237.

Dibut, B. 2000.Obtención de un bioestimulador del crecimiento y el rendimiento para el beneficio de la cebolla (*Allium cepa L.*). Tesis de Doctorado. INIFAT. La Habana, Cuba. pp104

Dobbelaere, S. 2002. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakensestrains* on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. Biology and Fertility soils 36: 284-297

- Ferlini, H. 2006. Inoculación del cultivo de avena (*Avena sativa* L.) con *Azospirillum brasilense*. Informe de campaña 2004-2005. Universidad Nacional Agraria. Santa Fe, Nicaragua. pp 1-6
- Ferrera R, González M, Rodríguez M. 1993. Manual de agromicrobiología. Trillas. México. 142 pp
- Fonegra, R. y Jiménez, J. 2007. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Editorial Universidad de Antioquia. Segunda edición. Colombia. pp 47,153
- García, J. 2004. Situación actual y perspectivas de la agricultura orgánica y su relación con América Latina. Manejo integrado de plagas y agro ecología 64: 116-124.
- Gómez Hernández, F. 2000. Tópicos selectos de la producción agrícola actual. Uso de Biofertilizantes en México. Trabajo de Seminario para obtener el título de Ingeniero Agrícola. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. México
- Gómez, M. Y Schewentesius, A. 2002. Dinámica del mercado internacional de productos orgánicos y las perspectivas para México. Momento Económico 160: .54-68.
- Halweil . 2001. Organic gold rush. [www.gaia.org/ services/ gaianews/ agriculture/ detail_1257.asp](http://www.gaia.org/services/gaianews/agriculture/detail_1257.asp) . Consultada el día 27/11/09
- Harrier, L.A. 2001. Isolation and sequence analysis of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* (Nicol & Gerd.) Gerdemman & Trappe 3-phosphoglycerate kinase (PGK) gene promoter region. DNA sequence 6(11): 463-473.
- Hernández, L., Guadarrama, P., Martínez, Y., Romero, M.A., Sánchez, I. 2003. Hongos micorrizógenos arbusculares del pedregal de San Angel. Facultad de Ciencias UNAM. México, D.F, pp 3-9.
- Hernández, M. 2000. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como complemento de la nutrición mineral del tomate (*L. esculentum*). Tesis de maestría. INCA, Cuba.
- Irizar, G., Albarrán, M., Velásquez, G., Vargas, P. 1999. Uso de biofertilizantes (*Azospirillum*, *Rhizobium*, Micoriza) en maíz, frijol, trigo y avena. Informa de

- labores del Programa de Biofertilizantes en el campo experimental Valle de México. Centro de Investigaciones Regionales del Centro. Chapingo. México, D.F. 10 pp.
- Irizar, G. 2003. Respuesta de cultivos agrícolas a los biofertilizantes en la región central de México. *Agricultura técnica* 29: 213-225.
- Kaya, C. 2003. Micorrhizal colonization improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (*Citrullus lanatus*) grown under well-watered and water stressed conditions. *Plant Soil* 253:287- 292.
- Lara, L., Trejo, D., y Zulueta, R. 2008. Manual de prácticas para el estudio de la simbiosis micorrizógena arbuscular. Editorial Textos Universitarios. Veracruz, México, pp 17-18.
- Le Tacon, F. 1985. Efficacité en pépinière forestière d'un inoculum de champignon ectomycorhizien produit en fermenteur et inclus dans une matrice de polymères. *Science formation* 40: 165-176.
- López, A. 2004. La chinampa como patrimonio cultural: identificación de problemas y alternativas de manejo. Informe de resultados del taller con chinamperos del pueblo de san Luis Tlaxiátemaco. México, D.F. pp 10-19
- López, L. 2007. Efecto de la biofertilización con *Azospirillum* sobre la calidad y producción de jitomate. Tesis de licenciatura. Facultad de química UNAM. México, D.F. pp 6-15.
- Martínez, R. 2001. Efectividad de bioreparadores a base de *Azotobacter chroococcum* en la agricultura orgánica. Encuentro de Agricultura Orgánica. La Habana, Cuba. pp 11-16.
- Micheli, F. 2005. Incidencia de la coinoculación de soja (*Glycine max*) con *Azospirillum brasilense* y *Bradirhizobium japonicum* en la eficiencia de la implantación. Colegio Santa Clara de Saguier. RoArgentina. pp 2-8
- Noceti, J. 2009. Biofertilizantes: un nuevo desafío en nuestro país y en nuestra región. Informe del Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura. Uruguay. pp 5-9.

- ONAGRI Observatoire National de l'Agriculture. 2001. L'agriculture biologique. Republique Tunisienne. Ministere de l'Agriculture.Francia. pp 27.
- O'keefe M., Sylvia M. 1992.Chronology and mechanisms of P uptake by mycorrhizal sweet potato plants. *New Phytol.* 122: 651-659
- Perotti E B R y Pidello A. 1999. II Reunión Científico Técnica de Biología del suelo, fijación biológica del nitrógeno. FCA-UN de Catamarca. pp 181-184
- POM Pro Organics Marketing. 2001.A global view of the organic food industry. *Organic Living* 10:4.
- Ramírez, R. 2001. Biofertilización del tomate en las condiciones edafoclimáticas de suelos pardos mullidos sin carbonato de la provincia de Holguín. Tesis de maestría. INCA. Cuba. pp 13-14.
- Sala, S. 2002. Un vigoroso dinamismo en el sector orgánico argentino. Gerente de la Cámara Argentina de Productores Orgánicos Certificados (CAPOC). Argentina. pp 4.
- Sánchez, Colín M. 2000. Microbiología de suelos: Técnicas, métodos y medios de cultivos. Universidad Nacional Autónoma de México. México,D.F. pp 28.
- Schlegel, B., Ganoso, J., Guerra, J. 2000. Medición de la capacidad de captura de carbono en bosques de Chile y promoción en el mercado mundial: Manual de procedimientos para inventarios de carbono en ecosistemas forestales. Universidad Austral de Chile. pp 15.
- Sierra-Villagrana, R. 2006. Fitorremediación de un suelo contaminado por plomo por actividad industrial. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Navarro. México,D.F. pp 3-6.
- Simancas J. 2007. Influencia de hongos micorrizógenos arbusculares y de *Azospirillum brasilense* y de su interacción sobre el desarrollo de plántulas de maguey (*Agave salmiana* var. *Salmiana*) en condiciones de invernadero. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zragoza, UNAM. México. pp 27-41

SÔL Fundación Stiftung Ökologie y Landbau. 2001. Organic agriculture world-wide – Links to information on individual countries. Alemania. pp 10.

Tian, C. 2004. Different effects of arbuscular mycorrhizal fungal isolates from saline or non-saline soil on salinity tolerance of plants. *Applied soil ecology* 26:143-148

Trujillo, C. 2009. Las micorrizas como procesos simbióticos. *Integra* 10: 160-130.

United States Department of Agriculture.USDA. 2010.Report of production of cereals and oats. USDA. Estados Unidos de América. pp 23.

Willer, H., y Yussefi,c M. 2002. Statistics and future prospects. *Statistics and future prospects. Stiftung Ökologie & Landbau* 74: 44-56

14. Anexos.

Pruebas estadísticas aplicadas a los parámetros de crecimiento registrados durante 160 días.

Cuadro 1. Análisis de varianza para el parámetro altura

Análisis de Varianza (Una Vía)							
Estadística Descriptiva							
<i>Grupos</i>	<i>Tamaño muestral</i>	<i>Suma</i>	<i>Media</i>	<i>Varianza</i>			
<i>Ab</i>	15	35.	2.3333	115.			
<i>HMA</i>	23	223.	9.6957	2,751.			
<i>HMA+Ab</i>	14	170.	12.1429	2,432.			
<i>testigo</i>	23	34.	11.3333	388.			
<i>Total</i>	75		8.4	33.4296			
ANOVA							
<i>Origen de la Variación</i>	<i>d.f.</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>nivel p</i>	<i>F crit</i>	<i>Omega Cuadrado</i>
<i>Entre Grupos</i>	3	812.6161	270.872	13.9177	0.	2.7862	0.4134
<i>Dentro de Grupos</i>	51	992.5839	19.4624				
<i>Total</i>	54	1,805.2					

Cuadro 2. Prueba de Tuckey para el parámetro altura en las semanas 1, 2, 5,6, 15 y 16.

Prueba de Tuckey-Kramer para Diferencias Entre Medias					
	<i>Grupos</i>	<i>Diferencia</i>	<i>Estadísticas de la Prueba</i>	<i>nivel p</i>	<i>¿Aceptado?</i>
Semana1	Ab vs testigo	-9	4.5617	0.0115	<i>aceptado</i>
	HMA vs HMA+Ab	-2.4472	2.3143	0.3678	<i>rechazado</i>
	HMA vs testigo	-1.6377	0.8552	0.9302	<i>rechazado</i>
	HMA+Ab vs testigo	0.8095	0.4079	0.9916	<i>rechazado</i>
Semana 2	Ab vs HMA	-23.84	8.9818	0	<i>aceptado</i>
	Ab vs HMA+Ab	-4.72	3.0801	0.1386	<i>rechazado</i>
	Ab vs testigo	-12.76	8.3267	0	<i>aceptado</i>
	HMA vs HMA+Ab	19.12	7.2036	0	<i>aceptado</i>
	HMA vs testigo	11.08	4.1744	0.0215	<i>aceptado</i>

	HMA+Ab vs testigo	-8.04	5.2466	0.002 2	<i>aceptado</i>
Semana 5	Ab vs HMA	-21.84	7.8278	0	<i>aceptado</i>
	Ab vs HMA+Ab	-0.56	0.2007	0.999	<i>rechazado</i>
	Ab vs testigo	-39.1	8.7191	0	<i>aceptado</i>
	HMA vs HMA+Ab	21.28	7.6271	0	<i>aceptado</i>
	HMA vs testigo	-17.26	3.8489	0.039 3	<i>aceptado</i>
	HMA+Ab vs testigo	-38.54	8.5943	0	<i>aceptado</i>
Semana 6	<i>Grupos</i>	<i>Diferencia</i>	<i>Estadísticas de la Prueba</i>	<i>nivel p</i>	<i>¿Aceptado?</i>
	Ab vs HMA	-20.48	6.7311	0	<i>aceptado</i>
	Ab vs HMA+Ab	0.76	0.2498	0.998 1	<i>rechazado</i>
	Ab vs testigo	-25.5533	5.2253	0.002 3	<i>aceptado</i>
	HMA vs HMA+Ab	21.24	6.9808	0	<i>aceptado</i>
	HMA vs testigo	-5.0733	1.0374	0.883 4	<i>rechazado</i>
	HMA+Ab vs testigo	-26.3133	5.3807	0.001 6	<i>aceptado</i>
Semana 15	Ab vs HMA	-13.68	3.1053	0.131 6	<i>rechazado</i>
	Ab vs HMA+Ab	1.76	0.3995	0.992 2	<i>rechazado</i>
	Ab vs testigo	-23.88	5.4207	0.001 3	<i>aceptado</i>

	HMA vs HMA+Ab	15.44	3.5048	0.069	8	<i>rechazado</i>
	HMA vs testigo	-10.2	2.3154	0.362	9	<i>rechazado</i>
	HMA+Ab vs testigo	-25.64	5.8202	0.000	4	<i>aceptado</i>
Semana 16	Ab vs HMA	9.36	1.1744	0.839	9	<i>rechazado</i>
	Ab vs HMA+Ab	22.28	2.7954	0.205	8	<i>rechazado</i>
	Ab vs testigo	1.52	0.1907	0.999	2	<i>rechazado</i>
	HMA vs HMA+Ab	12.92	2.6054	0.261	8	<i>rechazado</i>
	HMA vs testigo	-7.84	1.581	0.679	7	<i>rechazado</i>
	HMA+Ab vs testigo	-20.76	4.1864	0.020	9	<i>aceptado</i>

Cuadro 3. Análisis de varianza para el parámetro número de hojas.

Estadística Descriptiva						
Grupos	Tamaño muestral	Suma	Media	Varianza		
<i>Ab</i>	15	115.	7.6667	1,015.		
<i>HMA</i>	23	230.	10.	2,646.		
<i>HMA+Ab</i>	14	97.	6.9286	737.		
<i>testigo</i>	25	299.	11.96	4,353.		

<i>Total</i>	77		9.6234	21.3168		
ANOVA						
<i>Origen de la Variación</i>	<i>d.f.</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>nivel p</i>	<i>F crit</i>
<i>Entre Grupos</i>	3	298.856	99.6187	5.5041	0.0018	2.73
<i>Dentro de Grupos</i>	73	1,321.2219	18.0989			
<i>Total</i>	76	1,620.0779				
<i>Hartley Fmax</i>	6.4818	<i>Grados de Libertad</i>	4	24		
<i>Cochran C</i>	0.517	<i>Grados de Libertad</i>	4	24		
<i>Bartlett Chi-square</i>	14.5062	<i>Grados de Libertad</i>	3	<i>nivel p</i>	0.0023	

Cuadro 4. Prueba de Tukey para el parámetro número de hojas.

<i>Grupos</i>	<i>Diferencia</i>	<i>Estadísticas de la Prueba</i>	<i>nivel p</i>	<i>¿Aceptado?</i>
Ab vs HMA	-2.3333	2.3371	0.3562	<i>rechazado</i>
Ab vs HMA+Ab	0.7381	0.6603	0.9661	<i>rechazado</i>
Ab vs testigo	-4.2933	4.3699	0.0148	<i>aceptado</i>
HMA vs HMA+Ab	3.0714	3.012	0.1533	<i>rechazado</i>
HMA vs testigo	-1.96	2.2551	0.3881	<i>rechazado</i>
HMA+Ab vs testigo	-5.0314	5.0105	0.0038	<i>aceptado</i>

Cuadro 5. Cálculo del parámetro Tasa de Crecimiento Relativo.

TCR			
TESTIGO	HMA	HMA+AB	AB
0.010539993	0.00746202	0.01220009	0.024450144
0.011022429	0.01046235	0.0066647	0.019862836
0.00879321	0.0090149	0.00483244	0.019459471
0.010825251	0.00733825	0.01103615	0.016604731
0.00841921	0.01087791	0.00866434	0.012730512
0.018968456	0.01148925	0.01098661	0.021257484
0.008233134	0.00674256	0.0066647	0.01571035
0.008826687	0.00686633	0.00171523	0.019375577
0.008068651	0.0171971	0.01612636	0.017947998
0.007760707	0.00970843	0.01021332	0.018618282
0.009595812	0.01176707	0.00932284	0.018618282
0.018064823	0.00930048	0.012309	0.018618282
0.024323877	0.00826097	0.00843704	0.020482155
0.01352293	0.01086717	0.00916714	0.018739599

Cuadro 6. Cálculo del parámetro Uso Eficiente de agua.

USO EFICIENTE DE AGUA					
Tratamiento	Peso seco		Agua irrigada (L)	biomasa seca total	EUA
	Vástago	Raíz			
Testigo	0.28	0.06	27.01	0.34	0.01258793

HMA	0.38	0.02	27.72	0.4	0.014430014
HMA+ Ab	0.43	0.01	28.05	0.44	0.015686275
Ab	0.45	0.28	28.62	0.73	0.025506639

Cuadro 7. Valores de Biomasa seca y húmeda, cálculo de medias y cociente root/shoot

TESTIGO		HMA		HMA+AB		AB	
AEREA	RAIZ	AEREA	RAIZ	AEREA	RAIZ	AEREA	RAIZ
3	0.8	2	1	5	1	3	0.9
2	0.56	3	1	5	2	3	2
2	1	3	1	6	2	2	1
1	0.87	2	0.78	5	2	3	1
2	0.36	1	0.11	3	1	1	0.54
2	1	0.8	0.48	4	2	2	1
	0	2	0.76	1	0.67	3	1
3	2	1	0.85	3	1	2	1
0.65	0.4	3	1	1	0.8	2	0.77
3	1	2	1	3	2	2	0.89
6	2	1	0.7	3	1	3	1
2.3	1.42857143	2	1	3.54545455	1.55555556	2.36363636	1.28571429

Biomasa seca

Biomasa seca total			
	Biomasa aérea	Biomasa radical	Biomasa seca total
Testigo	0.28	0.06	0.34
HMA	0.38	0.02	0.4
HMA+ Ab	0.43	0.01	0.44

Ab	0.46	0.02	0.48
-----------	-------------	-------------	-------------

Cociente r/s

Tratamiento	Peso seco		R/s
	Vástago	Raíz	
Testigo	0.28	0.06	0.05
HMA	0.38	0.02	0.6
HMA+ Ab	0.43	0.01	0.02
Ab	0.45	0.28	0.21