

EFFECTO DE LA INOCULACIÓN DE *Azospirillum halopraeferens* Y *Bacillus amyloliquefaciens* EN LA GERMINACIÓN DE *Prosopis chilensis*

[EFFECT OF THE INOCULATION OF *Azospirillum halopraeferens* and *Bacillus amyloliquefaciens* IN GERMINATION OF *Prosopis chilensis*]

J.A. Villegas-Espinoza¹, E.O. Rueda-Puente^{2*}, B. Murillo-Amador³,
M.E. Puente³, O. Grimaldo-Juárez⁴, S.M. Avilés-Marín⁴
and J.F. Ponce Medina⁴

¹ Estudiante de Doctorado-Departamento de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Baja California. Ejido Nuevo León, Mexicali, Baja California, México. Apartado postal 21705. Email: villegasjorge_a@hotmail.com

² Universidad de Sonora, Campus Santa Ana, Carretera internacional y 16 de septiembre s/n, Santa Ana, Sonora, México. Apartado postal 84600. Email: erueda04@santana.uson.mx.

³ Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Mar Bermejo No. 195, Col. Playa Palo Santa Rita, La Paz, Baja California Sur. Apartado postal 23090. Email: epuente04@cibnor.mx, bmurillo04@cibnor.mx

⁴ Departamento de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Baja California. Ejido Nuevo León, Mexicali, Baja California, México. Apartado postal 21705. Email: ogrimaldoj@hotmail.com monikaviles@hotmail.com, jfponce8@hotmail.com

*Corresponding author

RESUMEN

Las Bacterias Promotoras de Crecimiento de Plantas (BPCP), son microorganismos fijadores de nitrógeno atmosférico y a su vez producen hormonas que aprovechan las plantas para llevar a cabo su desarrollo. Es importante la utilización de microorganismos benéficos para reducir la fertilización química. La investigación científica ha incrementado la búsqueda y aislamiento de BPCP de regiones específicas como son las zonas áridas, ya que estos microorganismos están adaptados a ambientes extremos. La especie *Prosopis chilensis* está siendo utilizada para reforestación de escuelas, parques y también como ornato; para reproducir esta planta se está utilizando fertilizantes químicos que son dañinos al medio ambiente. El objetivo de la presente investigación, consistió en analizar el efecto de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal *Bacillus amyloliquefaciens* y *Azospirillum halopraeferens* en la germinación y emergencia del mezquite chileno (*P. chilensis*) bajo cuatro concentraciones salinas (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl). Se obtuvieron semillas de mezquite chileno de la región de Santa Ana, Sonora, México. Bajo condiciones de laboratorio se evaluó el porcentaje de germinación, tasa de germinación, altura, longitud radicular de plántula, peso fresco de plántula número de células bacterianas adheridas al sistema radicular. Bajo condiciones de invernadero, las variables evaluadas fueron porcentaje de emergencia, tasa de emergencia, altura y longitud radicular, peso fresco y seco de planta, peso fresco y seco de raíz, número de

células bacterianas adheridas al sistema radicular. Los resultados indican que, en condiciones *in vitro*, el porcentaje y tasa de germinación disminuyó conforme la salinidad se incrementa. Sin embargo, estas variables cambiaron positivamente por *A. halopraeferens* y *B. amyloliquefaciens*; la altura de plántula y longitud radicular fueron incrementadas con la bacteria *B. amyloliquefaciens*, en las salinidades (0, 0.25 y 0.5 M de NaCl). Los resultados obtenidos en invernadero, muestran que, el porcentaje y tasa de emergencia, fueron afectados positivamente por las dos bacterias (*A. halopraeferens* y *B. amyloliquefaciens*) en *P. chilensis*, como también se presentó un buen desarrollo en altura de planta, longitud radicular, peso fresco y seco. Sin embargo es importante hacer notar que bajo condiciones de invernadero, se logró obtener que los inoculantes resultasen ser más efectivos en las variables estudiadas.

Palabras clave: fijación de nitrógeno; *Bacillus amyloliquefaciens*; *Prosopis chilensis*; *Azospirillum halopraeferens*; salinidad.

SUMMARY

The Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) are microorganisms atmospheric nitrogen fixing and produce hormones that take advantage of the plants to carry out their development. The use of beneficial microorganisms is important to reduce the chemical fertilization. The scientific research has been

increasing the isolation of PGPB from specific regions as the arid zones, due that these microorganisms are adapted to extreme atmospheres. The *Prosopis chilensis* species has being used for reforestation of schools, parks and also like ornate; in order to reproduce this plant is necessary the use of fertilizing chemicals, however it is a harmful to the environment. The objective of the present investigation, consisted of analyzing the promotional effect of the promotional bacteria of the vegetal growth *Bacillus amyloliquefaciens* and *Azospirillum halopraeferens* in the germination and emergency of mesquite Chileno (*P. chilensis*) under four saline concentrations (0, 0,25, 0,5 and 0,75 M of NaCl). Seeds of mesquite Chileno were obtained of the region of Santa Ana, Sonora, Mexico. Under conditions of laboratory percentage of germination was evaluated, rate of germination, height, length to radicle of plant, fresh weight of plant. Under conditions of greenhouse, the evaluated variables were percentage of emergency, rate of emergency, height and length to radicle, fresh and dry

weight of plant, fresh and dry weight by root, number of bacterial cells adhered to the system to radicle. The results showed that in *in vitro* conditions, the percentage and rate of germination diminish as the salinity increased. Nevertheless, these variables were they changed positively by *A. halopraeferens* and *B. amyloliquefaciens*; the height of plant and length to radicle were increased with bacterium *B. amyloliquefaciens*, in the salinities (0, 0,25 and 0.5 M of NaCl). The results obtained in greenhouse, indicate that, the percentage and rate of emergency, were affected positively by the two bacteria (*A. halopraeferens* and *B. amyloliquefaciens*) in *P. chilensis*; also appear a good development in height of plant, length to radicle, fresh and dry weight. It is necessary to indicate that under conditions of greenhouse the inoculants were more effective.

Key words: nitrogen fixation; *Bacillus amyloliquefaciens*; *Prosopis chilensis*; *Azospirillum halopraeferens*; salinity.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad se están perturbando comunidades de plantas naturales por la acción del hombre (Agnew y Warren, 1996), hay que tener una comprensión cada vez mayor de los mecanismos que funcionan en ecosistemas naturales para poder manejar áreas dañadas y como también restaurar y estabilizar el medio ambiente (Agnew y Warren, 1996; Grover y Musick, 1990). La península de Baja California y el estado de Sonora, son dos de los estados más áridos de México, con 80 mm medio anual de precipitación, ya que carecen de recursos hídricos superficiales (Rueda *et al.*, 2003). La reproducción y reforestación son actividades que dependen de agua subterránea y de pozos. Desafortunadamente, la extracción de agua, supera al índice de mantos acuíferos, y el uso inadecuado de fertilizantes han causado aumentos en la salinidad, que durante las dos décadas pasadas se convirtió en un problema grave en la reproducción de árboles tradicionales en estas regiones (SAGAR, 1981; Randall, 1985; Reig, 1994; Nobel, 1996; Carrillo *et al.*, 1999; Carrillo, 2002; Carrillo *et al.*, 2002). La importancia ecológica del mezquite radica en el medio ambiente como planta fijadora de nitrógeno, enriquece el suelo a su alrededor, promueve el crecimiento de matorrales asociados a ella y por tanto previene la erosión del suelo; así mismo actúa como planta nodriza de numerosas especies de aves y roedores (Bravo-Hollis, 1978; Hubbell, 1979; Belsky *et al.*, 1989; Garner y Steinberger, 1989; Joffre y Rambal, 1993; INE, 1994; Carrillo *et al.*, 1998; Golubov *et al.*, 2001). Un género representativo de reproducción en zonas áridas es *Prosopis* L. (Fabaceae) que constituye

un recurso muy importante en muchas regiones áridas y semiáridas del mundo. Estos árboles son potencialmente importantes ya que se pueden incorporar dentro de viveros para reproducirlos, restaurar y estabilizar áreas afectadas por la salinidad y las zonas perturbadas (Carrillo *et al.*, 1999). Hay un interés cada vez mayor sobre los efectos de la remediación sobre una gama de niveles de sal en los suelos. En el estado de Baja California y Sonora, *Prosopis* spp. tiene una distribución amplia (CONAFOR, 2008). Se ha identificado este árbol como recurso para establecerlo en comunidades del desierto del Sonora (FAO, 1998; CONAFOR, 2008).

Las hojas de *Prosopis* spp. se utilizan en la medicina tradicional para la inflamación de ojos, la disentería y de algunas enfermedades de la boca y de la garganta; la madera se utiliza en las construcciones y en muebles rurales, la leña se utiliza en la fabricación de carbón y la corteza se utiliza en pieles de animales (Solis y Espericueta, 2005). El mezquite es un estabilizador de las dunas del desierto ya que posee un sistema radicular que ayuda a conservar la humedad en el suelo y subsuelo (Solis y Espericueta, 2005). Por otra parte *P. chilensis* es una especie importante en su género, ya que puede ser utilizado para reforestar escuelas, jardines de niños situadas en las comunidades de áreas secas y salinas del estado de Sonora y también ser utilizado como árbol de ornato (Villegas *et al.*, 2008). Debido a su incapacidad de producir espinas (inerte), provoca seguridad en los niños intrépidos de estas escuelas. Sin embargo, para la reproducción de *P. chilensis*, este es limitado por una carencia del nitrógeno disponible en suelo

(Jefferiers, 1977; Meyer *et al.*, 1986; Olduol *et al.*, 1986; Karlin *et al.*, 1997). Esta condición afecta su potencial de crecimiento y de reproducción (Hahne y Schuch, 2004). Tradicionalmente los viveros bajo riego en condiciones de campo en el desierto de Sonora, para reproducir mezquite aplican fertilizantes sintéticos para compensar la deficiencia de nitrógeno. Sin embargo, el uso indiscriminado de estos fertilizantes, puede aumentar la salinidad y dañar seriamente la estructura y composición de la microflora del suelo (Kapulnick *et al.*, 1981; Banwari y Rao, 1990; Nahid y Hakeem, 1991; Akhavan *et al.*, 1991). Estudios relacionados con la interacción planta microorganismo en *Prosopis* spp., se limitan a estudios únicamente con micorrizas (Carrillo *et al.*, 1999). Sin embargo con relación a bacterias promotoras de crecimiento de plantas autóctonas de ambientes áridos-salinos se destaca el de Villegas *et al.* (2008), este último estudio considerando como base el aumento de bacterias halotolerantes según Hamdi (1999) como futuros bio fertilizantes potenciales. El grupo de Bacterias promotoras de crecimiento de plantas (BPCP), es conocido como PGPB-Plant Growth-Promoting Bacteria (siglas en inglés), fue definido por Kloepper *et al.* (1992) como bacterias habitantes de la raíz que estimulan significativamente el crecimiento de plantas.

El término BPCP es aplicable a las bacterias que influyen directamente sobre el metabolismo de las plantas promoviendo el aumento de la toma de agua y de nutrientes, el desarrollo del sistema radical y la estimulación del funcionamiento de otros microorganismos benéficos presentes en la rizósfera (Glick y Bashan, 1997; Bashan y Holguín, 1998). Pueden promover el crecimiento por vías directas o indirectas, cuyos elementos específicos no han sido debidamente caracterizados. Los efectos directos se pueden evidenciar en ausencia de otros microorganismos, es decir, la planta sólo interactúa con el microorganismo en estudio, mientras que los mecanismos indirectos se pueden observar en la interacción del microorganismo de interés con un fitopatógeno, mediante la cual se reducen los efectos dañinos en el vegetal (Thrane *et al.*, 2000; Díaz-Vargas *et al.*, 2001;). Los efectos directos de las BPCP son: la síntesis de fitohormonas, producción de sideróforos, solubilización de minerales y la fijación de nitrógeno atmosférico (Malik *et al.*, 1997). El objetivo del presente estudio consistió en analizar el efecto de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal *Bacillus amyloliquefaciens* y *Azospirillum halopraeferens* en la germinación y emergencia del mezquite chileno (*P. chilensis*) bajo cuatro concentraciones salinas (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl) in vitro y de invernadero.

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención de semilla

Semillas de mezquite *P. chilensis* fueron colectadas en campo siguiendo la técnica de colecta y recuperación de semilla a partir de la vaina, durante el verano (junio-julio) de 2006 en un ejemplar de 5 años que se encuentra ubicado en las coordenadas 30° 32'31.26" Latitud Norte y 111° 7' 9.41" Longitud Oeste en la ciudad de Santa Ana, Sonora, México, entidad conocida como la "Llave del Desierto" de Altar en Sonora, México. Posteriormente las vainas se depositaron en un recipiente térmico o hielera a 4°C, para evitar que las semillas se infectaran por enfermedades y/o fueran consumidas por insectos. La semilla fue obtenida con la ayuda de tijeras, posteriormente pasó por un proceso de limpieza de impurezas, separando la semilla de los restos de las vainas. Las semillas se homogenizaron en base a tamaño (6-7.5 mm de largo y 3.5-5.5 mm de ancho), y apariencia con un cedazo de 0.5 x 0.5 cm (0.25 cm²) de diámetro, conservando aquellas semillas que permanecieron sobre el cedazo. Para determinar la viabilidad de las semillas, se lavaron en agua potable siguiendo el criterio de flotabilidad, desechando aquellas que flotaron. Posteriormente se desechó el agua y se adicionó Tween 20, al 2% y se mantuvo así durante 10 minutos en agitación constante a una velocidad de 150 revoluciones por minuto (rpm) utilizando una agitadora marca Eberbach. Después se desechó el Tween con agua destilada estéril para eliminar los excesos del mismo. En seguida, se adicionó hipoclorito de sodio (NaClO₃) al 3% y se mantuvo así durante cinco minutos en agitación constante a una velocidad de 150 revoluciones por minuto en la misma agitadora. Por último se decantó el hipoclorito de sodio y se lavaron las semillas cinco veces con agua destilada estéril para eliminar los excedentes del hipoclorito (Carrillo *et al.*, 1998).

Estudio in vitro

Se prepararon cultivos de las bacterias (*A. halopraeferens* Au^{4T} DSM 3675^T (Reinhold *et al.*, 1987), y *B. amyloliquefaciens*) por separado, que presentarían una fase de crecimiento exponencial (15 h); se realizó un ajuste en los cultivos bacterianos empleando un espectrofotómetro (Maestro Fisher Scientific 415). Se adicionó un ml del cultivo en una celda para espectrofotómetro, tomando la lectura de absorbancia a una longitud de onda de 540 nm y por último se realizó un ajuste previo con el control que fue la solución nutritiva. La suspensión bacteriana fue diluida en el mismo medio nutritivo hasta obtener una absorbancia de 1.00 unidades, correspondiendo a una concentración de 1x10⁸ células por ml (Carrillo *et al.*, 1988). Un total de 300 semillas (unidades

experimentales) de mezquite chileno fueron tratadas por escarificación en agua hirviendo por seis minutos donde se utilizaron 100 semillas para cada uno de los tratamientos (*A. halopraeferens* Au^{4T} DSM 3675^T, *B. amyloliquefaciens* y un testigo sin inocular).

Para la inoculación, en cada uno de los cultivos bacterianos se colocaron las semillas de cada tratamiento y en un matraz Kitazato de 250 ml, se sometieron por infiltración al vacío a 600 mm Hg por 5 m (Carrillo *et al.*, 1988). Posteriormente los tratamientos se sometieron a cuatro concentraciones salinas (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl); cinco cajas por repetición en los tratamientos de salinidad, arrojando un total de 60 cajas Petri con cinco semillas cada repetición. Se agregaron 20 ml de la solución salina correspondiente (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl), con una concentración del inoculante en líquido 1×10^8 UFC/ml. Los tratamientos se colocaron en una cámara de germinación en condiciones de luz blanca-continua, $27^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ y a $35\% \pm 1\%$ de humedad relativa. Se aplicaron 20 ml de agua destilada estéril, así como también de la solución salina, a los tratamientos correspondientes (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl) cada dos días a cada una de las cajas Petri. El estudio de germinación se desarrolló durante siete días.

El porcentaje de germinación fue evaluado mediante la observación de la emergencia de la radícula (2 mm de longitud). El número de semillas germinadas se realizó mediante lecturas diarias (tasa de germinación) y finalmente el porcentaje de germinación fue determinado a los 7 días. La tasa de germinación fue calculada de acuerdo a Maguire (1962) con la ecuación:

$$M = n1/t1 + n2/t2 + \dots + n7/t7$$

Donde $n1, n2, \dots, n7$ representan el número de semillas germinadas en el tiempo $t1, t2, \dots, t7$ (en días).

El diseño experimental que se empleó fue un completamente al azar con 12 tratamientos, con un arreglo bifactorial 3×4 ; (2 bacterias y un control \times 4 niveles de salinidad). Utilizando este mismo diseño, se realizaron análisis de varianza del porcentaje de germinación transformando previamente los valores con arcoseno (Sokal y James, 1988). La tasa de germinación también fue analizada. La diferencia significativa entre las medias de los tratamientos se evaluó mediante la prueba de Rango Múltiple de Duncan al 0.05%. Los datos fueron analizados mediante el paquete estadístico SAS (SAS, 2001).

Longitud radicular y altura de plántula

El periodo de observación se llevó a cabo siete días después de que culminó el estudio y se obtuvieron un total de 60 plántulas (5 plántulas por tratamiento de 12

tratamientos). Aquellas plántulas obtenidas, fueron medidas con un vernier (General, 143, General Tools, Manufacturing Co., Inc. New York, USA), procediéndose a la anotación correspondiente de las plántulas de cada tratamiento, cabe indicar que la altura de la plántula fue considerada a partir del cuello hasta el ápice de la misma.

Peso fresco.

La observación se llevó a cabo después de los siete y se obtuvieron 48 plántulas (4 plántulas por tratamiento de 12 tratamientos). La obtención de peso fresco, se realizó mediante el uso de una balanza analítica Mettler-Toledo GmbH.

Cuantificación de células bacterianas adheridas al sistema radicular de plantas de *P. chilensis*

Esta prueba se llevó a cabo al finalizar el estudio (7 días después); para ello se tomaron de cada tratamiento y por separado, tres plantas, se lavaron con agua destilada estéril y posteriormente se introdujeron a un tubo Eppendorf con agua estéril. Se agitaron con la ayuda de un Vortex durante 1 minuto lo que permitió el desprendimiento de las bacterias adheridas a la raíz. Posteriormente de ésta solución se tomaron directamente 100 μL y se sembraron por dispersión en placa en medio Rennie y/o OAB libre de nitrógeno (Rennie, 1981; Reinhold *et al.*, 1987). Las cajas de Petri sembradas y se incubaron a 30°C durante 24 h para cuantificar las unidades formadoras de colonia (UFC/ml). Esta prueba se realizó por triplicado.

Estudio en invernadero

Para la preparación de los cultivos bacterianos (*A. halopraeferens* Au^{4T} DSM 3675^T y *B. amyloliquefaciens*), se desarrolló el mismo procedimiento indicado en el estudio *in vitro*. Los tratamientos evaluados fueron *A. halopraeferens* Au^{4T} DSM 3675^T, *B. amyloliquefaciens* y un testigo sin inocular, sometiéndose a cuatro concentraciones salinas (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl); para la siembra se utilizaron cinco vasos de unicel por repetición en los 12 tratamientos de salinidad, arrojando un total de 60 vasos; se utilizó el sustrato peat-moss (Sunshine, Sun Gro Horticulture Canada, Ltd.); la semilla fue obtenida y seleccionada conforme a lo indicado en este paso bajo condiciones *in vitro*; para la inoculación, en cada uno de los cultivos bacterianos se colocaron las semillas de cada tratamiento y en un matraz Kitazato de 250 ml, se sometieron por infiltración al vacío a 600 mm Hg por 5 minutos (Carrillo *et al.*, 1998). Posteriormente los tratamientos se sometieron a cuatro concentraciones salinas (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl); cinco cajas por repetición en los tratamientos de salinidad, (60

vasos con cinco semillas cada repetición). Cada una de las semillas se sembró a una profundidad de 0.5 a 1 cm. Se agregaron 200 ml de la solución salina correspondiente (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl), con una concentración del inoculante en líquido, se agregó 1×10^8 UFC/ml. Los tratamientos fueron ubicados en invernadero, a una temperatura de 35°C con una humedad relativa de 20%. Se aplicaron 200 ml de agua destilada estéril, así como también de la solución salina, a los tratamientos correspondientes (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl) cerciorándose de la existencia de un escurrimiento para evitar el incremento de salinidad; en el sustrato de los vasos; las aplicaciones fueron efectuadas cada tres días.

Las variables evaluadas fueron: porcentaje y tasa de emergencia, las cuales se desarrollaron considerando el rompimiento del sustrato. El número de semillas emergidas se realizó mediante lecturas diarias (tasa de emergencia) y finalmente el porcentaje de emergencia fue determinado a los 30 días. La tasa de emergencia fue calculada de acuerdo a Maguire (1962) con la ecuación:

$$M = n1/t1 + n2/t2 + \dots n30/t30$$

Donde:

$n1, n2, \dots n30$ representan el número de semillas emergidas en el tiempo $t1, t2, \dots t30$ (en días).

El diseño experimental fue el completamente al azar con 12 tratamientos con un arreglo bifactorial de 3×4 (2 bacterias y un control \times 4 niveles de salinidad). Utilizando este mismo diseño, se realizaron análisis de varianza del porcentaje de emergencia transformando previamente los valores en arcoseno (Sokal y James, 1988). La tasa de emergencia, que es la suma de semillas emergidas contadas por día también fue analizada. La diferencia significativa entre las medias de los tratamientos se evaluó mediante la prueba de Rango Múltiple de Duncan al 0.05%. Los datos fueron analizados mediante el programa de cómputo SAS (SAS, 2001).

Longitud radicular de plántula y altura de planta

La observación se llevo a cabo 30 días después, evaluándose 60 plantas (5 plantas por tratamiento), que fueron medidas con un vernier (General, 143, General Tools, Manufacturing Co., Inc. New York, USA) y se procedió a la anotación de longitud radicular y altura de planta de cada tratamiento, cabe indicar que la altura de la planta fue considerada a partir del cuello hasta el ápice de la misma.

Peso fresco y Peso seco de plántula

Se evaluaron 60 plantas (5 plantas por tratamiento), para determinar el peso de fresco de planta, incluyendo

raíz, y fue mediante el uso de una balanza analítica Mettler-Toledo GmbH.

Para el caso de peso seco, se evaluaron 60 plantas, considerando 5 plantas por repetición. Para obtener esta variable, las plantas se sometieron a calor en una estufa marca Shel lab modelo 1380 FM, depositándose en platos de frígit con la finalidad de facilitar el manejo de las plantas, las mismas que se mantuvieron a una temperatura de 110°C por espacio de 24 horas. Al término de este periodo de secado, se pesaron y se registraron los datos.

Cuantificación de células bacterianas adheridas al sistema radicular de plantas de *P. chilensis*

Esta prueba se llevó a cabo al finalizar el estudio (30 días después); se desarrolló la misma metodología indicada *in vitro*.

RESULTADOS

Porcentaje y Tasa de Germinación *in vitro* de *Prosopis chilensis*

La germinación *in vitro*, de semillas de mezquite *P. chilensis*, con el tratamiento *A. halopraeferens* Au^{4T} DSM 3675^T y el tratamiento sin inoculante (control) a una salinidad de 0 M se comportaron superiores (72% y 68%) en comparación del tratamiento *B. amyloliquefacien* (60%). A una concentración de 0.25 M de NaCl los mismos dos tratamientos de *A. halopraeferens* y el control, presentaron porcentajes de germinación similares (68% ambos) ($P > 0.05$), mientras que BA presentó un 48%. Por su parte a una concentración salina de 0.5 M de NaCl, el valor máximo de germinación fue el tratamiento con la bacteria *A. halopraeferens* (36%); mientras que a una salinidad de 0.75 M de NaCl, los tratamientos con inoculantes presentaron baja germinación (Figura 1).

Con respecto a la tasa de germinación, el tratamiento control a una salinidad de 0 M de NaCl, presento un desarrollo en la germinación más activa, en comparación con los tratamientos de las dos bacterias (*A. halopraeferens* y *B. amyloliquefaciens*). Asimismo se pudo observar que *A. halopraeferens* y el control sin inocular, muestran efectos significativos a una salinidad de 0.25 M de NaCl comparados con *B. amyloliquefaciens*. Los resultados indican que que la salinidad reduce la tasa de germinación, no obstante ello, *B. amyloliquefaciens* presenta un mayor incremento en la tasa de germinación en comparación de los demás tratamientos a una salinidad de 0.5 M de NaCl (Figura 2).

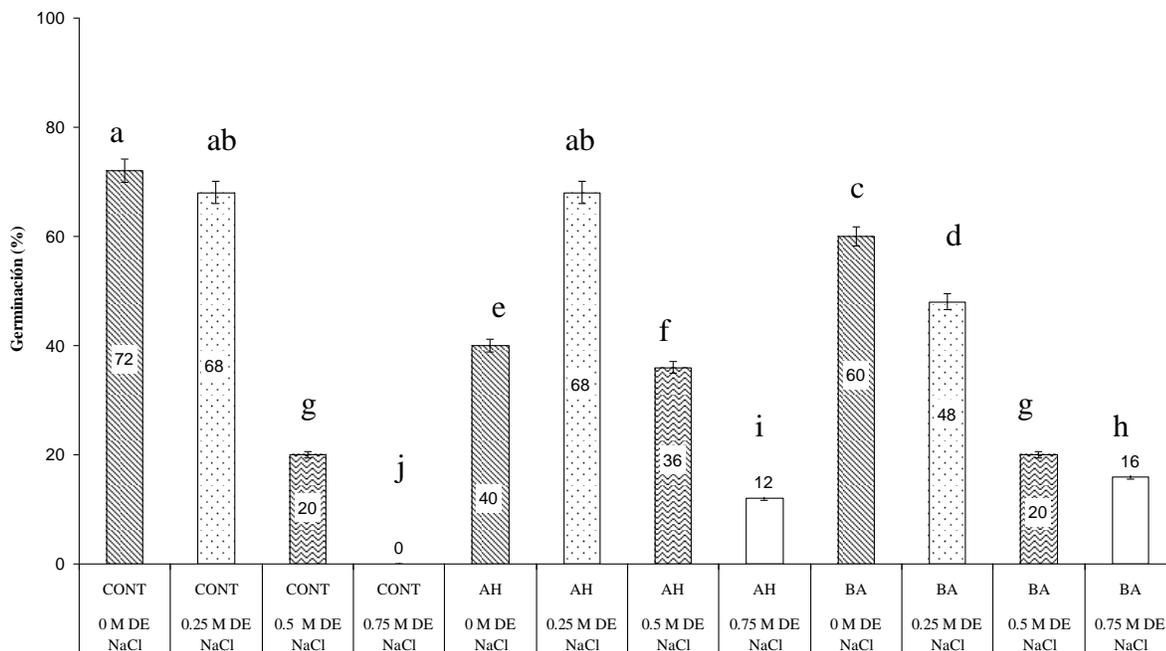


Figura 1. Germinación *in vitro* con la semilla de mezquite chileno (*P. chilensis*) y el efecto ejercido por *A. halopraeferens* Au^{4T} DSM 3675^T =AH y *B. amyloliquefaciens*=BA, con su respectivo control sin inoculante, bajo cuatro concentraciones salinas (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl), Literales diferentes indican diferencia significativa P=0.05.

Altura de plántula, Longitud radicular, Peso fresco de plántula y Unidades formadoras de colonias (UFC/ml)

En altura de plántula se desarrollaron favorablemente los tratamientos con los inoculantes en estudio (*A. halopraeferens* y *B. amyloliquefaciens*), en comparación con el control en las diferentes salinidades analizadas (0, 0.25 y 0.5 M de NaCl), (Tabla 1).

En longitud radicular a una salinidad de 0 M de NaCl, el tratamiento que sobresalió fue el control sobre las bacterias (*A. halopraeferens* y *B. amyloliquefaciens*). Sin embargo en las subsiguientes salinidades (0.25 y 0.5 y 0.75 M de NaCl), sobresalieron las bacterias *A. halopraeferens* y *B. amyloliquefaciens* en comparación del control; los valores indican diferencia significativa de (P=0.05) (Tabla 1).

Con respecto a la variables peso fresco, los resultados muestran que al hacer uso de diferentes salinidades, el peso fresco se ve reducido cuando la molaridad de NaCl se incrementa; el tratamiento *A. halopraeferens*

sobresalió en comparación del control y *B. amyloliquefaciens*, respectivamente (Tabla 1).

El número de las células adheridas al sistema radicular, no fue afectado por las cuatro salinidades (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl en *A. halopraeferens*; lo contrario ocurrió con *B. amyloliquefaciens* que fue reducida numéricamente las unidades formadoras de colonias. (Tabla 1).

Porcentaje final y tasa de emergencia de *P. chilensis* en invernadero

En la prueba de emergencia de *P. chilensis* los resultados arrojan que los tratamientos con las dos bacterias (*A. halopraeferens* y *B. amyloliquefaciens*) a una salinidad de 0 y 0.25 M de NaCl, presentaron el 100% de emergencia en comparación con el control (78% y 76%, respectivamente). Sin embargo a una salinidad de 0.5 y 0.75 M de NaCl, aunque las bacterias mostraron promoción en la emergencia en comparación con el control, esta se vio reducida en un 80% en comparación de 0, 0.25 M de NaCl (Figura 3).

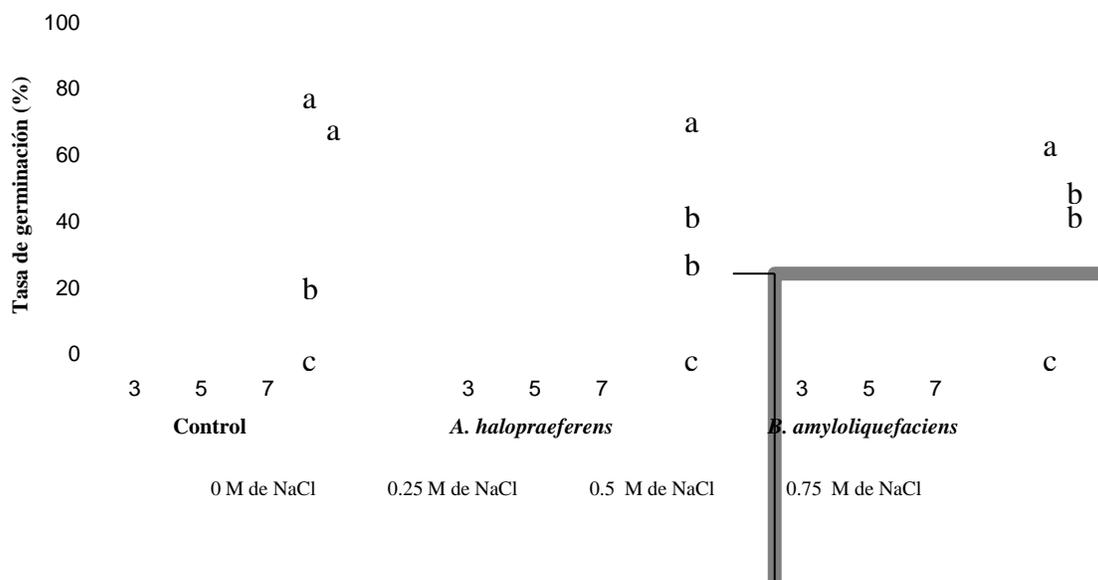


Figura 2. Efecto de la Tasa de germinación de *P. chilensis*, por *A. halopraeferens* Au^{4T} DSM 3675^T y *B. amyloliquefaciens*, con su respectivo control sin inoculante *in vitro*, bajo cuatro concentraciones salinas (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl). Literales diferentes indican diferencia significativa P=0.05.

Tabla 1. Efecto de la inoculación de *A. halopraeferens* Au^{4T} DSM 3675^T (AH) y *B. amyloliquefaciens* (BA), y su respectivo control sin inoculante (C) en plántulas de *P. chilensis*, *in vitro*, bajo cuatro concentraciones salinas (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl), en altura de planta, longitud radicular, peso fresco de planta, peso seco de planta, peso fresco y seco de raíz; Unidades formadoras de colonias (UFC/ml) adheridas al sistema radicular.

Inoculante	Salinidad M NaCl	Altura de plántula (cm)	Longitud radicular de plántula (cm)	Peso fresco plántula (mg)	UFC/ml
C	0	6.7 b	8.4 a	0.49 b	0
C	0.25	4 d	1.5 cd	0.27 e	0
C	0.5	2.8 e	0.96 d	0.21 f	0
C	0.75	0 g	0 f	0 h	0
AH	0	16 a	7.7 ab	0.68 a	2,920 b
AH	0.25	6.48 bc	1.76 c	0.39 c	3,533 a
AH	0.5	3.88 d	1.46 cd	0.17 f	3,429 a
AH	0.75	1.08 g	0.36 e	0.01 h	3,467 a
BA	0	9.4 b	7.2 ab	0.38 c	2,333 c
BA	0.25	6.08 c	1.76 c	0.34 cd	1,558 d
BA	0.5	2.88 e	0.96 d	0.19 f	1,727 d
BA	0.75	0.9 g	0.3 e	0.06 g	2,353 c

Literales diferentes indican diferencia significativa P=0.05.

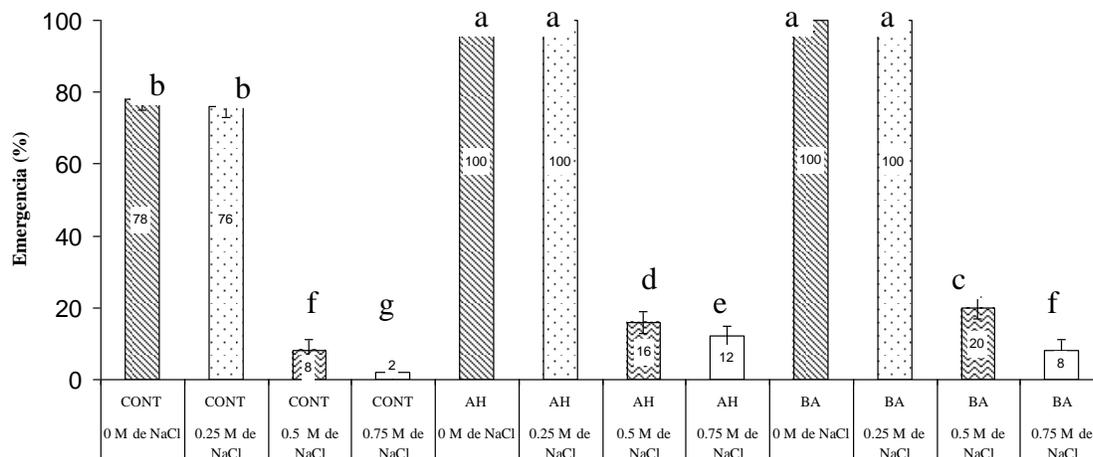


Figura 3. Efecto ejercido en el porcentaje de emergencia final (%) por *A. halopraeferens* Au^{4T} DSM 3675^T =AH y *B. amyloliquefaciens*=BA, con su respectivo control sin inoculante, bajo condiciones de invernadero y con cuatro concentraciones salinas (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl). Literales diferentes indican diferencia significativa P=0.05.

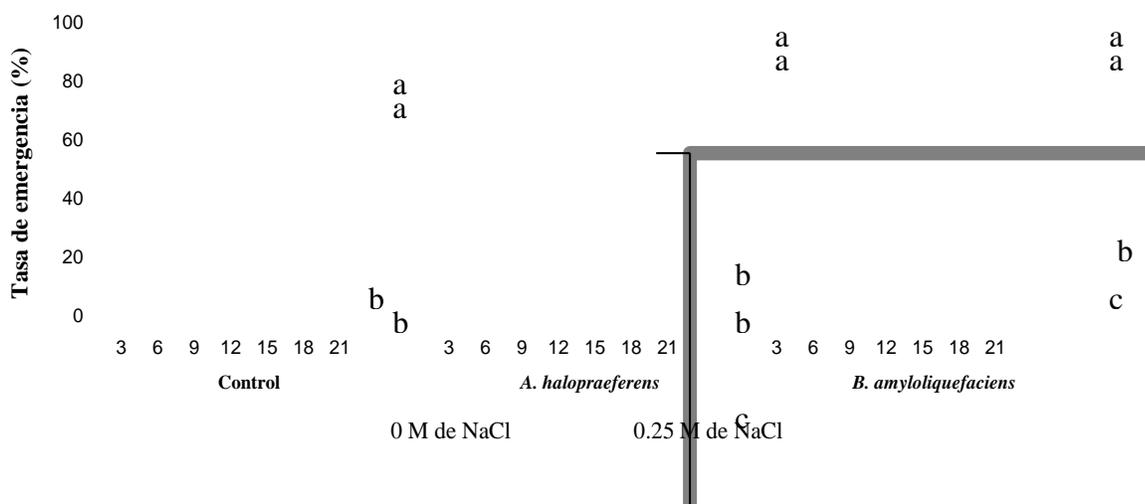


Figura 4. Efecto ejercido en la tasa de emergencia (%) por *A. halopraeferens* Au^{4T} DSM 3675^T =AH y *B. amyloliquefaciens*=BA, con su respectivo control sin inoculante, bajo condiciones de invernadero y con cuatro concentraciones salinas (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl). Literales diferentes indican diferencia significativa P=0.05.

En la tasa de emergencia sobresalieron las dos bacterias *A. halopraeferens* y *B. amyloliquefaciens* en comparación con el testigo, a un tiempo de escarificación de la semilla de *P. chilensis* de seis minutos (Figura 4). Se puede observar que en aquellos tratamientos con bacterias, se alcanzó el 100 % de emergencia a los 6 y 10 días respectivamente. Para el caso de las salinidades de 0.5 y 0.75, el 20% máximo fue alcanzado a los 6 días por BA, mientras que AH, a los 18 días. Por su parte el control, su máxima

velocidad de germinación a 0.5 y 0.75 M de NaCl, fue alcanzada a los 18 días con un 8 %.

Altura de planta, Longitud radicular de planta, Peso fresco y seco de planta, Peso fresco y seco de raíz y Unidades formadoras de colonias (UFC/ml)

En altura de la planta, se observa (Tabla 2) que la salinidad reduce la altura. No obstante, se logró observar que esta variable, se comportó favorablemente con el inoculante *B. amyloliquefaciens*

a las salinidades de 0 y 0.5 M de NaCl, mientras que *A. halopraeferens* promueve mejor a una salinidad de 0.25 M de NaCl (Tabla 2).

En longitud radicular los tres tratamientos (*A. halopraeferens* y *B. amyloliquefaciens*, control) muestran similares comportamientos de reducción radicular conforme la salinidad aumenta. Sin embargo *A. halopraeferens* promueve positivamente el desarrollo a salinidades de 0 y 0.25 M de NaCl, mientras que a 0.5 y 0.75 lo hace *B. amyloliquefaciens* (Tabla 2).

Acorde a la variable peso fresco, los resultados con *A. halopraeferens*, sobre salieron en comparación de *B. amyloliquefaciens* y el control, a las salinidades estudiadas (Tabla 2). Por su parte en peso seco de planta, los resultados indican que no existe diferencia significativa entre los tratamientos y salinidades en estudio. No obstante ello, numéricamente sobresale el tratamiento con *A. halopraeferens* (Tabla 2).

Respecto a peso fresco radicular, se observó un resultado similar al obtenido en peso fresco de plántula, donde *A. halopraeferens* sobresalió en comparación de *B. amyloliquefaciens* (Tabla 2). En peso seco de raíz, a una salinidad de 0, 0.25 y 0.5 M de NaCl, no presentaron diferencias significativas en los tres tratamientos (*A. halopraeferens* y *B. amyloliquefaciens*, control). Asimismo, es importante hacer notar que a una salinidad de 0.75 M de NaCl, los tratamientos con inoculantes estudiados presentaron diferencia significativa, en comparación con el tratamiento control (Tabla 2).

El número de células adheridas al sistema radicular de las plantas de mezquite chileno, no fue afectada por las cuatro salinidades (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl), considerando diferencia significativa. Sin embargo numéricamente si reduce las unidades formadoras de colonias (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto de la inoculación de *A. halopraeferens* Au^{4T} DSM 3675^T (AH) y *B. amyloliquefaciens* (BA), y su respectivo control sin inoculante (C) en plántulas de *P. chilensis*, en Invernadero, bajo cuatro concentraciones salinas (0, 0.25, 0.5 y 0.75 M de NaCl), en altura de planta, longitud radicular, peso fresco de planta, peso seco de planta, peso fresco y seco de raíz; Unidades formadoras de colonias (UFC/ml) adheridas al sistema radicular.

Inoculante	Salinidad M NaCl	Altura de planta (cm)	Longitud radicular (cm)	Peso fresco planta (mg)	Peso seco planta (mg)	Pesos fresco de raíz	Peso seco de raíz	UFC/ml
C	0	4.21 c	4.76 b	0.21 b	0.04 a	0.13 a	0.02 a	0
C	0.25	3.59 c	3.74 d	0.23 a	0.05 a	0.15 a	0.02 a	0
C	0.5	1.01 f	1.11 e	0.07 d	0.01 b	0.05 b	0.01 a	0
C	0.75	0.08 h	0.02 f	0.01 d	0 c	0.01 c	0 a	0
AH	0	5.33 a	4.95 a	0.22 a	0.04 a	0.14 a	0.02 a	3,817 a
AH	0.25	4.81 b	4.26 c	0.25 a	0.05 b	0.16 a	0.02 a	3,492 ab
AH	0.5	1.90 c	1.45 e	0.11 c	0.02 b	0.07 b	0.01 a	3,333 b
AH	0.75	0.34 g	0.11 f	0.06 d	0.01 a	0.04 b	0.01 a	3,420 ab
BA	0	5.36 a	4.77 b	0.23 a	0.05 a	0.15 a	0.02 a	3,900 a
BA	0.25	4.65 b	4.16 c	0.22 a	0.04 a	0.14 a	0.02 a	2,467 c
BA	0.5	2.66 d	1.87 e	0.13 c	0.03 ab	0.08 b	0.01 a	2,063 c
BA	0.75	0.34 g	0.11 f	0.06 d	0.01 b	0.04 bc	0.01 a	2,417 c

Literales diferentes indican diferencia significativa P=0.05.

DISCUSIÓN

Una de las metas más importantes a nivel mundial es la conservación de los recursos naturales y de la diversidad biológica. En la actualidad, actividades

como la agricultura y la ganadería mal aplicadas en un ecosistema tan frágil como el de zonas árido-salinas aceleran su deterioro. Algunas comunidades vegetales de zonas desérticas y forestales se han convertido en zonas perturbadas gracias a la actividad humana

(Puente, 2004), haciendo necesaria una mayor comprensión de los mecanismos que operan en ecosistemas naturales de tal forma que las áreas perturbadas puedan restaurarse estabilizando así el ambiente (Grover y Musick, 1990; Agnew y Warren, 1996). La restauración del hábitat puede hacer uso de plantas que estabilicen el suelo, mejoren su calidad, y con el tiempo produzcan un microambiente favorable para el establecimiento sucesivo de otras especies vegetales (Puente, 2004); esta facilitación entre ciertas plantas puede ser promovida positivamente con la ayuda de la interacción de microorganismos presentes a nivel de rizósfera. Por lo anterior, la atención científica se ha enfocado en buscar alternativas biológicas que estimulen el desarrollo de las plantas como *Azospirillum*, bacterias de rizósfera fijadoras de nitrógeno conocidas como bacterias promotoras del crecimiento de plantas (PGPB, siglas en inglés). Las bacterias promotoras del crecimiento en plantas, en general, pueden contribuir al crecimiento y aumento del rendimiento de muchos cultivos agrícolas importantes desde pastos para forraje hasta leguminosas y cereales (Puente, 2004). No obstante lo anterior, aun cuando los estudios biológicos de interacción planta-microorganismo se sumen al enriquecimiento del conocimiento, la mayoría ha ignorado la participación de ampliar el conocimiento en plantas de reforestación como es el Mezquite *Prosopis* spp., el cual en las áreas que presentan condiciones de aridez y salinidad, puede ser una alternativa de solución a la deforestación con la asociación exitosa de las bacterias inoculadas a la planta (Hamdi, 1999; Neori y Zskova-KonZcalova, 2001).

En la presente investigación, se realizaron estudios para evaluar el efecto de *Azospirillum halopraeferens* y *B. amyloliquefaciens* (éste último microorganismo indígena de rizósfera de mezquite que se desarrolla en la zona del desierto de Altar Sonora, (Villegas *et al.*, 2008)), en condiciones *in vitro* e invernadero en las etapas de germinación y de plántula. Una primera etapa para la generación de una nueva planta es la germinación-emergencia, estudios relacionados con la germinación de halófitas, el porcentaje máximo de germinación se realiza conforme el contenido de sales disminuye (Breen *et al.*, 1977; Ungar, 1977; Ungar 1982; Ayala y O'Leary, 1995; Zalba y Peinemann, 1998; Villagra y Cavagnaro, 2005). Un comportamiento similar lo presentan también las semillas de glicófitas (Murillo-Amador *et al.*, 2000). Los resultados del presente estudio (Figura 1 y 3) mostraron que al evaluar la germinación-emergencia en *Prosopis chilensis*, el porcentaje de germinación se redujo por el efecto de la salinidad, coincidiendo con numerosos estudios, donde arriba del 5% de NaCl (0.856 M), inducen a las semillas a un estado de latencia (Khan *et al.*, 1976; McGraw y Ungar, 1981;

Philipupiya y Ungar, 1984; Villagra y Cavagnaro, 2005). Sin embargo, dicho efecto (% germinación) en presencia de NaCl, se vio mitigado por la inoculación de las bacterias, las cuales favorecen diversos procesos fisiológicos de las plantas debido a la producción de hormonas, capaces de influir en la velocidad del metabolismo, así como en la respiración de la semilla y posterior desarrollo de la raíz hospedada según Conrad *et al.*, (1992); Kozyrovskaya *et al.*, (1990); Zexun y Wei, (2000) y Haahtela *et al.*, (1990). De igual forma, respecto a las variables de longitud radicular, altura de planta, peso fresco y seco, fueron positivos debido a la inoculación de las bacterias en estudio (Tabla 1, Figura 2 y 4), comparadas con los tratamientos no inoculados. De la misma manera se reporta que un grupo importante de reguladores como son las giberelinas, estimula la germinación en halófitas al igual que en glicófitas bajo condiciones de salinidad (NaCl), produciendo efectos positivos como la interrupción de latencia y el incremento de biomasa (Khan, 1971; Ungar, 1987a; Ungar, 1987b; Ungar, 1982; Ondarza, 1996, Ungar, 2000; Bacilio *et al.*, 2006). Asimismo por que *B. amyloliquefaciens* ha sido aislada de plantas costeras (Vazquez *et al.*, 2000), la cual también tiene la capacidad de solubilizar fosfatos. También se han realizado estudios donde *B. amyloliquefaciens* tiene la capacidad de ser antagonista para hongos y bacterias causantes de algún tipo de enfermedad para diversos cultivos (Yoshida *et al.*, 2001).

El mismo efecto anterior descrito para el factor salinidad, repercutió con una tendencia de disminución de unidades formadoras de colonias (UFC) adheridas al sistema radicular. Sin embargo, la interacción de bacterias con *Prosopis* spp., mostró que *A. halopraeferens* no era tan afectado comparado con *B. amyloliquefaciens*. Esta especificidad de asociación planta-bacteria hasta la fecha es discutible de acuerdo con hallazgos publicados por Arsac *et al.*, (1990), Baldani y Dobereiner (1980) quienes indican que este tipo de resultados puede depender de moléculas orgánicas secretadas en el proceso de germinación así como del tipo de especie de microorganismo.

CONCLUSIONES

La germinación de *P. chilensis* es afectado negativamente por la salinidad. Sin embargo, la inoculación de las bacterias *Azospirillum halopraeferans* y *Bacillus amyloliquefaciens* mitigan ese efecto negativo, promoviendo la germinación de la semilla y subsecuente en etapa de plántula. Es posible la utilización de bacterias benéficas como *A. halopraeferens* *B. amyloliquefaciens* en plantas halotolerantes con potencial para ser utilizadas en reforestación en áreas deforestadas. Finalmente, es importante mencionar que este tipo de trabajo

experimental contribuye a ampliar el conocimiento en las posibles alternativas de producción de plantas forestales y efectos en la aplicación de biofertilizantes en nuevos materiales vegetativos con potencial productivo de interés socio-económico para Estados con problemas de disponibilidad de agua de buena calidad, como es el de Baja California Sur, en el Noroeste de México.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue apoyado por el Fondo Sectorial de Investigación en Materia Agrícola, Pecuaria, Acuicultura, Agro-biotecnología y Recursos Filogenéticos del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) y Universidad de Sonora, por el proyecto 14651: "Bacterias Promotoras del Crecimiento de Plantas Asociadas a Ambientes Árido Salinos y su Efecto en la Reproducción de Mezquite Sonorense y Chileno". Gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT número escolar 206653 CVU de J. A. Villegas- Espinoza). Se agradece a Apoyos complementarios para la consolidación institucional de grupos de investigación (estancias de consolidación) 2007: clave: 74592 del Dr. Bernardo Murillo Amador- CIBNOR.

REFERENCIAS

- Agnew, C., y A. Warren, 1996. A framework for tackling drought and land degradation. *Journal of Arid Environments*. 33: 309-320.
- Akhavan, K., Campbell, W., Jurinak, J. y I. Dudley. 1991. Effects of CaSO₄, CaCl₂, and NaCl on leaf nitrogen, nodule weight, and acetylene reduction activity in *Phaseolus vulgaris* L. *Arid Soil Research and Rehabilitation*. 5: 97-103.
- Arsac, J., Lamothe, C. y Fages, J. 1990. Growth enhancement of Maize (*Zea Mays*) through *Azospirillum lipoferum* inoculation: effect of plant genotype and bacterial concentration. *Agronomie*. 10: 640-654.
- Ayala, F., y J. O'Leary. 1995. Growth and physiology of *Salicornia bigelovii* Torr. At suboptimal salinity. *International Journal of Plant Sciences*. 156:197-205.
- Bacilio, M., Hernandez, J. P. y Y. Bashan. 2006. Restoration of giant cardon cacti in barren desert soil amended with common compost and inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Biology and Fertility of Soils*. 43: 112-119.
- Baldani, V. y Dobereiner, L. 1980. Host plant specificity in the infection of cereals with *Azospirillum* spp. *Soil Biology & Biochemistry*. 12: 443-439.
- Banwari, I., y V. Rao. 1990. Effect of *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen content of *Cynodon dactylon* under different moisture regimens. *Indian Journal of Plant Physiology*. 33: 210-213.
- Bashan, Y. y Holguin, G. 1998. Proposal for the division of plant growth-promoting Rhizobacteria into two classifications: biocontrol-PGPB (Plant Growth-Promoting Bacteria) and PGPB. *Soil Biology and biochemistry*. 30: 1225-1228.
- Belsky, A., Amudson, R., Duxbury, D., Riha, S., Ali, A. y S. Mwonga. 1989. The effects of trees on their physical, chemical, and biological environments in a semi-arid savanna in Kenya. *Journal of Applied Ecology*. 26: 1005-1024.
- Bravo, H. 1978. Las Cactáceas de Mexico (The Cactaceae of Mexico). Volume I. Universidad Autónoma de Mexico, Mexico City, Mexico.
- Breen, C., Everson, C., y Rogers, K. 1977. Ecological studies on *Sprorobulos virginicus* (L) Kunth with particular reference to salinity and inundation. *Hydrobiologia*. 54: 135-140.
- Carrillo, A. 2002. Efecto de *Azospirillum brasilense* en Cardón. Tesis de Maestría en Uso Manejo y Preservación de los Recursos Naturales. Colombia y Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, B.C.S. México.
- Carrillo, A., Li, C. y Y. Bashan. 2002. Increased acidification in the rhizosphere of cactus seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. *Naturwissenschaften*. 89: 428-432.
- Carrillo, A., Puente, M., Castellanos, T. y Y. Bashan. 1998. Aplicaciones Biotecnológicas de Ecología Microbiana. In: Pontificia Universidad Javeriana, Santa Fe de Bogotá, Colombia and Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste Manual de Laboratorio (eds), Manual de Laboratorio, La Paz, B.C.S., México.
- Carrillo-García, A., Leon de la Luz, J., Bashan, Y. y G. Bethlenfalvay. 1999. Nurse plants, mycorrhizae, and plant establishment in a

- disturbed area of the Sonoran desert. *Restoration Ecology*. 7: 321-335.
- Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) 2008. El mezquite, un norteño bien plantado. *Revista CONAFOR*. 90: 1-3.
- Conrad, K., Bettin, B., y Neumann, S. 1992. The cytokinin production of *Azospirillum* and *Klebsiella* possible ecological effects. In: M. Kaminek et al. (eds), *Physiology and biochemistry of cytokinins in plants*. Symposium Liblice, República de Checoslovaquia. pp. 401-405
- Díaz-Vargas, P., Ferrera-Cerrato, R., Almaraz-Suárez, J. J., y Alcántar-González, G. 2001. Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. *Terra*. 19: 327-335.
- FAO. 1998. Red Latinoamericana de Cooperación Técnica en Sistemas Agroforestales. Especies Arbóreas y Arbustivas para las zonas Áridas y Semiáridas de América Latina. Web: <http://www.rlc.fao.org/redes/sisag/arboles/Arg-geo.htm>
- Garner, W. y Y. Steinberger. 1989. A proposed mechanism for the formation of 'Fertile Islands' in the desert ecosystem. *Journal of Arid Environments*. 16: 257-262.
- Glick, B., y Bashan, Y. 1997. Genetic manipulation of planta growth promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. *Biotechnology Advances*. 15: 353-378.
- Golubov, J. Mandujano, M. y L. E. Eguiarte. 2001. The paradox of mesquites (*Prosopis* spp): Invading species of biodiversity enhancers. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 69: 21-28.
- Grover H. y H. Musick. 1990. Shrubland encroachment in southern New Mexico, U.S.A: an analysis o desertification processes in the America southeast. *Climatic chang*. 17: 305-330.
- Haahtela, K., Ronkko, R., Laasko, T., Williams, P. y Korhonen, T. 1990. Root-associated Enterobacter and *Klebsiella* in *Poa pratensis*: Characterization of an iron-scavenging system and a substance stimulating root hair production. *Moleccular Plant-Microbe Interaction*. 3: 358-365.
- Hahne, K. y U. Schuch. 2004. Nitrogen requeriments of *Prosopis velutina* during early seedling growth. *Turgrass and Ornamental Research Report College of Agriculture & Life sciences, University of Arizona, Tucson, Arizona, USA*.
- Hamdi, H. 1999. Rhizobium-Legume Symbiosis and Nitrogen Fixation under Severe Conditions and in Arid Climate. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 63: 968-989.
- Hubbell, S. 1979. Tree dispersion, abundance, and diversity in a tropical dry forest. *Science*. 203: 1299-1309.
- Instituto Nacional de Ecología (INE) 1994. Mezquite *Prosopis* spp. Cultivo alternativo para las zonas áridas y semiáridas de México. Instituto Nacional de Ecología. México, D.F. México.
- Jefferiers, R. 1977. Growth responses of coastal halophytes to inorganic nitrogen. *Journal of Ecology*. 65: 847-865.
- Joffre, R. y S. Rambal. 1993. How tree cover influences the water balance of Mediterranean rangelands. *Ecology*. 74: 570-582.
- Kapulnik, Y., Okon, Y., Kigel, J., Nur, J. y Y. Henis. 1981. Effects of temperature, nitrogen fertilization and plant age on nitrogen fixation by *Setaria italica* inoculated with *Azospirillum brasilense* (strain cd). *Plant Physiology*. 68: 340-343.
- Karlin, U., R. Coirin, L. Catalan, and R. Zapata, 1997: *Prosopis chilesisen* FAO n° 12. Serie: Zonas Aridas y Semiáridas. Especies Arboreas y Arbustivas para las Zonas Aridas y Semiáridas de América Latina. Santiago, Chile.
- Khan, A., Gul, B. y Weber, D. 1971. Germination responses of *Salicornia rubra* to temperature and salinity. *Journal of Arid Enviroments*. 45: 207-214.
- Khan, M., Khan, I. y Khizar, T. 1976. Plant growth regulators from species differing in salt tolerance as affected by soil salinity. *Plant Soil*. 45: 269-276.
- Kloepper, J., Schippers, B., y Bakker, P. 1992. Proposed elimination of the term

- endorhizosphere. *Phytopathology*. 82: 726-727.
- Kozyrovskaya, N., Makitruk, V. y Rukdashel, E. 1990. Nitrogen fixing *Klebsiella*- spp produces IAA. *Biopolim Kletka*. 6: 93-96.
- Maguire, J. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*., 2:176-177.
- Malik, K. A., Rakhshanda, B., Mehnaz, S., Rasul, G., y Mirza, M. S. 1997. Association of nitrógeno-fixin plant-growth-promoting rihizobacteria (PGPR) with kallar grass and rice. *Plant and Soil*. 194: 37-44.
- Mc Graw, D. y Ungar, I. 1981. Growth and survival of the halophyte *Salicornia europaea* L. under saline field conditions. *Ohio Academic Science*. 81: 109-113.
- Meyer, D., Becker, B., Gumbmann, M., Vohra, P., Neukorn, H. y R. Saunders. 1986. Processing composition, nutritional evaluation and utilization of mesquite (*Prosopis* spp) pods as a raw material for the food industry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 34: 914-919.
- Murillo-Amador, B., E. Troyo-Diéguéz, H.G. Jones, F. Ayala-Chairez, C.L. Tinoco-Ojanguren y A. López-Cortés. 2000. Screening and classification of cowpea genotypes for salt tolerance during germination. *PHYTON. International Journal of Experimental Botany*. 67: 71-84.
- Nahidh, S. y Hakeem A. 1991. Response of wheat to dual inoculation with VA-Micorrhiza and *Azospirillum*, fertilized with NPK and irrigated with sewage effluent. *Arid Soil Research and Rehabilitation*, 5: 83-96.
- Neori, A. y Zskova-KonZcalova, Z. 2001. Bioactive chemicals and biological-biochemical activities and their functions in rhizospheres of wetland plants. *Bottany Review*. 66: 350-378.
- Nobel, P. 1996. Ecophysiology of roots of desert plants, with special emphasis on agaves and cacti. in Y. Waisel, A. Eshel, and U. Kafkafi, editors. *Plant roots, the hidden half*. 2nd edition. Marcel Dekker, Inc." New York.
- Olduol, P., Elker, P., Mckinley, C. y C. Meier. 1986. Variation among Selected *Prosopis* Families for Pod Sugar and Pod Protein Contents. *Forest Ecology and Management*. 16: 423-431.
- Ondarza, R. 1996. *Biología moderna*. ed. Trillas.México, D.F. p. 633.
- Philipupiya, J. y Ungar I. 1984. The effect of seed dimorphism on the germination and survival of *Salicornia*. *American Journal Botany*. 71: 542-549.
- Puente M.E. 2004. Poblaciones bacterianas endófitas y del rizoplano de plantas del desierto degradadoras de roca y su efecto sobre el crecimiento del cardon (*Pachycerus pringlei* (S.wats) Britt and Ross). Tesis de doctorado en Uso Manejo y Preservación de los Recursos Naturales. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, la Paz, B.C.S. p. 141.
- Randall, A. 1985. *Economía de los recursos naturales y política ambiental*, trad. Por ricardo Calvet Pérez, Limusa, México.
- Reig, A. 1994. Análisis de económico de los recursos naturales. Cátedra de Contabilidad I. Fac. de Ciencias Económicas. Universidad Champagnat. Mendoza. *Multequina*. 3: 205-211.
- Reinhold, B., Hurek, T., Fendrik, I., Pot, B., Gillis, M., Kersters, K., Thielmans, S. y J. De Ley. 1987. *Azospirillum halopraeferens* sp. nov., a nitrogen-fixing organism associated with roots of *Kallar* grass (*Leptochloa fusca* L. Kunth). *International Journal of Systematic Bacteriology*. 37: 43-51.
- Rennie, R. 1981. A single medium for the isolation of acetylene.reducing (dinitrogen-fixing bacteria from soil. *Canadian Journal Microbiology*, 27: 8-14.
- Rueda-Puente, E., Castellanos, T., Troyo-Diéguéz, E., Díaz de León-Álvarez, J. y B. Murillo-Amador. 2003. Effects of a nitrogen-fixing indigenous bacterium *Klebsiella pneumoniae* on the growth and development of the halophyte *Salicornia bigelovii* as a new crop for saline environments. *Journal Agronomy of Crops Sciences*. 189: 323-332.
- SAS Institute. 2001. *SAS/STAT User's Guide*. Version 6.12 SAS Institute, Cary, NC.

- Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (SAGAR) 1981. Alternativas alimentarias en la cuenca del Golfo de California. In: G. Halffter Ed VI simposio sobre el medio ambiente del Golfo de California. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Hermosillo, Sonora, México.
- Sokal, R. and James R. 1988. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. (3rd edn). Freeman & Co, San Francisco, CA, USA.
- Solis, G., y M. Espericueta. 2005. Utilización y aprovechamiento del mezquite (*Prosopis*) en Sonora. Biotecnia. Vol. 8. Revista de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad de Sonora.
- Thrane, C., Harder Nielsen, T., Nielsen, M., y Sørensen, J. 2000. Viscosinamide-producing *Pseudomonas fluorescens* DR54 exerts a bicontrol effect on *Pythium ultimum* in a sugar beet rhizosphere. FEMS Microbiology Ecology. 33: 139-146.
- Ungar, I. 1977. Salinity, temperature and growth regulator effects on seed germination of *Salicornia europaea* L. Aquatic Botany. 3: 329-335.
- Ungar, I. 1982. Germination ecology of halophytes. Tasks for vegetation science. Vol. 2 ed. By D.N.S. Ohio, USA. p. 143-154.
- Ungar, I. 1987 a. Population characteristic, growth and survival of the halophyte *Salicornia*. Ecology. 68: 569-575.
- Ungar, I. 1987 b. Population ecology of halophyte seeds. Botany Review. 53: 301-308.
- Ungar, I. 2000. Ecophysiology of vascular halophytes. Department of Botany. Ohio University. Athens Ohio. CRC Press, p. 209.
- Vazquez P., Holguin, G., Puente, M., López-Cortés, A. y Y. Bashan. 2000. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. Biology and Fertility of Soils. 30: 460-468.
- Villagra, E. P. y J. B. Cavagnaro. 2005. Effects of salinity on the establishment and early growth of *Prosopis argentea* and *Prosopis alata* seedlings in two contrasting soils: Implications for their ecological success. Austral Ecology. 30: 325-335.
- Villegas-Espinoza, J. A., Rueda-Puente, E. O., Puente, M. E., Muñoz-Salazar, R., Avilés-Marín, S. M., Grimaldo-Juárez, O., Murillo-Amador, B. y P. Preciado-Rangel. 2008b. First report of plant growth promoting bacteria from mesquite (*prosopis glandulosa*) rhizosphere on volcanic soils of Sonora desert. 12 International Symposium on Microbial Ecology. Cairns Australia 15-25 agosto.
- Yoshida, S., Hiradate, S., Tsukamoto, T., Hatakeda, K., y Shirata, A. 2001. Antimicrobial activity of culture filtrate of *Bacillus amyloliquefaciens* RC-2 isolated from mulberry leaves. Phytopathology 91:181-187.
- Zalba, P. y Peinemann, N. 1998. Salinity- fertility interactions on early growth of maize (*Zea mays* L.) and nutrient uptake. Edafología. 5: 29-39.
- Zexun, L. y Wei, S. 2000. Effect of cultural conditions on IAA biosynthesis by *Klebsiella oxytoca* SG-11. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology. 6: 66-69.

Submitted November 03, 2008 – Accepted June 23, 2009
Revised received July 28, 2009