



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“MICROBIOLOGÍA DE LA RIZÓSFERA DE CACTÁCEAS QUE  
CRECEN EN LA CAÑADA, EL MARQUÉS QUERÉTARO, Y SU  
POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO AGRÍCOLA**

**PRESENTA**

**PAULINA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ**

**DIRIGIDA POR**

**Dr. JUAN RAMIRO PACHECO AGUILAR**

**SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2011**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“MICROBIOLOGÍA DE LA RIZÓSFERA DE CACTÁCEAS  
QUE CRECEN EN LA CAÑADA, EL MARQUÉS  
QUERÉTARO, Y SU POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO AGRÍCOLA**

**PRESENTA**

**PAULINA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ**

**DIRIGIDA POR**

**Dr. JUAN RAMIRO PACHECO AGUILAR**

**SINODALES**

**Dr. JUAN RAMIRO PACHECO AGUILAR**  
DIRECTOR

---

**Dr. RAMON MARTÍNEZ PENICHE**  
SINODAL

---

**Ing. ALEJANDRO CAMACHO MORALES**  
SINODAL

---

**Q. A. LAURA LUNA MARTÍNEZ**  
SINODAL

---

A los que me crearon, inspiraron, y soportaron...

Los mejores padres del mundo Tere y Luis

y los mejores hermanos Nancy y Dario.

Esta tesis es el resultado de un gran esfuerzo, no solo mío, es el resultado del apoyo de muchas personas a las cuales les debo mucho, desde mis maestros de la facultad de Química, mis amigos, mis padres, mis hermanos y demás personas que tal vez es imposible enumerar.

A los principales que les tengo que agradecer es a mis padres; para mí, los mejores, Teresa y Luis, gracias por darme todo lo necesario para vivir, para ser feliz, para seguir adelante en mis estudios, por darme la fortaleza y paciencia en momentos difíciles, por creer en mí y en mis ideales, y por permitirme demostrarles lo que puedo lograr gracias a todos los aprendizajes y a la formación que me han otorgado. A mis hermanos, los sanguíneos: Nancy eres sin duda una de mis grandes inspiraciones, siempre lo fuiste y lo seguiras siendo, tu coraje, fuerza, dedicación me inspiraron a continuar y mejorar mi vida, siempre has estado en los momentos más difíciles y los más alegres, no me pudieron dar otra mejor compañera de vida que tú; Darío, el pequeño pero muy grande en pensamiento, en ideales, en tenacidad; aprendiste a ser muy trabajador y con eso me demostraste día a día que para alcanzar lo que quieres no hay límites, gracias por tolerar mis malos humores y por apoyarme cuando lo necesito.

A mis hermanos del alma: Adriana Piña eres el mejor ejemplo de vida, siempre luchando bajo toda adversidad, eres grande; Zaira Barquera tantos años juntas, me aguantaste chilladeras, intensidades, enojos, groserías, siempre me inspiraste con tu espíritu emprendedor; Paco Piña te amo amigo, siempre me apoyaste y estuviste conmigo para lo que necesitara y más si se trataba de levantar las llaves; Clara Bravo tu fuerza, empeño y dedicación me han logrado inspirar y ver que lo que uno puede soñar muy fácilmente se hace realidad; Margarita González tus consejos, enseñanzas, y logros me dieron gran aprendizaje en mi carrera y en mi vida; Erika, Carina, Eder, Alejandro, Wendy, Arely, Ali, Edith, Priscila, gracias por siempre estar conmigo ayudándome, apoyándome y aunque yo estuve sola en agrícola siempre estuvieron a mi lado, los amo.

A los artistas que pintaron por mucho tiempo mi vida de colores: Alan, Diego, Rodrigo, Jasiel, Mirna, Lupita y dentro de este grupo de artistas mi gran compañero de vida con el cual crecí, soñé, me inspire, fui feliz, fracasé, logre objetivos, diseñé un futuro, lloré, amé, reí, jugué, el que me soportó por años y me amó como nunca antes nadie, el que diseñó a la química, a la mujer, a la amiga, Oscar García Pérez a tí te debo infinitas cosas que creo nunca tendré lo suficiente para pagarte, a ti y a tu familia lo que en estos largos años me brindaron.

A mis ángeles que algún día los tuve en vida y sé que me guiaron en este largo camino: María de la Luz Mondragón y Luis Ramiro.

A toda la Familia Agrícola encabezada por Juan Ramiro, maestros, alumnos, amigos agrícolas. Gracias a mi amigo Pedro Martínez Rojas, que me dió ánimo en la recta final, me apoyó, creyó en mí y me enseñó lo que significa el compromiso en la vida.

A la vida que me espera con los brazos abiertos tal vez dirigiéndome a diferentes horizontes, laborales y personales pero siempre agradecida con ella y con Dios por darme la oportunidad de cerrar este ciclo.

## ÍNDICE GENERAL

Contenido.	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
II.1. Vegetación del estado de Querétaro.	3
II.2. Las cactáceas del estado de Querétaro.	4
II.3. Agentes de disturbio.	4
II.4. Recuperación de cactáceas.	6
II.5. Microbiología de la rizósfera.	8
III. HIPÓTESIS	9
IV. OBJETIVOS	10
IV.1. General.	10
IV.2. Específicos.	10
V. METODOLOGÍA	11
V.1. Muestreo de suelos.	11
V.2. Análisis de fertilidad de suelos.	11
V.3. Recolección de semillas.	12
V.4. Análisis microbiológico.	14
V.5. Obtención de aislados.	16
V.6. Detección de actividades promotoras de crecimiento.	16
V.7. Ensayos de la promoción del crecimiento vegetal.	17
V.8. Tratamientos de semillas de cactáceas.	18
VI. RESULTADOS	19
VI.1 Análisis de fertilidad de suelos.	19
VI.2 Poblaciones microbianas del suelo.	21

VI.3 Obtención de aislados bacterianos con actividad promotora del crecimiento vegetal.	22
VI.4 Efecto de la inoculación sobre la germinación y sobrevivencia de plántulas de cactáceas.	25
VII. DISCUSIÓN	28
VIII. CONCLUSIONES	31
IX. BIBLIOGRAFÍA	32

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Técnicas empleadas para el análisis de la fertilidad de suelo.	13
2	Características físicas y químicas de los suelos del sitio de estudio, en “La Cañada” El Marqués, Qro.	20
3	Poblaciones microbianas en los suelos de estudio.	21
4	Ensayo de germinación de semillas de <i>Echinocactus platyacanthus</i> sin escarificación.	23
5	Solubilización de fósforo (P) y producción de ácido indolacético.	24
6	Actividad ACC deaminasa y producción de sideróforos.	25
7	Efecto de la inoculación de las cepas de estudio sobre la germinación de semillas de cactáceas y su sobrevivencia.	27

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Cactáceas presentes en “La cañada” el Marqués Qro., empleadas en este estudio.	11
2	Zona de muestreo de suelos y recolección de semillas.	12
3	<i>Stenocereus queretaroensis</i> , creciendo en el barrio de “San Lucas” en Tóliman, Querétaro.	13
4	Fruto de <i>Stenocereus queretaroensis</i> .	14
5	Poblaciones microbianas del ciclo de N, P y relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal.	22

## RESUMEN

México está constituido por el 60% de zonas áridas y semiáridas, cuya vegetación se caracteriza por plantas arbustivas y cactáceas. En Querétaro se tienen registradas 112 especies de cactáceas, algunas endémicas como *Mammillaria mathildae*. Sin embargo algunos agentes de disturbio, como el saqueo de especies y el cambio en uso de suelo entre otros, han contribuido a la disminución de individuos que afectan en general a la mayoría de las poblaciones de cactáceas. La fertilidad del suelo donde crecen y la ecología microbiana de la rizósfera es importante para su desarrollo y para la adquisición de nutrientes. Por ello en este presente trabajo se determinó la fertilidad del suelo y se cuantificaron las poblaciones microbianas fijadoras de nitrógeno (N), solubilizadoras de fósforo (P), productoras de ácido indolacético (AIA) y de sideróforos de la rizósfera de *Ferocactus latispinus*, *Mammillaria mathildae*, *Coryphantha radians* y *Mammillaria magnimamma*, especies de cactáceas localizadas en el municipio del Márqués Qro. Los suelos encontrados en el sitio de estudio resultaron ácidos franco-arenosos con un bajo contenido de N. Las poblaciones microbianas rizosféricas más abundantes fueron las fijadoras de N, las productoras de Ácido Indol-Acético y de sideróforos las cuales se encontraron en el orden de  $10^4$  a  $10^6$  células por gramo de suelo, mientras que las poblaciones menos abundantes fueron las solubilizadoras de P, las cuales se encontraron en el orden  $10^2$ - $10^4$ , existiendo además diferencias de acuerdo con la especie de cactácea asociada. Se obtuvieron además aislados bacterianos de estas poblaciones los cuales fueron caracterizados por sus actividades bioquímicas relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal. La inoculación de estos aislados en semillas de *Mammillaria magnimamma*, *Astrophytum ornatum* y *Stenocereus queretaroensis* muestran el potencial que poseen estas cepas para mejorar la germinación y sobrevivencia de estas especies.

## I. INTRODUCCIÓN

México es uno de los países con mayor riqueza y diversidad de especies vegetales, así como el más importante centro de origen de cactáceas con un alto nivel de endemismo. La mayor cantidad de especies existentes en México se encuentran en las zonas áridas y semiáridas del país que van desde el norte hasta el centro, incluyendo al estado de Querétaro.

La mayor parte del territorio queretano se caracteriza por climas secos o semisecos y está cubierto por una vegetación predominantemente xerófila; aunque su nivel de endemismo es muy vasto, muchas de estas especies son amenazadas por diversos factores de disturbio y, por consecuencia, la reproducción en su ambiente natural es mínimo, algunos de estos agentes de disturbio son: el saqueo desmedido para su venta, el consumo por la crianza de animales de pastoreo, y el cambio uso de suelo para habitación.

La fertilidad de los suelos donde crecen las cactáceas se caracteriza por contener bajas concentraciones de nitrógeno (N), fósforo (P) y micronutrientes que son indispensables para su desarrollo. Sin embargo, se conoce que en la rizósfera de las plantas existen poblaciones microbianas que participan en la mejora de la adquisición de nutrientes mediante actividades bioquímicas como la fijación de nitrógeno (N) y la solubilización de fósforo (P), algunas otras poblaciones tienen la propiedad de producir hormonas de crecimiento vegetal como el ácido indolacético (AIA) y moléculas como los sideróforos que fungen como captadores de micronutrientes.

En el presente trabajo se estudió la microbiología de la rizósfera de cactáceas que crecen en la Cañada el Marqués Querétaro. Particularmente se evaluó la cuantificación de poblaciones microbianas relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal, así como la obtención y caracterización bioquímica de microorganismos con potencial para mejorar el estatus nutricional de las plantas.

Estos microorganismos fueron ensayados por su efecto en la germinación de semillas y sobrevivencia de cactáceas como *Stenocereus queretaroensis*, *Echinocactus platyacanthus*, *Mammillaria magnimamma* y *Ferocactus latispinus*.

## II. ANTECEDENTES

### II.1 Vegetación en el Estado de Querétaro.

México es el más importante centro de concentración de cactáceas, con un alto índice de endemismo a nivel genérico (73 %) y específico (78 %). La mayor parte de las especies habitan en las regiones áridas y semi-áridas del país, particularmente en el sureste del desierto chihuahuense y la zona árida Queretano-Hidalguense. (Hernández y Godínez, 1994).

El Estado de Querétaro está localizado en la parte central de México, con una superficie de aproximadamente 12, 000 km<sup>2</sup> y presenta los diez tipos de vegetación: bosque de coníferas, bosque espinoso, bosque mesófilo de montaña, bosque de encino, bosque tropical caducifolio, bosque tropical subcaducifolio, matorral xerófilo, pastizal, vegetación acuática y subacuática, y vegetación de pino-encino (Arreguin y col., 1996). Casi la mitad del territorio queretano está caracterizado por climas secos o semisecos, y está cubierto por una vegetación predominantemente xerófila (Martínez y García, 2001).

La vegetación es el reflejo del conjunto de factores ambientales que interactúan entre sí. El clima del municipio de Querétaro no posee una marcada estacionalidad, presenta una elevada diversidad de patrones de las actividades vegetativas y reproductivas, esta variedad de patrones fenológicos junto con la diversidad de formas de crecimiento y las respuestas frente a las perturbaciones o las relaciones con los organismos que rodean a las plantas originan la diversidad existente en las comunidades vegetales del municipio de Querétaro y las zonas conurbadas (Matteucci y Colma, 1982).

Cabrera y Gómez en 2005, generaron un listado florístico preliminar para el estado de Querétaro, registrando 120 familias, 918 géneros y 2334 especies.

## II.2. Las cactáceas del Estado de Querétaro.

En Querétaro la diversidad de especies de la familia botánica de las cactáceas está cuantificada entre 93 y 112 especies, la mayoría de ellas distribuidas en la región conocida como la zona árida queretano hidalguense o semidesierto queretano hidalguense, una de las áreas con mayor número de endemismos de la familia *Cactaceae* en el país. Los géneros más importantes de acuerdo al número de especies reportado en un análisis florístico realizado en el estado de Querétaro incluyen a *Mammillaria* con 15 especies, *Opuntia* con 10 y *Ferocactus* con 4. La localidad de La Cañada el Marqués, pese a su cercanía con la ciudad de Querétaro, es un área con bosque tropical caducifolio y matorral xerófilo medianamente conservados, cuenta con 9 géneros de cactáceas y 18 especies, el endemismo está representado en un 19% y se registran cuatro especies en tres categorías diferentes de conservación.

*Mammillaria mathildae* es una de las especies que se encuentran en esta zona y es microendémica al estado de Querétaro, actualmente solo se conocen dos poblaciones, una de ellas crece en La Cañada, municipio El Marqués, cuyas poblaciones son pequeñas y se están reduciendo considerablemente debido a diferentes factores de disturbio. (Chávez y col., 2006).

## II.3. Agentes de disturbio.

Las cactáceas son uno de los grupos más amenazados del reino vegetal. Las poblaciones naturales de la mayoría de las especies se han visto afectadas por las presiones del desarrollo humano, principalmente por el cambio de suelo para uso agrícola y/o pecuario, aunado al saqueo de plantas de su habitat, para venta como plantas de ornato en mercados nacionales e internacionales. Si calculamos la tasa de endemismo de géneros de cactáceas tomando en cuenta como marco de referencia el territorio mexicano, mas el área correspondiente a las zonas áridas de México en los Estados Unidos y si consideramos que se han diversificado

básicamente en México el resultado es que 72.95 % de los géneros de cactáceas que se distribuyen en este país son esencialmente endémicos (Hernández y Godínez, 1994).

La zona árida queretano hidalguense ha sido catalogada como una de las aéreas con mayor número de cactáceas amenazadas, de las cuales se distribuyen en el área denominada cuadrante Tolimán, cuya área es de aproximadamente de 2500 km<sup>2</sup>. Según estudios realizados, en este territorio se distribuyen 13 especies de cactáceas enlistadas en la NOM-059-SEMARNAT-2001. En virtud de estos resultados, se tiene que 36.84 % de las 57 especies registradas en esta zona, pueden considerarse con problemas de sobrevivencia a corto o mediano plazo.

Entre los casos más críticos de afectación a las especies y sus poblaciones, se ha registrado el saqueo, que es efectuado por extranjeros y por pobladores de las localidades con mayor riqueza de especies endémicas, como Bellavista del Río y sus alrededores. Otro caso relevante de daño directo a las cactáceas lo manifiestan las poblaciones de *Echinocactus platyacanthus* (biznaga de acitrón) y *Astrophytum ornatum*, de cuyas 41 poblaciones registradas y documentadas, se observó que 85 % presenta daños causados por la destrucción de los ejemplares para servir de alimento para el ganado. En este caso se comprobó que algunos pastores destruyen una parte del tejido externo de las biznagas para eliminar las espinas y así facilitar el inicio del consumo; sin embargo, no en todos los casos se presenta el mismo procedimiento, ya que de acuerdo con los testimonios de algunos habitantes locales, estos animales han aprendido a eliminar las espinas por sí solos y así comienzan con la destrucción de los ejemplares. Otro factor de amenaza registrado es la destrucción del hábitat causado por la extracción de leña. En este caso 23 de 75 localidades registradas (30%), presentan daños serios sobre las plantas que sirven de nodrizas para las cactáceas y son fundamentales para el establecimiento de nuevos individuos.

Finalmente, en un menor número de localidades (9), pero con consecuencias más severas, se registró el cambio del uso del suelo para la agricultura, por la construcción de nuevas viviendas y apertura de bancos de materiales y caminos. Ante dicha circunstancia y considerando que en general la familia *Cactaceae* enfrenta una considerable amenaza en sobrevivencia en toda su área de distribución en México es evidente que se requiere la aplicación de medidas de control y vigilancia más estrictas por parte de las autoridades competentes, además de un programa de manejo integral que incluya el control de especies invasoras como las que conforman la ganadería extensiva, ya que se está afectando la diversidad biológica de una de las zonas más ricas a nivel mundial de especies de la familia *Cactaceae*, el semidesierto queretano (Chávez y col., 2007).

#### II.4. Recuperación de cactáceas.

Las zonas áridas de México se encuentran afectadas por una acelerada destrucción del hábitat, escasa aplicación de programas de manejo y un reducido número de instituciones dedicadas a la investigación, la conservación y la reproducción de especies *ex situ*. Por lo tanto, resulta evidente la necesidad de contar con estrategias de conservación basadas en el análisis de la condición real de las especies en su hábitat y en la exploración de su potencial para la reproducción *ex situ* con fines de reintroducción o de comercialización.

Las cactáceas que se pueden considerar para su propagación por su estatus de conservación son *Echinocactus platyacanthus* (protección especial), *mammillaria magnimamma*, *Stenocactus dichroacanthus*, *Stenocereus queretaroensis*, *Coryphantha radians* (rara) y *Mammillaria mathildae* (peligro de extinción), y que son especies cuyas poblaciones son pequeñas y con alta vulnerabilidad a desaparecer.

Una vez determinadas las especies que enfrentan los mayores problemas de sobrevivencia en la sierra de Querétaro y sus alrededores, el trabajo se centra en la

colecta y el acopio de los propágulos que sirven para su introducción al cultivo. Algunos de programas propuestos incluyen la recolección de semilla y germinación en condiciones de invernadero, donde la adecuada fertilización y la aplicación de hormonas es una alternativa para mejorar su crecimiento y así poder comercializar con estas especies e introducirlas a su hábitat natural

Ramírez y col., (2007) diseñaron dos estrategias de trabajo para la obtención de propágulos de cactáceas, éstas incluyen:

- Colecta de semilla de origen silvestre
- Colecta de semilla proveniente de las plantas cultivadas en las colecciones ya establecidas de viveros o centros de propagación establecidos

Varios autores han empleado técnicas de cultivo de tejidos como una alternativa para preservar las cactáceas amenazadas. Hasta ahora, el cultivo *in vitro* de cactus del género *Mammillaria* se ha llevado a 33 especies, y aun existen géneros que necesitan ser reproducidos *in vitro*. En esta técnica se emplean diferentes combinaciones y concentraciones de reguladores de crecimiento (PGR), para en el cultivo *in vitro* de *Mammillaria Woodsii*, por ejemplo, se han regenerado brotes a partir de explantes utilizando el medio MS (Murashige y Skoog, 1962) con 11.4  $\mu\text{M}$  de IAA y el 9.3  $\mu\text{M}$  de cinetina (Kolar y col., 1976).

La conservación *in vivo* de cactáceas requiere de un espacio adecuado y mano de obra extensiva. Sin embargo, las técnicas *in vitro* ofrecen la oportunidad de mantenimiento de materias primas vegetales bajo condiciones controladas y asépticas, evitar los problemas de enfermedades, plagas, y el medio ambiente, cambios que podrían afectar a las colecciones de plantas. En 1990, Clayton y col. considera que es importante desarrollar protocolos para cada especie en particular de planta.

## II.5. Microbiología de la rizósfera.

Se conoce que la vida microbiana es esencial en cualquier suelo, ya que participa de manera activa en los ciclos biogeoquímicos (Bhatnagar y Bhatnagar, 2005), existen puntos críticos tales como la rizósfera, donde la microflora tiene un acceso continuo a sustratos orgánicos derivados de la raíces. Por lo que la abundancia de las poblaciones microbianas es mayor en esta zona, donde por consiguiente hay un aumento en la actividad y flujo de nutrientes (Nannipieri y col., 2007).

La interacción planta - microorganismo en la rizósfera puede ser benéfica, neutral, variable o perjudicial para el crecimiento de la planta. Las rizobacterias que ejercen un efecto benéfico para el desarrollo de la planta son conocidas como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR). El término de rizobacteria es usado por bacterias que colonizan fuertemente la rizósfera. Aunque los mecanismos mediante los cuales las PGPR promueven el crecimiento de las plantas no son aún plenamente entendidos, muchos tratamientos diferentes de esas bacterias son responsables por las actividades de promoción de crecimiento, incluidas la habilidad para producir o cambiar la concentración de hormonas como el ácido indolacético (AIA), ácido giberélico, citoquininas, y etileno en plantas; algunas otras poseen actividades como fijar nitrógeno; suprimir el crecimiento de microorganismos nocivos mediante la producción de sideróforos, quitinasas, antibióticos, cianuros, o mejorar la adquisición de nutrientes mediante la fijación de nitrógeno o la solubilización de fósforo.

### III. HIPÓTESIS

En la rizósfera de las cactáceas *Ferocactus latispinus*, *Mammillaria mathildae*, *Coryphantha radians* y *Mammillaria magnimamma*, que crecen en La Cañada, El Marqués Querétaro, existen poblaciones microbianas con efecto promotor del crecimiento vegetal, las cuales pueden ser empleadas en la germinación de semillas y sobrevivencia de algunas especies de cactáceas.

## IV. OBJETIVOS

### IV.1. General

Cuantificar las poblaciones microbianas relacionadas con la actividad promotora del crecimiento de plantas de la rizósfera de *Ferocactus latispinus*, *Mammillaria mathildae*, *Coryphantha radians* y *Mammillaria magnimamma*, cactáceas que crecen en la localidad de La Cañada El Marqués, Qro., y aislar bacterias de estas poblaciones que puedan ser empleados como biofertilizantes.

### IV.2. Específicos

- Cuantificar las poblaciones de bacterias, hongos y actinomicetos del suelo rizosférico y no rizosférico de las cactáceas de estudio, así como las poblaciones fijadoras de N, solubilizadoras de P, productoras de ácido indolacético (AIA) y sideróforos.
- Aislar y caracterizar bacterias con actividad promotora del crecimiento vegetal, en función de sus características bioquímicas como la fijación biológica de N, la solubilización de P, la actividad ACC deaminasa, la producción de AIA y sideróforos.
- Determinar el efecto de la inoculación de los aislados bacterianos con actividad promotora del crecimiento vegetal, sobre la germinación de semillas de *Astrophytum ornatum*, *Ferocactus latispinus*, *Stenocereus queretaroensis* y *Mammillaria magnimamma*.

## V. METODOLOGÍA

### V.1 Muestreo de suelos

El muestreo de los suelos fue llevado a cabo en la localidad de “La Cañada”, perteneciente al municipio El Marqués, Querétaro. *Ferocactus latispinus*, *Mammillaria mathildae*, *Coryphantha radians* y *Mammillaria magnimamma* (Figura 1) fueron las especies de cactáceas de las cuales se obtuvo suelo de la rizósfera para los análisis microbiológicos, también fueron obtenidas ocho muestras alejadas de la rizósfera para ser empleadas como control y para determinar la fertilidad de los suelos donde crecen dichas especies.



Figura 1. Cactáceas presentes en “La cañada”, el Marques Qro., empleadas en este estudio, de izquierda a derecha *Mammillaria mathildae*, *Coryphantha radians*, *Mammillaria magnimamma* y *Ferocactus latispinus*.

El muestreo se llevó a cabo como lo establece la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, la cual indica que una vez obtenidas las muestras, deben ser etiquetadas con los datos de referencia de lugar y fecha (Figura 2).

### V.2 Análisis de la fertilidad de suelos.

Las muestras de suelo colectadas fueron secadas al aire, posteriormente se procedió a la molienda de los terrones grandes. El suelo finalmente fue tamizado empleando una malla metálica de 2 mm. Para su almacenamiento se emplearon bolsas de polipapel o frascos identificados, cerrados y guardados en lugar fresco o



Cuadro. 1 Técnicas empleadas para el análisis de la fertilidad de suelo

Análisis	Técnica
pH	Método AS-02, potenciómetro.
Humedad	Método AS-05, gravimetría.
Materia orgánica	Método AS-07, Walkley y Black.
Conductividad eléctrica	Por medición electrolítica y una celda de conductividad como sensor.
Textura del suelo	Método AS-09, procedimiento de Bouyoucos.
Capacidad de intercambio catiónico (CIC) y bases intercambiables ( $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$ )	Método AS-12 con acetato de amonio por medio de titulación.
Determinación de nitrógeno inorgánico	Método AS-08. Micro Kjendahl.
Determinación de fósforo aprovechable	Método AS-10 procedimiento de Olsen.

Las semillas se tomaron directamente de los frutos maduros cuando aún estaban sobre la planta madre; éstos se almacenaron en bolsas de papel y se conservaron dentro del mismo fruto hasta su llegada al laboratorio de trabajo (Figura 4).



Figura 3. *Stenocereus queretaroensis* creciendo en el barrio de “San Lucas” en Tóliman, Querétaro.



Figura 4. Fruto de *Stenocereus queretaroensis*

#### V.3.1 Limpieza y secado.

Para obtener la semilla, los frutos frescos se despulparon y las semillas se separaron, dejándolas secar a temperatura ambiente, ya secas se almacenaron en bolsas de papel, para evitar el exceso de humedad y con ello el crecimiento de hongos. Para los frutos secos, solo fueron separadas las semillas empleando bisturí y pinzas de disección. Las bolsas de semillas fueron etiquetadas con la fecha, especie y lugar de la colecta (Carrillo y col., 2000; Chávez y col., 2006).

#### V.4 Análisis microbiológicos.

Para los análisis microbiológico se cuantificaron las bacterias, hongos y actinomicetos cultivables. Para ello diluciones decimales de los suelos fueron sembrados en placas conteniendo agar nutritivo para bacterias, rosa de bengala para hongos y agar almidón-caseína-nitrato para actinomicetos. Las placas fueron incubadas a 30°C durante tres días para bacterias, cinco días para hongos y 10 días para actinomicetos, al término del tiempo fueron contadas las colonias y expresadas como unidades formadoras de colonias por gramo de suelo para las bacterias y actinomicetos, mientras que para hongo fueron expresados como unidades formadoras de propágulos (Mora, 2010).

#### V.4.1 Poblaciones microbianas promotoras del crecimiento vegetal.

Para cuantificar las poblaciones relacionadas a actividades promotoras del crecimiento vegetal se usó el método del número más probable (NMP) reportado por Page y col. en 1982. Para ello se emplearon diluciones decimales de suelo, las cuales fueron sembradas por quintuplicado en tubos que contenían el medio de cultivo correspondiente a la actividad promotora (Puente y Bashan, 2004).

##### V.4.1.1 Poblaciones fijadoras de nitrógeno.

Para la determinación de las poblaciones fijadoras de nitrógeno se empleó el medio NFB líquido sin nitrógeno que contiene azul de bromotimol como indicador de pH, después de 14 días de incubación a 30°C sin agitación se registraron como positivos aquellos tubos donde existió crecimiento superficial o cambio de pH (Meunchang y col., 2006).

##### V.4.1.2 Poblaciones solubilizadoras de fosfatos (P).

Para llevar a cabo la determinación de las poblaciones solubilizadoras de fosfatos, se empleó el medio de cultivo BKSB que contiene  $\text{Ca}_3\text{PO}_4$  como fuente insoluble de fósforo P, y después de 7 días de inoculación, aquellos tubos que mostraron crecimiento y/o cambio de color en el medio a amarillo se registraron como positivos (Mikanová y Novákova, 2002; Ponmurungan y Gopi, 2006).

##### V.4.1.3 Poblaciones productoras de ácido indolacético (AIA) y sideróforos

Para determinar las poblaciones productoras de AIA y sideróforos, se empleó el medio SFS-glucosa suplementado con triptófano ( $1 \text{ g L}^{-1}$ ). Los tubos inoculados fueron incubados a 30°C en agitación, después de 7 días de crecimiento, se realizó la detección de índoles relacionados a AIA utilizando el reactivo de Salkowski,

mientras que para determinar la producción de sideróforos se empleó el reactivo CAS Chromo azurol (Bric y col., 1991; Altomare y col., 1999).

#### V.5. Obtención de aislados.

Para la obtención de aislados microbianos se emplearon diluciones decimales del suelo de la rizósfera, llevado a pasteurización a 80°C por 20 minutos; seguido de ello, la solución del suelo se enfrió y se sembraron alícuotas de 200 µL en placas de agar nutritivo, incubando a 28°C por 72 h. La purificación de los aislados se llevó a cabo por estría en placa.

#### V.6 Detección de actividades promotoras de crecimiento.

Cada uno de los aislados fue evaluado para determinar actividades relacionadas a la promoción del crecimiento vegetal, los aislados fueron ensayados en medios específicos. Para la producción de Ácido Indol-Acético, se inocularon por triplicado los aislados en caldo nutritivo suplementado con 1 g L<sup>-1</sup> de triptófano según el método propuesto por Glickmann y Dessaux en 1995. Después de 48 h de crecimiento, se centrifugaron las células y se detectó la presencia de AIA en el sobrenadante utilizando el reactivo de Salkoswki, el complejo colorido formado se leyó en un espectrofotómetro a 530 nm. Para la cuantificación se empleó una curva estándar de 5 a 200 µg mL<sup>-1</sup> de AIA.

Para determinar la capacidad de solubilizar fosfatos, el análisis cuantitativo se llevó a cabo realizando un ensayo en medio líquido que contenía fosfato de calcio insoluble y determinando al final la cantidad de P soluble (Mikanová y Novákova, 2002). Para ello se crecieron las cepas en caldo nutritivo y a las 16 hrs, se tomaron 250 µl del cultivo que fueron inoculados por triplicado en 25 mL de medio líquido conteniendo fosfato de calcio insoluble, el medio inoculado fue puesto en agitación constante a 30°C por 5 días. Al término de este tiempo se cuantificó el fósforo soluble en el sobrenadante empleando una solución reductora de ácido ascórbico, el

complejo colorido fue leído en un espectrofotómetro a 882 nm. Para la cuantificación se empleó una curva estándar de 0.13 a 0.67 mg L<sup>-1</sup> de P-PO<sub>4</sub> (Norma Oficial Mexicana NOM-021 SEMARNAT-2000).

Para determinar la actividad de la enzima ACC deaminasa de manera cualitativa, se sembraron los aislados, en placas con medio mínimo DF con 1-aminociclopropano 1-carboxilato (ACC) como única fuente de nitrógeno a una concentración de 3 mM. Las placas fueron incubadas durante cinco días a 30°C, una vez transcurrido el tiempo se tomaron como positivas para ACC deaminasa aquellas cepas en las que se observó crecimiento, ya que la enzima ACC deaminasa actúa directamente sobre el 1-aminociclopropano 1-carboxilato (ACC) que es el precursor inmediato del etileno. Los altos niveles de etileno están relacionados con diversos tipos de estrés restringiendo el crecimiento de la planta (Penrose y Glick, 2002).

El ensayo para determinar la producción de sideróforos y la fijación biológica de nitrógeno (FBN) se llevó a cabo de manera cualitativa, empleando los mismos medios, condiciones y métodos de detección utilizados para la cuantificación de las poblaciones microbianas correspondientes.

#### V.7 Ensayos de promoción del crecimiento vegetal.

Aquellos aislados que presentaron diversas actividades bioquímicas relacionadas con la promoción del crecimiento en los ensayos realizados, fueron seleccionados para probar su efecto en la germinación de semillas de *Stenocereus queretaroensis*, *Echinocactus platyacanthus*, *Ferocactus latispinus*, *Astrophytum ornatum* y *Mammillaria magnimama*. Para ello los aislados fueron crecidos en 500 mL de caldo nutritivo durante 16 h, al término de ello, se centrifugó el cultivo, y las pastillas resultantes fueron lavadas con una solución salina (0.85%), resuspendiendo al final la pastilla en el mínimo de volumen de solución salina. El conteo de células se realizó en una cámara de Neubauer utilizando una dilución 1:20. La inoculación de la semilla se llevó a cabo utilizando una solución bacteriana a una densidad de 10<sup>7</sup>

células mL<sup>-1</sup>, empleando el método de Rajkumar y col. en 2005. Las semillas inoculadas fueron sembradas en charolas conteniendo peat moss y puestas en obscuridad. El efecto final fue evaluando el porcentaje de germinación y sobrevivencia de las cactáceas al término de un mes (Huse, 2003).

#### V.8 Tratamiento de semillas de cactáceas.

Previo a la inoculación, las semillas fueron desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio comercial a 25%, y lavadas hasta eliminar el cloro residual. Las semillas de *Echinocactus platyacanthus* fueron previamente escarificadas con ácido sulfúrico concentrado por cinco minutos y después lavadas tres veces con agua destilada estéril para eliminar los residuos de ácido (Carrillo y col., 2000; Chávez y col., 2006).

## VI. RESULTADOS

### VI.I Análisis de fertilidad de suelos.

El análisis físico-químico que se presenta en el cuadro 2 nos indica que los suelos rocosos donde crecen las cactáceas en estudio, son de textura franco arenoso, los cuales además poseen una conductividad hidráulica media que permite la retención de humedad. De acuerdo al pH son considerados como fuertemente a moderadamente ácidos con niveles despreciables de salinidad. Por su origen volcánico poseen bajo contenido de materia orgánica donde la mayor parte del carbono estaría constituido por cenizas. La capacidad de intercambio catiónico (CIC) es variable, ya que se encontraron lugares con mediana y alta capacidad.

En cuanto al nitrógeno total, se encontró que los suelos poseen un bajo contenido, correlacionado también con el muy bajo contenido de nitrógeno inorgánico. En cuanto al contenido de fósforo disponible se encontraron sitios donde se registraron valores bajos de 6.2, hasta valores altos de 51.4 mg/kg de suelo. Esto indica una heterogeneidad en cuanto a la disponibilidad de ese nutriente, el cual fue correlacionado de manera positiva con el pH del suelo.

Las bases intercambiables en los suelos como sodio (Na) magnesio (Mg), y calcio (Ca) se encontraron en valores normales en la mayoría de los sitios de muestreo. El potasio (K) fue la única base intercambiable que se encontró en altas concentraciones, característico de suelos volcánicos jóvenes.

Como resumen podemos decir que los suelos de estudio en “La Cañada” El Marqués Querétaro, se consideran en general suelos franco-arenosos ácidos, los cuales poseen bajo contenido de nitrógeno orgánico, con un contenido variable en los demás parámetros físicoquímicos.

Cuadro 2. Características físicas y químicas de los suelos del sitio de estudio, en “La Cañada” El Marqués, Qro

Parámetro	Valor encontrado	Unidades	Interpretación
pH (En relación 1:2)	3.9 - 6.5	unidades	Fuertemente a moderadamente ácidos
Conductividad eléctrica (CE)	0.04- 0.043	dS m <sup>-1</sup>	Efectos despreciables de salinidad
Textura	% arena = 71.3 % arcilla = 15.4 % limo = 13.2	%	Franco arenosa (Ca)
Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC)	12.5 - 28.5	Cmol Kg <sup>-1</sup>	Baja, Media y Alta
Materia Orgánica	0.84 – 7.5	%	Muy bajo a medio
Nitrógeno total	0.01 – 0.025	%	Bajo
Nitrógeno inorgánico	0.004 – 0.017	mg Kg <sup>-1</sup>	Muy bajo
Fósforo aprovechable (P)	4.5 – 51.4	mg Kg <sup>-1</sup>	Bajo, medio y alto
Calcio (Ca)	3.8 – 11.5	mg Kg <sup>-1</sup>	Bajo, medio y alto
Magnesio (Mg)	1.7 a 4.9	cMolKg <sup>-1</sup>	Media a alto
Sodio (Na)	0.46 – 1.15	cMolKg <sup>-1</sup>	Bajo, medio y alto
Potasio (K)	0.9 – 2.8	cMolKg <sup>-1</sup>	Alto

## VI.II Poblaciones microbianas del suelo.

Fueron empleados suelos rizósfericos de las cactáceas: *M. mathildae* (suelo 1), *C. radians* (suelo 2), *M. magnimmama* (suelo 3) y *F. latispinus* (suelo 4) (Figura 1), también se empleo un suelo control sin vegetación (suelo G), para determinar las poblaciones de bacterias, hongos y actinomicetos.

Cuadro 3. Poblaciones microbianas en los suelos de estudio.

<b>Microorganismos/Suelo</b>	<b>Suelo 1</b>	<b>Suelo 2</b>	<b>Suelo 3</b>	<b>Suelo 4</b>	<b>Suelo G</b>
Bacterias	6.32	6.28	6.46	6.38	6.48
Hongos	4.78	4.78	5.19	4.87	4.95
Actinomicetos	5.30	5.05	5.55	4.95	5.69

Los valores son expresados como el Log ufc/ g de suelo

El Cuadro 3 muestra que las poblaciones de bacterias fueron constantes en todos los suelos, mientras que para hongos el suelo No. 3 presenta una mayor población de hongos que los suelos restantes, a diferencia de las poblaciones de actinomicetos la cuales se mantuvieron del orden de 5, solo para el suelo 4 fue detectada una menor población. Comparando los resultados con un suelo agrícola arcilloso del rancho “El colmenar” se pueden comentar que las poblaciones de bacterias se mantuvieron en un mismo orden, mientras que las poblaciones de actinomicetos fueron menores en un orden, contrario a lo que ocurrió con los hongos los cuales se vieron aumentados en un orden.

Después de ello se procedió a evaluar las poblaciones que interviene en la disponibilidad de nitrógeno (N), fósforo (P) y las poblaciones relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal. Para ello se cuantificaron las poblaciones fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fosfatos, productoras de ácido indolacético y sideróforos. En la figura 5 podemos observar que la mayoría de las poblaciones en general poseen una abundancia similar, tanto en la zona de la

rizósfera como en el suelo alejado. Solo para las poblaciones productoras de AIA y sideróforos fué menor en el suelo, probablemente debido a que el medio emplea ácidos orgánicos como fuente de carbono, los cuales son generalmente suministrados por las plantas al suelo.

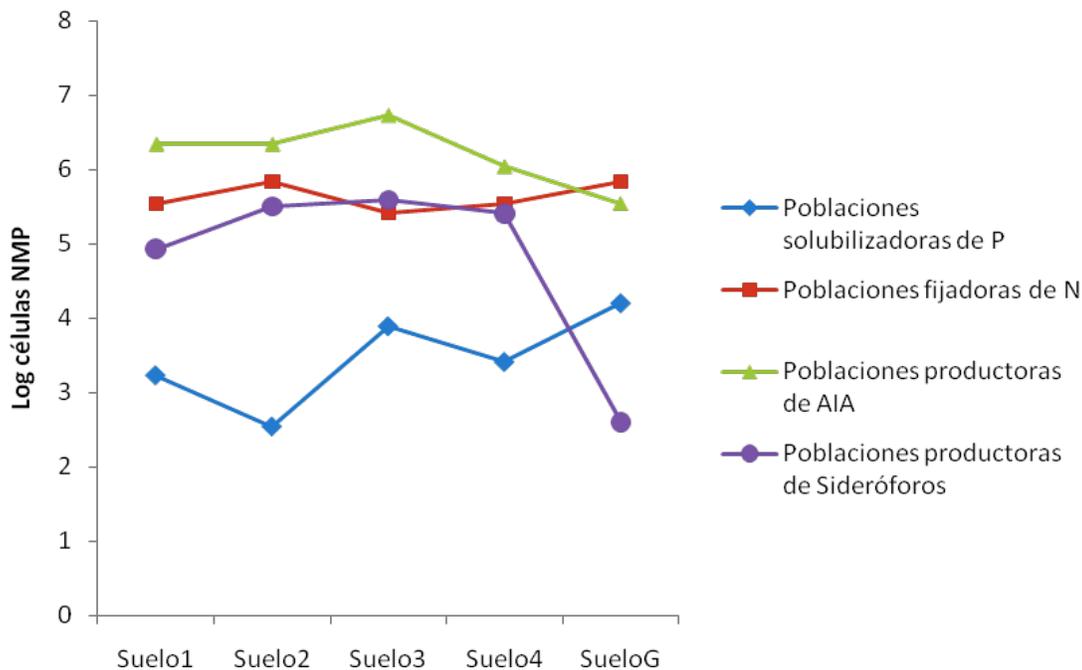


Figura 5. Poblaciones microbianas del ciclo de N, P y relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal.

### VI.III Obtención de aislados bacterianos con actividad promotora del crecimiento vegetal.

De los cultivos microbianos donde se cuantificaron las poblaciones microbianas, se obtuvieron alícuotas para ser pasteurizadas y sembradas en placas con medio agar nutritivo, las cuales fueron incubadas por 3 días a 37°C, al término fueron registradas las morfologías resultantes, obteniendo 23 aislados de los diferentes suelos. Los aislados fueron nombrados arbitrariamente como P#, así se registraron para el **Suelo 1**, los aislados P12, P13, P14, P15 Y P16, para el **suelo 2**, los

aislados P17, P18, P19, P20, P21, P22 Y P24, y finalmente para el **suelo 3**, los aislados P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8, P9, P10 y P11.

Se llevo a cabo un primer escrutinio con los aislados obtenidos, para ello se determinó la capacidad para solubilizar fosfatos de calcio en placas, dicha capacidad permite generar ácidos que hacen más biodisponible el fósforo para las plantas. Después fueron ensayados por su actividad ACC deaminasa, dicha propiedad de los aislados permite reducir la producción del etileno en las plantas generado por estrés biótico y abiótico. Al mismo tiempo los aislados fueron inoculados en semillas de *Echinocactus platyacanthus*, para verificar el posible efecto en la germinación, cabe destacar que la semilla no fue escarificada por lo que las primeras plántulas comenzaron a emerger después de los 20 días (Cuadro.4) Después de los ensayos realizados, los aislados bacterianos que presentaron las mejores capacidades fueron: P2, P3, P4, P12, P13, P14, P17, P19, P20, P22 y P22.

Cuadro 4. Ensayo de germinación de semillas de *Echinocactus platyacanthus* sin escarificación.

Cepa	Control	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P12	P13	P17	P19	P20	P22	P24
Plantas germinadas	0	1	0	0	1	1	2	0	1	0	0	2	2	0	2	1

En la tabla se muestran el número de semillas que lograron su germinación.

Para continuar con la caracterización individual, cada aislado fue ensayado para determinar la producción de ácido indolacético (AIA), empleando caldo nutritivo suplementado con triptófano, la detección de AIA fué hecha utilizando el reactivo de Salkowski, la producción de sideróforos fue llevada a cabo cultivando las cepas en el medio SFC con Trp, la detección de sideróforos se llevó a cabo utilizando el reactivo de cromo azurol. Para la solubilización de fosfatos se empleó el medio Pirovskaya el cual contiene fosfato de calcio como fuente de P, se cuantificó el P

soluble y cambios en el pH. Finalmente, la actividad ACC deaminasa se determinó utilizando el medio agar DF suplementado con amino ciclo propano carboxilato como única fuente de N, la utilización de este sustrato es considerado como positivo para esta actividad, los resultados se muestran en los cuadros 4 y 5.

Cuadro 5. Solubilización de fósforo (P) y producción de ácido indolacético.

<b>Cepa</b>	<b>mg/L de AIA</b>	<b>mg/L de fósforo</b>	<b>pH final</b>
P <sub>2</sub>	1.05 ± 0.12	48.37 ± 7.42	4.40
P <sub>3</sub>	2.28 ± 0.22	67.7 ± 26.24	4.30
P <sub>4</sub>	1.343 ± 0.28	37.48 ± 5.45	4.70
P <sub>12</sub>	1.36 ± 0.41	18.59 ± 0.79	5.10
P <sub>13</sub>	1.25 ± 0.45	104.8 ± 20	4.20
P <sub>14</sub>	0.644 ± 0.57	43.70 ± 1.82	4.70
P <sub>17</sub>	0.906 ± 0.18	34.7 ± 15.07	4.90
P <sub>19</sub>	1.05 ± 0.23	60.87 ± 9.72	4.30
P <sub>20</sub>	1.08 ± 0.18	34.27 ± 6.89	4.60
P <sub>22</sub>	0.8 ± 0.06	37.48 ± 1.89	4.60
P <sub>24</sub>	5.23 ± 0.48	52.1 ± 14.8	4.50

En el Cuadro 5 podemos observar que los aislados con mayor capacidad para solubilizar P fueron P3, P13 y P19, lo cual estuvo correlacionado con la acidificación del medio. Cabe mencionar que los valores de solubilización encontrados en reportes son semejantes a los reportados en algunos aislados obtenidos por Chen y col. (2006), por lo contrario la producción de ácido indolacético fue mínima, no se consideran buena productoras para esta hormona implicada en el desarrollo vegetativo. La actividad ACC deaminasa y producción de siferóforos se determinó de manera cualitativa. Todos los aislados resultaron positivos para la actividad ACC deaminasa, mostrando un potencial para ser empleados como inoculantes en la tolerancia a estrés, mientras que solo algunos

mostraron la capacidad para la síntesis de sideróforos. De acuerdo a los resultados obtenidos en esta etapa se llevó a cabo un segundo escrutinio seleccionando las cepas P3, P12, P13, P17, P19, P22 y P24, para ensayar su efecto sobre la germinación de semillas de 5 especies de cactáceas.

Cuadro 6. Actividad ACC deaminasa y producción de sideróforos.

<b>Cepa</b>	<b>ACC deaminasa</b>	<b>Prod. sideróforos</b>
P <sub>2</sub>	√	X
P <sub>3</sub>	√	X
P <sub>4</sub>	√	X
P <sub>12</sub>	√	X
P <sub>13</sub>	√	X
P <sub>14</sub>	√	X
P <sub>17</sub>	√	√
P <sub>19</sub>	√	√
P <sub>20</sub>	√	X
P <sub>22</sub>	√	√
P <sub>24</sub>	√	√

VI.IV Efecto de la inoculación sobre la germinación y sobrevivencia de plántulas de cactáceas.

Durante el presente año (2010) se realizaron diversas colectas de semillas de cactáceas en Tóliman y en “La cañada” El marqués Qro., de esta manera se pudo contar con semillas de las especies de *Mammillaria magnimamma*, *Stenocereus queretaroensis*, *Echinocactus platyacanthus*, *Ferocactus latispinus* y *Astrophytum ornatum*, para realizar ensayos de inoculación con las cepas de estudio y observar el efecto sobre la germinación presentados en el cuadro 6. Para ello los aislados fueron crecidos en caldo nutritivo durante 18 hrs., después las células fueron

recuperadas, lavadas y diluidas a título de  $1 \times 10^7$  células por mL. Con esta suspensión bacteriana fueron embebidas 200 semillas de cada especie de cactácea, las cuales habían sido previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 3% durante 5 min. Las semillas de *Echinocactus platyacanthus* adicionalmente fueron escarificadas con ácido sulfúrico puro durante 5 min. Las semillas inoculadas fueron sembradas en charolas con peat moss como sustrato y mantenidas en obscuridad y humedad hasta la germinación. El cuadro 6 muestra el efecto de la inoculación sobre la germinación y sobrevivencia a un mes después de haber realizado la inoculación.

Aunque en las semillas de *Echinocactus platyacanthus* se registró una germinación promedio del 50%, la presencia de hongos endófitos en las semillas provocó que en la cámara de germinación se infestaran las semillas evitando en algunos casos la germinación y/o desarrollo a pesar del tratamiento con hipoclorito de sodio y ácido sulfúrico, solamente en los ensayos donde se inocularon las cepas P12, P13, P19 y P22 existió un sobrevivencia del 10, 23, 5.5 y 4% respectivamente. Este ensayo deberá realizarse de nuevo controlando la humedad de la cámara y mediante la aplicación de un fungicida, previo a la inoculación. Es difícil establecer el efecto de la inoculación de las cepas sobre la germinación de *Echinocactus platyacanthus*, por los problemas de sanidad, sin embargo podemos observar un mejor porcentaje mayor para los ensayos donde se emplearon las cepas P12 y P13. Con respecto a *Mammillaria magnimamma* la inoculación con las cepas P12 y P24 mejoraron el porcentaje en la germinación 85 y 100 % respectivamente, pero solamente P12 mantuvo la sobrevivencia mayor al control (87 %). En semillas de *Astrophytum ornatum* se observó un mayor efecto sobre la germinación en todos los tratamientos pues fué mayor al control (21 %) aunque la sobrevivencia disminuyó para los tratamientos. Para *Ferocactus latispinus* la inoculación no tuvo un efecto positivo, solo en las cepas P3, P13, P17 y P22 mejoró la sobrevivencia, y finalmente para las semillas de *Stenocereus queretaroensis* P17 fué la que presentó el mayor efecto positivo sobre la germinación, el porcentaje de sobrevivencia se mantuvo en promedio de 80%. En general podemos concluir en

esta fase del trabajo que algunos aislados bacterianos mejoran la germinación y sobrevivencia de las semillas de las cactáceas ensayadas.

Cuadro 7. Efecto de la inoculación de las cepas de estudio sobre el porcentaje de germinación de semillas de cactáceas y su sobrevivencia.

<b>ESPECIES</b>				
<b>Cepa</b>	<b><i>Mammillaria magnimamma</i></b>	<b><i>Astrophytum ornatum</i></b>	<b><i>Ferocactus latispinus</i></b>	<b><i>Stenocereus queretaroensis</i></b>
<b>P3</b>	78:79	63:75	43:39	46:82
<b>P12</b>	85:87	31:64	42:0	69:88
<b>P13</b>	67:75	27:57	48:57	61:80
<b>P17</b>	79:77	69:97	56:22	80:75
<b>P19</b>	57:85	57:72	47:0	62:70
<b>P22</b>	60:87	84:51	58:56	63:87
<b>P24</b>	100:57	55:92	45:10	52:88
<b>Control</b>	77:79	21:92	50:0.5	55:90

En cada celda, el primer valor corresponde al % de germinación y el segundo al % de sobrevivencia al término de un mes.

## VI. DISCUSIÓN.

La composición química y la estructura física del suelo están determinadas por el tipo de material geológico del cual se origina, por la cubierta vegetal, por la cantidad de tiempo en que ha actuado la meteorización, la topografía y los cambios artificiales resultantes de las actividades humanas.

Los suelos de estudio obtenidos de “La Cañada”, El Marqués, Qro., donde crecen las cactáceas, son considerados por su origen como volcánicos. En general son suelos ácidos con una textura franco arenosa, con un bajo contenido de nitrógeno (N). Este macroelemento que es esencial para el desarrollo de las plantas, puede ser introducido al suelo por medio de las bacterias fijadoras del N (Mantilla y col., 2009). En el presente trabajo se cuantificaron estas poblaciones en la rizósfera de las cactáceas, encontrándolas en el orden de  $10^5$  -  $10^6$  células por gramo de suelo, valores semejantes a los encontrados en la rizósfera de cultivos de interés agrícola como arroz y avena (Soares y col., 2006; Naher y col., 2009), lo cual indica que aunque es baja la fertilidad del suelo de las cactáceas, las poblaciones fijadoras de nitrógeno pudieran estar participando activamente en la incorporación de este macronutriente al suelo, lo cual pudiera comprobado con una prueba de reducción de acetileno (Grageda y col., 2003).

Otras poblaciones de interés presentes en la rizósfera son los microorganismos solubilizadores de fosfatos, los cuales realizan dicha función mediante la producción de ácidos orgánicos. En las rizósfera de las cactáceas se encontró una abundancia de  $10^2$  a  $10^4$  células por gramo de suelo, la especie que presentó la menor abundancia fue *C. radians* ( $10^2$ ), mientras que la mayor abundancia fué registrada en *F. latispinus* ( $10^4$ ). Esto indica que el ambiente generado en la rizósfera es distinto para cada especie de planta, lo que tiene un impacto sobre las poblaciones microbianas, reflejado en la abundancia. Las poblaciones solubilizadoras de fosfatos son comunes de encontrar en todo tipo de suelos, ya que participan en la mineralización del fósforo inorgánico, contribuyendo al ciclo

biogeoquímico de este elemento. Un reporte realizado por Fernández y col. (2005), indican que la abundancia de estas poblaciones en suelos cultivados con soja alcanzaron valores de  $10^3$  ufc por gramo de suelo, indicando que los suelos donde se desarrollan las cactáceas también poseen abundancias similares para este tipo de poblaciones microbianas.

La actividad microbiana de los suelos áridos depende en gran medida de la temperatura, textura del suelo y de la disponibilidad de nutrientes, sin embargo en la rizósfera de las plantas que crecen en estos suelos, se generan las condiciones microambientales para el desarrollo de una alta actividad microbiana, Bhatnagar y Bhatnagar, (2005) reportan una mayor tasa de poblaciones microbianas R/S (rizósfera/suelo) para todos los grupos metabólicos bacterianos (heterótrofos, diazótrofos, nitrificantes, etc.) comparado con otros suelos. Algunas poblaciones microbianas que han sido identificadas en la rizósfera de algunas cactáceas como *Opuntia ficus indica*, *Stenocereus pruinosus*, *Stenocereus Stellatus*, *Ferocactus acanthodes*, *Opuntia cholla*, y *Pachycereus pringlei* incluyen a bacterias de los géneros *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Citrobacter* y *Bacillus*, de las cuales se han descrito actividades bioquímicas como la fijación biológica de nitrógeno (N), la solubilización de especies de fósforo o la producción de fitohormonas, cuya función es hacer más biodisponibles los nutrimentos del suelo para la planta y/o promover el crecimiento vegetal. Los microorganismos que tienen estos efectos sobre las plantas son definidos como promotores del crecimiento vegetal (Puente, 2004a; Puente y col., 2004b; Mascarua y col., 1988).

Esta actividad promotora del crecimiento en cactáceas ha sido ensayada en semillas y plántulas del cardón gigante (*Pachycereus pringlei*) por varios investigadores (Puente y Bashan, 1993; Carrillo y col., 2000; Bacilio y col., 2006) quienes realizando inoculaciones con cepas de *Azospirillum brasilense*, lograron un aumento en el porcentaje de germinación, un mejor desarrollo vegetativo y una mayor tasa de sobrevivencia.

Los aislados obtenidos en el presente trabajo fueron siendo seleccionados de acuerdo a las propiedades bioquímicas relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal, finalmente 7 aislados fueron ensayados para probar su efecto en la germinación y sobrevivencia de *Mammillaria magnimamma*, *Stenocereus queretaroensis*, *Echinocactus platyacanthus*, *Ferocactus latispinus* y *Astrophytum ornatum*, obteniendo resultados favorables.

Durante los programas de conservación de especies, se recurren a diversas técnicas de propagación como el cultivo de tejidos vegetales y propagación por semilla, en este último, aún existe un bajo porcentaje de germinación (20 %) y sobrevivencia (70 %) para algunas especies, otro aspecto en el desarrollo vegetativo de las cactáceas es su lento crecimiento, y desde la germinación pueden transcurrir hasta 24 meses o más en condiciones de invernadero para que la planta esté disponible para su conservación (Sánchez y col., 2007). Diversos factores pueden limitar el desarrollo y la sobrevivencia que van desde la viabilidad de la semilla, la humedad, la temperatura, el pH del suelo y la disponibilidad de nutrientes, en este último las poblaciones microbianas del suelo juegan un papel determinante, ya que los microorganismos asociados a la rizósfera promueven una mayor adquisición de agua y nutrientes para la planta (Llovera y col., 1994; Puente y col., 2004; Bhatnagar y Bhatnagar, 2005).

El empleo de inoculantes microbianos constituye una alternativa para programas de propagación de especies de cactáceas por semilla, ya que pueden mejorar su crecimiento a través de una mayor adquisición de nutrientes y/o tolerancia a condiciones adversas como la sequía. Aún falta caracterizar genéticamente los aislados bacterianos obtenidos en el presente estudio, como también explorar el potencial que poseen para ser aplicados en plantas diferentes a las cactáceas.

## VIII. CONCLUSIONES

- Los suelos donde crecen las cactáceas de estudio, poseen bajo contenido de nitrógeno, lo cual pudiera estar correlacionado con la abundancia relativa de las poblaciones microbianas fijadoras de nitrógeno.
- Las poblaciones de hongos en general son mayor en un orden con respecto a los encontrados en suelos agrícolas.
- Existen diferencias de las poblaciones microbianas relacionadas al efecto promotor del crecimiento asociadas la rizósfera de cada especie de cactácea.
- En las cepas aisladas de estudio existen algunas con potencial que pueden ser empleados en programas de conservación de especies de cactáceas.
- Cada población microbiana establece una asociación diferente con cada especie de cactácea promoviendo o inhibiendo la germinación y/o sobrevivencia de las especies.

## IX. BIBLIOGRAFIA

**Altomare**, C., Norvell, W., Bjorkman, T., Harman, G. **1999**. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai strain 1295-22. Applied Environmental Microbiology. 65: 2926-2933.

**Arreguin**, M., Fernández, R., Rodríguez, C., Rodríguez, A. **1996**. Pteridófitas en el Estado de Querétaro, México y su Ubicación. Polibotanica. 3: 89-92.

**Bacilio**, M., Hernández, P., Bashan, Y. **2006**. Restoration of giant cardon cacti in barren desert soil amended with common compost and inoculated with *Azospirillum brasilense*. Biol. Fertil. Soils.43:112-119.

**Bhatnagar**, A., Bhatnagar, M. **2005**. Microbial diversity in desert ecosystems. Current Science. 89: 91-100.

**Bric**, J., Bostock, R., Silverstone, S. **1991**. Rapid *In Situ* Assay for Indoleacetic Acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. Applied and Environmental Microbiology. 57: 535-538.

**Cabrera**, J., Gómez, M. **2005**. Análisis florístico de La Cañada, Querétaro, México. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 77: 35-50.

**Carrillo**, A., Bashan, Y., Díaz, E., Bethlenfalvay, G. **2000**. Effects of resource-island soils, competition, and inoculation with *Azospirillum* on survival and growth of *Pachycereus pringlei*, the giant cactus of the Sonoran desert. Restoration Ecology. 8: 65-73.

**Chávez**, M., Sánchez, E., Hernández, M., Hernández, J., Hernández, R. **2006**. Propagación de especies amenazadas de la familia Cactaceae del semidesierto de

Querétaro. Boletín de la Sociedad Latinoamericana del Caribe sobre Cactáceas y Suculentas. 3: 9-14.

**Chávez, R., Hernández, J., Sánchez, E. 2007.** Documentación de factores de amenaza para la flora cactológica del semidesierto Queretano. Boletín Narkari. 18: 89-95.

**Clayton, P., Hubstenberg, J., Phillips, G., Butler, S. 1990.** Micropropagation of members of the *Cactaceae subtribe* Cactinae. Journal of the American Society for Horticultural Science. 115: 337-343.

**Fernández, L., Zalba, P., Gómez, M., Sagardoy, M. 2005.** Bacterias solubilizadoras de fosfato inorgánico aisladas de suelos de la región sojera. Ciencia del Suelo. 23: 31-37.

**Glickmann, E., Dessaux, Y. 1995.** A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. Applied Environmental Microbiology. 61: 793–796.

**Grageda, O., Vera, J., Castellanos, J., Peña, J. 2003.** Comparación de métodos para estimar la fijación de N<sub>2</sub> en frijol en condiciones de campo. Terra Latinoamericana. 21: 65-71.

**Hernández, H., Godínez, H. 1994.** Contribución al Conocimiento de las Cactáceas Mexicanas Amenazadas. Acta Botánica Mexicana. 26: 33-52.

**Huse, E. 2003.** Screening of Soil Bacteria for Plant Growth Promotion Activities *in vitro*. Indonesian Journal of Agricultural Science. 4:27-31.

**Kolar, Z., Bartek, J., Vistok, B. 1976.** Vegetative propagation of the cactus *Mammillaria woodsii* through tissue cultures. Experientia. 32: 668-669.

**Llovera, J., Sánchez, Y., Peña J. 1994.** Reducción de acetileno por bacterias asociadas a raíces de especies del nopal (*Opuntia L.*). Rev. Lat.-Amer. Microbiol. 36: 183-189.

**Mantilla, A., Cardona. G., Peña, C., Murcia, U., Rodríguez, M., Zambrano, M. 2009.** Distribución de bacterias potencialmente fijadoras de nitrógeno y su relación con parámetros fisicoquímicos en suelos con tres coberturas vegetales en el sur de la Amazonia colombiana. Revista de Biología Tropical. 57: 915-927.

**Martínez, M., García, A. 2001.** Flora y Vegetación Acuáticas de Localidades Selectas del Estado de Querétaro. Acta Botánica Mexicana. 54: 1-23.

**Mascarua, A., Villa, R., Caballero, C. 1988.** Acetylene reduction and indoleacetic acid production y azospirillum isolates from cactaceous plants. Plant and soil. 106: 91-95.

**Matteucci, S., Colma, A. 1982.** Metodología para el estudio de la vegetación. 1era Ed., Secretaria de la Organización de los Estados Americanos. Serie de Biología. Whashington D.C. pp.10-15.

**Meunchang, S., Panichsakpatana, S., Weaver, R. 2006.** Tomato growth in soil amended with sugar mill by-products com-post. Plant Soil. 280: 171-176.

**Mikanová, O. Nováková, J. 2002.** Evaluation of the P-solubilizing activity of soil microorganisms and its sensetivity to soluble phosphate. Rostlinná y Výroba. 48: 397-400.

**Mora, M. 2010.** Aislamiento y caracterización de rizobacterias de suelos agrícolas con potencial de ser empleadas como “biofertilizantes” en la producción de hortalizas. Querétaro, Qro. Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener el título de licenciatura Biología. Pp.13-16.

**Murashige, T.,** Skoog, F. **1962.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology and Plant.* 15:473-479.

**Naher, U.,** Radziah, O., Shamsuddin, Z., Halimi, M., Razi, M. **2009.** Isolation of diazotrophs from different soils of Tanjong Karang rice growing area in Malaysia. *International Journal of Agriculture and Biology.* 11:547-552.

**Nannipieri, P.,** Ascher, J., Ceccherini, M., Landi, L., Pietramellara, G., Renella, G., Valori, F. **2007.** Microbial diversity and microbial activity in the rhizosphere. *Cl. Suelo.* 25: 89-97.

Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. [www.economia-noms.gob.mx](http://www.economia-noms.gob.mx).

Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001 Protección ambiental – Especies nativas de México de flora y fauna silvestres – categorías de riesgo y especificaciones para la inclusión, exclusión o cambio – lista de especies en riesgo. [www.semarnat.gob.mx](http://www.semarnat.gob.mx).

**Otiniano, A.,** Florián, L., Sevillano, R., Amez, S. **2006.** La material orgánica y experiencias de su uso en la agricultura. Chile. IDESIA. Vol. 24: 49-61.

**Page, A.,** Miller, R., Keeney, D. **1982.** Methods of soil analysis. 3rd ed. Soil Science Society of America Book Series. Madison, Wisconsin. USA. pp 815-819.

**Penrose, D.,** Glick, B., Ma, W. **2002.** Strategies used by rhizobia to lower plant ethylene levels and increase nodulation. Canadian Journal of Microbiology. Vol. 48: 947-54.

**Ponmurungan, P., Gopi, C. 2006.** Distribution pattern and screening of phosphate solubilizing bacteria Isolated from different food and forage crops. *Journal of Agronomy*. Vol. 5: 600-604.

**Puente, E., 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*. Vol.15: 49-60.

**Puente, M., Li, C., Bashan, Y. 2004a.** Microbial populations and activities in the rhizoplane of rock-weathering desert plants. II. Growth promotion of cactus seedlings. *Plant Biology*. Vol. 6: 643-650.

**Puente, M., Bashan, Y., Li, C., Lebsky, V. 2004b.** Microbial populations and activities in the rhizoplane of rock-weathering Desert Plants. I. Root colonization and wheatering of ingneous rocks. *Plant Biology*. 6:629-642.

**Ramírez, R., Aguilar, I., Borodaneko, A., Pérez, L., Barrera, J., Núñez, H. 2007.** *In vitro* propagation of ten threatened species of *Mammillaria* (Cactaceae). *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*. Vol. 43: 660-665.

**Rajkumar, M., Lee, K., Lee, W., Banu, J. 2005.** Growth of *Brassica juncea* under chromium stress: influence of siderophores and indole 3 acetic acid producing rhizosphere bacteria. *Journal of Environmental Biology*. Vol. 26:693-9.

**Sánchez, E., Chávez, J., Hernández, G., Hernández, M., 2007.** Especies de Cactaceae prioritarias para la conservación en la zona árida Queretano-Hidalguense. Concyteq. Secretaría de Educación. Gobierno del Estado de Querétaro. Pp 100.

**Soares, R., Roesch, L., Zanatta, G., Camargo, F., Passaglia, L. 2006.** Occurrence and distribution of nitrogen fixing bacterial community associated with oat (*Avena*

*sativa*) assessed by molecular and microbiological techniques. Applied Soil Ecology. Vol. 33:221-234.