

CRECIMIENTO DE *Cedrela odorata* L. BIOFERTILIZADA CON *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum brasilense* EN VIVERO

GROWTH OF *Cedrela odorata* L. BIOFERTILIZED WITH *Rhizophagus intraradices* and *Azospirillum brasilense* UNDER NURSERY CONDITIONS

Juan F. Aguirre-Medina^{1*}; Francisco O. Mina-Briones¹; Jorge Cadena-Iñiguez²; Joni D. Dardón-Zunun¹; Dante A. Hernández-Sedas¹.

¹Universidad Autónoma de Chiapas, Facultad de Ciencias Agrícolas Campus IV. Entronque carretera costera y Huehuetán pueblo, km 1. C. P. 30660. Huehuetán, Chiapas, MÉXICO. Correo-e: juanf56@prodigy.net.mx Tel.: 964 6270128, fax 964 6270439 (*Autor para correspondencia).

²Colegio de Postgraduados, campus Montecillo. km 36.5 carretera México-Texcoco. C. P. 56230. Texcoco, Edo. de México, MÉXICO.

RESUMEN

C*edrela odorata* L. es una especie que se distingue por la calidad de su madera. El cedro establecido en campo debe adaptarse a cambios en disponibilidad de recursos; la sobrevivencia es mayor cuando el sistema radical se asocia con microorganismos que mejoran la nutrición y crecimiento. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum brasilense* sobre el crecimiento de *C. odorata* y la capacidad de absorción de nitrógeno (N) y fósforo (P). Las semillas de cedro se sembraron en macetas de acuerdo con los siguientes tratamientos: testigo, fertilización 15_N-15_P-15_K, *R. intraradices*, *A. brasilense*, *R. intraradices* + *A. brasilense*, y *R. intraradices* + *A. brasilense* + fertilización 15_N-15_P-15_K. Las variables morfológicas y fisiológicas de rendimiento y la colonización radical se registraron cada 28 días, y los contenidos de N y P, al final del experimento (140 días). En general, *R. intraradices* promovió mayor crecimiento vegetal ($P \leq 0.05$) de los componentes morfológicos y fisiológicos del rendimiento. La altura máxima (97 cm) se registró en las plantas con *R. intraradices* + *A. brasilense* + fertilización 15_N-15_P-15_K, representando 40 % más altura que el testigo. El N y P incrementaron con la inoculación de los microorganismos solos y combinados

PALABRAS CLAVE: Componentes del rendimiento, nitrógeno, fósforo, colonización micorrízica.

ABSTRACT

C*edrela odorata* L. is a species distinguished by the quality of its wood. Cedar established in the field must adapt to changes in resource availability; survival is greater when the root system is associated with microorganisms that improve nutrition and growth. The aim of this study was to evaluate the effect of *Rhizophagus intraradices* and *Azospirillum brasilense* on the growth of *C. odorata* and its nitrogen (N) and phosphorus (P) uptake capacity. Cedar seeds were sown in pots in accordance with the following treatments: control, 15_N-15_P-15_K fertilization, *R. intraradices*, *A. brasilense*, *R. intraradices* + *A. brasilense*, and *R. intraradices* + *A. brasilense* + *A. brasilense* + 15_N-15_P-15_K fertilization. Morphological and physiological yield variables and root colonization were recorded every 28 days, and N and P contents at the end of the experiment (140 days). In general, *R. intraradices* promoted greater plant growth ($P \leq 0.05$) of morphological and physiological yield components. The maximum height (97 cm) was recorded in plants with *R. intraradices* + *A. brasilense* + 15_N-15_P-15_K fertilization, representing 40 % more height than the control. N and P increased with the inoculation of the microorganisms alone and combined.

KEYWORDS: Yield components, nitrogen, phosphorous, mycorrhizal colonization.



Recibido: 21 de enero, 2014
Aceptado: 20 de agosto, 2014
doi: 10.5154/r.rchscfa.2014.01.001
<http://www.chapingo.mx/revistas>

INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas forestales son afectados por diversos factores ambientales y antropogénicos como la sequía y el establecimiento de cultivos anuales; dichas acciones han ocasionado la degradación (Secretaría del Medio ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT], 2005). Algunas especies maderables como *Cedrela odorata* L., con amplia distribución en el trópico e importancia económica y ecológica (Galán, De los Santos, & Valdez, 2008), han disminuido su abundancia natural por aumento de la explotación y la regeneración poco exitosa.

Las especies maderables de interés comercial como el cedro son propagadas masivamente en vivero mediante procedimientos rápidos con diferentes sustratos. Sin embargo, tales procedimientos no han considerado el fortalecimiento del desarrollo radical de la planta huésped mediante la biofertilización con microorganismos del suelo. Los biofertilizantes son productos a base de un microorganismo no patógeno que al inocularse puede vivir asociado o en simbiosis con la planta. Estos tipos de microorganismos ayudan a incrementar el suministro, disponibilidad y acceso físico de nutrimentos mediante diversos mecanismos de acción e inducen mayor crecimiento en la planta huésped. Los microorganismos más utilizados en la agricultura mexicana son hongos endomicorrízicos y bacterias fijadoras de N; ambos han favorecido el desarrollo vegetal y reproductivo de los cultivos anuales en los campos de los productores (Aguirre-Medina, 2006) y en cultivos perennes en vivero. El efecto benéfico de las micorrizas se ha demostrado en *Coffea arabica* L. (Aguirre-Medina et al., 2011) y *Tabebuia donnell-smithii* (Rose) Miranda (Aguirre-Medina, Aguirre-Cadena, Cadena-Iñiguez, & Avendaño-Arrazate, 2012). También se ha reportado el efecto de *Glomus intraradices* Schenk et Smith en co-inoculación con la bacteria fijadora de N *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Döbereiner en *Theobroma cacao* L. (Aguirre-Medina, Mendoza-López, Cadena-Iñiguez, & Avendaño-Arrazate, 2007).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de los microorganismos *Rhizophagus intraradices* (Schenck et Sm.) Walker et Schuessler y *A. brasilense* sobre el crecimiento de *C. odorata* y su capacidad de absorción de N y P.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló (febrero a noviembre de 2012) en un vivero del Campo Experimental Rosario Izapa, ubicado en el km 18 de la carretera Tapachula-Cacaohatan, municipio de Tuxtla Chico, Chiapas. El vivero se localiza en el paralelo 14° 40' LN y 92° 10' LO, a 435 m de altitud. El clima es cálido húmedo con lluvias en verano e influencia de monzón. La precipitación promedio es de 4,720 mm anuales y la temperatura media, considerada isoterma, es de 25.4 °C.

Las semillas de *C. odorata* se colectaron de árboles de copa densa, fuste recto y sin presencia de daños por plagas y en-

INTRODUCTION

Forest ecosystems are affected by various environmental and anthropogenic factors such as drought and the establishment of annual crops, which have caused degradation (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT], 2005). Some timber species such as *Cedrela odorata* L., with wide distribution in the tropics and economic and ecological importance (Galán, De los Santos, & Valdez, 2008), have decreased in natural abundance due to increased exploitation and largely unsuccessful regeneration.

Timber species of commercial interest such as cedar are massively propagated in nurseries using rapid procedures with different substrates. However, such procedures have not considered strengthening the root development of the host plant by biofertilization with soil microorganisms. Biofertilizers are products based on a non-pathogenic microorganism that by inoculation can live associated or in symbiosis with the plant. These types of microorganisms help increase the supply, availability and physical accessibility of nutrients through various mechanisms of action and induce greater growth in the host plant. The microorganisms most commonly used in Mexican agriculture are endomycorrhizal fungi and N-fixing bacteria; both have favored plant and reproductive development of annual crops on farms (Aguirre-Medina, 2006) and perennial crops in nurseries. The beneficial effect of mycorrhizae has been demonstrated in *Coffea arabica* L. (Aguirre-Medina et al., 2011) and *Tabebuia donnell-smithii* (Rose) Miranda (Aguirre-Medina, Aguirre-Cadena, Cadena-Iñiguez, & Avendaño-Arrazate, 2012). The effect of *Glomus intraradices* Schenk et Smith in co-inoculation with the N-fixing bacteria *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Döbereiner on *Theobroma cacao* L. has also been reported (Aguirre-Medina, Mendoza-López, Cadena-Iñiguez, & Avendaño-Arrazate, 2007).

The aim of this study was to evaluate the effect of the microorganisms *Rhizophagus intraradices* (Schenck et Sm.) Walker et Schuessler and *A. brasilense* on the growth of *C. odorata* and its ability to absorb N and P.

MATERIALS AND METHODS

The research was conducted (February to November 2012) in a nursery at the Rosario Izapa Experimental Station, located at km 18 of the Tapachula-Cacaohatan highway, municipality of Tuxtla Chico, Chiapas. The nursery is located at 14° 40' NL and 92° 10' WL, at 435 masl. The climate is warm and humid with summer rains and monsoon influence. Average annual rainfall is 4,720 mm and the mean temperature, considered isothermal, is 25.4 °C.

The *C. odorata* seeds were collected from trees with a thick crown, straight bole and free of damage by pests and diseases. The collection was made in the neighborhood of El Triunfo, municipality of Escuintla, Chiapas (15° 19' NL - 92°

fermedades. La colecta se realizó en la colonia El Triunfo, municipio de Escuintla, Chiapas (15° 19' LN - 92° 33' LO). El sustrato se preparó con una mezcla de suelo, arena de río lavada y estiércol de bovino. El suelo se obtuvo a una profundidad de 0-30 cm en los terrenos de Rosario Izapa, Chiapas, caracterizados como andosoles mólicos (Grajales, De la Piedra, & López, 2008). El suelo se mezcló con arena de río previamente lavada y tamizada, en proporción 1:1 (V/V). El estiércol de bovino, previamente deshidratado, esterilizado (Bunema® 55 GE [Metam sodio N-metil ditiocarbamato, dosis de 500 litros·ha⁻¹], Buckman, México) y molido, ocupó 10 % del volumen de bolsas de plástico (25 x 35 cm) con capacidad de 6 kg. Cabe mencionar que el suelo no se esterilizó con el fin de conocer la interacción con la microbiota regional. Físicoquímicamente, el sustrato tuvo los siguientes componentes y características: arena (79.76 %), limo (12 %), arcilla (8.24 %), textura arena migajonosa, materia orgánica (8.9 %), pH 7.74, N (0.43 %), P (179 ppm), K (906 ppm), Na (52 ppm), Mg (108 ppm), Ca (257 ppm), capacidad de intercambio catiónico (CIC: 4.72 mg·100 g⁻¹), conductividad eléctrica (CE: 0.86 dS·m⁻¹). Las bolsas se perforaron en la parte inferior para favorecer el drenaje y se llenaron con el sustrato. Las bolsas se colocaron sobre bancales de fierro. El hongo *R. intraradices* con 40 esporas·g de suelo⁻¹ y 95 % de colonización radical en la planta huésped se aplicó en las semillas de *C. odorata*. La cantidad de hongo utilizada se calculó con base en el 6 % del peso de la semilla. La bacteria *A. brasilense* fue proporcionada por la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) con 9 x 10⁶ ufc·g de turba⁻¹. La cantidad de bacteria aplicada en las semillas de *C. odorata* se calculó con base en el 4 % del peso de la semilla. Los microorganismos fueron adheridos a las semillas con carboximetilcelulosa.

Las semillas se sembraron en macetas, a 3 cm de profundidad, de acuerdo con los siguientes tratamientos: Testigo, fertilización 15_N-15_P-15_K, *R. intraradices*, *A. brasilense*, *R. intraradices* + *A. brasilense*, y *R. intraradices* + *A. brasilense* + fertilización 15_N-15_P-15_K. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar con cinco repeticiones. Las variables morfológicas (altura de la planta, diámetro del tallo, número de hojas y colonización radical) y fisiológicas (área foliar y biomasa seca de la raíz, tallo y hoja) de rendimiento se registraron cada 28 días hasta el día 140. La altura de la planta se obtuvo con una cinta métrica midiendo de la corona radical hasta la yema apical; el diámetro del tallo se midió a 5 cm de distancia de la corona radical hacia el ápice con un vernier digital (AutoTEC™, China); y el área foliar (cm²) se obtuvo con un integrador de área foliar (LI-COR, LI 3100^a, USA). La colonización micorrizica (%) se determinó según Phillips y Hayman (1970). Por otra parte, la materia seca se determinó en estufa de aire forzado por 72 h a 75-80 °C. Los componentes del rendimiento de la parte aérea y radical se pesaron en una báscula analítica (Ohaus, Adventurer Pro, USA). Finalmente, los contenidos de N (Micro-Kjeldahl) y P se cuantificaron en un espectrofotómetro (Thermo Fisher Scientific, modelo 400 ¼, USA).

33' WL). The substrate was prepared with a mixture of soil, washed river sand and cattle manure. The soil was obtained at a depth of 0-30 cm on the grounds of the experimental field, and was characterized as mollic andosols (Grajales, De la Piedra, & López, 2008). The soil was mixed with previously washed and sieved river sand, at a 1:1 ratio (V/V). The cattle manure, previously dehydrated, sterilized (55 Bunema® GE [Metam sodium N-methyl dithiocarbamate, dose of 500 liters·ha⁻¹], Buckman, Mexico) and ground, occupied 10 % of the volume of 6-kg plastic bags (25 x 35 cm). It should be noted that the soil was not sterilized in order to understand the interaction with regional microbiota. Physicochemically, the substrate had the following components and characteristics: sand (79.76 %), silt (12 %), clay (8.24 %), crumbly sand texture, organic matter (8.9 %), pH 7.74, N (0.43 %), P (179 ppm), K (906 ppm), Na (52 ppm), Mg (108 ppm), Ca (257 ppm), cation exchange capacity (CEC: 4.72 mg·100g⁻¹), electrical conductivity (EC: 0.86 dS·m⁻¹). The bags were perforated in the bottom to promote drainage and filled with substrate. The bags were placed on iron beds. The fungus *R. intraradices* with 40 spores·g of soil⁻¹ and 95 % root colonization in the host plant was applied to the *C. odorata* seeds. The amount of fungus used was calculated based on 6 % of the seed weight. The bacterium *A. brasilense* was provided by Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) with 9 x 10⁶ cfu·g of peat⁻¹. The amount of bacteria applied to the *C. odorata* seeds was calculated based on 4 % of the seed weight. The microorganisms were attached to the seeds with carboxymethylcellulose.

The seeds were sown in pots, at 3 cm deep, in accordance with the following treatments: control, 15_N-15_P-15_K fertilization, *R. intraradices*, *A. brasilense*, *R. intraradices* + *A. brasilense*, and *R. intraradices* + *A. brasilense* + 15_N-15_P-15_K fertilization. The treatments were arranged in a completely randomized design with five replications. Morphological yield variables (plant height, stem diameter, number of leaves and root colonization) and physiological ones (leaf area and root, stem and leaf dry biomass) were recorded every 28 days until day 140. Plant height was obtained with a tape measure by measuring from the root crown to the apical bud; stem diameter was measured at 5 cm away from the root crown towards the apex with a digital vernier caliper (AutoTEC™, China), and leaf area (cm²) was obtained with a leaf area meter (LI-COR, LI 3100^a, USA). Mycorrhizal colonization (%) was determined according to the method described by Phillips and Hayman (1970). On the other hand, dry matter was determined in a forced air oven for 72 h at 75-80 °C. Shoot and root yield components were weighed on an analytical scale (Ohaus, Adventurer Pro, USA). Finally, N (micro-Kjeldahl) and P contents were measured using a spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Model 400 ¼, USA).

The effects among treatments were determined by analysis of variance for each variable with the PROC ANOVA procedure. Then a comparison of means (Tukey, $P \leq 0.05$) was

Los efectos entre tratamientos se determinaron a través de un análisis de varianza para cada variable con el procedimiento PROC ANOVA. Posteriormente se hizo una comparación de medias (Tukey, $P \leq 0.05$) utilizando el programa computacional Statistical Analysis System, versión 8.1 (SAS, 1999-2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El Cuadro 1 muestra el crecimiento de las plantas de *C. odorata* con los tratamientos aplicados (biofertilizantes y fertilizante químico). La altura de la planta fue estadísticamente diferente ($P \leq 0.05$) durante los muestreos a los 28, 56, 112 y 140 días. La altura máxima alcanzada fue de 97 cm y se registró en las plantas con *R. intraradices* + *A. brasilense* + fertilización $15_N-15_P-15_K$, representando 40 % más altura que el testigo absoluto.

En el caso del diámetro del tallo, las diferencias ($P \leq 0.05$) se encontraron a los 28 y 84 días. Al final del experimento (140 días), estadísticamente, el diámetro del tallo fue similar; sin embargo, en las plantas inoculadas con *R. intraradices* fue 8 % mayor que el testigo. En otras plantas como el cacao, se reporta mayor incremento en el grosor del tallo con *A. brasilense* que con *G. intraradices* (Aguirre-Medina et al., 2007). En *Tectona grandis* L. F. y *Astronium graveolens* Jacq., el incremento del diámetro del tallo se logró con *Glomus fasciculatum* (Thaxter) Gerdemann & Trappe y representó 11.8 % más en comparación con el testigo (Hernández & Salas, 2009).

El número de hojas fue estadísticamente diferente ($P \leq 0.05$) a los 56, 84, 112 y 140 días. La simbiosis doble (*R. intraradices* y *A. brasilense*) sin fertilizante químico produjo nueve hojas más que el testigo (Cuadro 1). En el caso de los hongos micorrízicos, la actividad fotosintética se incrementa después de la colonización (Sylvia, 2005). En cultivos perennes como el cacao (Aguirre-Medina et al., 2007) y café (Aguirre-Medina et al., 2011) se ha registrado mayor desarrollo vegetal con la inoculación de microorganismos. Este hecho sugiere que el incremento en el desarrollo de la planta hospedera, puede deberse a una mayor capacidad de absorción de nutrientes.

En todos los casos, los tratamientos con los microorganismos solos o combinados indujeron mayor crecimiento en el cedro en comparación con el testigo. Posiblemente, el crecimiento se produjo por el aumento en la capacidad de absorción de las plantas micorrizadas (Leigh, Hodge, & Fitter, 2009) y la mineralización y solubilización de nutrientes (Wright, Scholes, Read, & Rolfe, 2005), o bien, por el mayor crecimiento radical promovido por *A. brasilense* (Hungria, Campo, Souza, & Pedroza, 2004). Las diferencias pueden estar influenciadas por la fase de colonización de los microorganismos en la raíz, sobre todo en el primer muestreo (28 días), que corresponde a la fase de establecimiento de la simbiosis. La simbiosis micorrízica genera un sistema radical complementario que favorece el aporte de nutrientes y agua a la planta y, con ello, cambios en su fisiología (Barea, Azcón y Azcón-Aguilar, 2002) que pudieron inducir las diferencias en el desarrollo de las estructuras de la planta (Cuadro 1).

performed using Statistical Analysis System, version 8.1 software (SAS, 1999-2000).

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows the growth of *C. odorata* plants with the applied treatments (biofertilizers and chemical fertilizer). Plant height was statistically different ($P \leq 0.05$) during sampling at 28, 56, 112 and 140 days. The maximum height reached was 97 cm and it was recorded in plants with *R. intraradices* + *A. brasilense* + $15_N-15_P-15_K$ fertilization, representing 40% more height than the control plants.

Regarding stem diameter, differences ($P \leq 0.05$) were found at 28 and 84 days. At the end of the experiment (140 days), statistically, stem diameter was similar; however, in plants inoculated with *R. intraradices*, it was 8 % higher than in the control. In other plants such as cocoa, a greater increase in stem diameter is reported with *A. brasilense* than with *G. intraradices* (Aguirre-Medina et al., 2007). In *Tectona grandis* L. F. and *Astronium graveolens* Jacq., an increase in stem diameter was achieved with *Glomus fasciculatum* (Thaxter) Gerdemann & Trappey, representing 11.8 % more growth than in the control (Hernández & Salas, 2009).

The number of leaves was statistically different ($P \leq 0.05$) at 56, 84, 112 and 140 days. The double symbiosis (*R. intraradices* and *A. brasilense*) without chemical fertilizer produced nine more leaves than the control (Table 1). In the case of mycorrhizal fungi, photosynthetic activity increases after colonization (Sylvia, 2005). In perennial crops like cocoa (Aguirre-Medina et al., 2007) and coffee (Aguirre-Medina et al., 2011), there has been increased plant growth with inoculation of microorganisms. This suggests that the increased growth in the host plant may be due to a greater ability to absorb nutrients.

In all cases, treatments with microorganisms alone or in combination induced greater growth in cedar compared with the control. Possibly, the growth was generated by the increased absorption capacity of the mycorrhizal plants (Leigh, Hodge, & Fitter, 2009) and nutrient mineralization and solubilization (Wright, Scholes, Read, & Rolfe, 2005), or by the greater root growth promoted by *A. brasilense* (Hungria, Campo, Souza, & Pedroza, 2004). The differences may be influenced by the colonization phase of the microorganisms in the root, especially in the first sampling (28 days), which corresponds to the establishment phase of symbiosis. Mycorrhizal symbiosis generates a complementary root system that favors the supply of nutrients and water to the plant and, as a result, changes in their physiology (Barea, Azcón and Azcón-Aguilar, 2002) that may induce the differences in the development of plant structures (Table 1).

Cedar root colonization was extensive from the start of the assessment with or without inoculation of microorganisms. From 56 days after treatment (dat), colonization doubled in

CUADRO 1. Variables morfológicas de crecimiento de *Cedrela odorata* biofertilizada y fertilizada químicamente, y colonización radical de los hongos micorrízicos evaluados.

TABLE 1. Morphological growth variables of biofertilized and chemically fertilized *Cedrela odorata*, and root colonization of the mycorrhizal fungi evaluated.

Días / Days	Tratamiento / Treatment	Altura de la planta / Plant height (cm)	Diámetro de tallo / Stem diameter (mm)	Número de hojas / Number of leaves	Colonización radical / Root colonization (%)
28	Testigo / Control	5.75 b	1.64 b	3.00	20
	15 _N -15 _P -15 _K	6.67 ab	1.82 ab	3.00	18
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	6.72 ab	1.88 a	3.00	26
	<i>Azospirillum brasilense</i>	6.57 ab	1.84 ab	3.00	23
	<i>Rhizophagus</i> y <i>Azospirillum</i>	6.82 a	1.71 ab	3.00	35
	<i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i> +15 _N -15 _P -15 _K	6.20 ab	1.88 a	3.00	33
	CV (%)	7.18	5.12	0	
56	Testigo / Control	19.10 ab	4.66 a	9.00 a	21
	15 _N -15 _P -15 _K	16.97 cd	4.65 a	7.00 a	20
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	18.25 bc	4.57 a	8.00 ab	53
	<i>Azospirillum brasilense</i>	20.37 a	4.61 a	7.25 b	52
	<i>Rhizophagus</i> y <i>Azospirillum</i>	17.75 bc	4.40 a	8.00 ab	53
	<i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i> +15 _N -15 _P -15 _K	15.85 d	4.26 a	8.00 ab	48
	CV (%)	4.50	6.40	8.80	
84	Testigo / Control	21.65 a	7.57 ab	9.25 bc	27
	15 _N -15 _P -15 _K	22.00 a	7.66 ab	11.25 ab	27
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	22.97 a	7.08 b	11.50 ab	56
	<i>Azospirillum brasilense</i>	22.07 a	7.28 b	8.25 c	52
	<i>Rhizophagus</i> y <i>Azospirillum</i>	21.60 a	8.41 a	10.25 abc	55
	<i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i> +15 _N -15 _P -15 _K	22.05 a	8.11 ab	12.75 a	53
	CV (%)	8.00	6.20	10.60	
112	Testigo / Control	43.50 ab	6.99 a	17.00 c	26
	15 _N -15 _P -15 _K	40.25 b	6.94 a	17.00 c	29
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	45.80 ab	7.83 a	24.25 b	58
	<i>Azospirillum brasilense</i>	48.25 ab	7.65 a	24.00 b	55
	<i>Rhizophagus</i> y <i>Azospirillum</i>	53.12 a	7.45 a	28.25 a	58
	<i>Rhizophagus</i> <i>Azospirillum</i> +15 _N -15 _P -15 _K	43.8 ab	7.47 a	29.00 a	56
	CV (%)	10.02	6.50	7.10	
140	Testigo / Control	57.75 b	7.77 a	18.00 c	23
	15 _N -15 _P -15 _K	81.07 ab	7.27 a	19.50 c	24
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	78.45 ab	8.36 a	24.75 ab	48
	<i>Azospirillum brasilense</i>	81.95 ab	7.77 a	27.25 a	45
	<i>Rhizophagus</i> y <i>Azospirillum</i>	70.90 ab	7.30 a	27.00 a	50
	<i>Rhizophagus</i> <i>Azospirillum</i> +15 _N -15 _P -15 _K	97.00 a	7.95 a	23.75 b	47
	CV (%)	17.70	9.80	5.80	

Medias con la misma letra por día y columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). CV: Coeficiente de variación. Los valores de la colonización radical son promedios de cuatro plantas; 100 segmentos de raíz observados por planta y día de muestreo.

Means with the same letter by day and column are equal according to Tukey's test ($P \leq 0.05$). CV: Coefficient of variation. The root colonization values are averages of four plants; 100 root segments observed per plant and sampling day.

La colonización radical del cedro fue amplia desde el inicio de la evaluación con o sin la inoculación de los microorganismos. A partir de los 56 ddt, la colonización incrementó al doble en los tratamientos biofertilizados. La presencia de otros hongos micorrízicos en el sustrato, como parte de la microbiota regional, se confirma con los porcentajes de colonización en los testigos sin biofertilización. Al respecto, el número de esporas no debió ser un factor limitante, pero la menor inducción en el desarrollo vegetal con la endomicorriza contenida en el sustrato sin biofertilizar sugiere efecto diferencial en la capacidad para estimular el crecimiento del cedro. La inoculación con *A. brasilense* promovió la colonización radical de las micorrizas contenidas en el sustrato. Los porcentajes fueron similares a los encontrados con la inoculación de *R. intraradices*. Zambrano y Díaz (2008) señalan que las bacterias promovieron selectivamente el establecimiento de la simbiosis de *Gmelina arborea* Roxb con los hongos. Estos resultados confirman la capacidad de colonización de *R. intraradices*, como ha sucedido también en otros cultivos anuales y perennes (Aguirre-Medina et al., 2006, 2007, 2011; Wright et al., 2005).

El Cuadro 2 presenta las variables fisiológicas evaluadas en *C. odorata* biofertilizada y fertilizada químicamente. El peso seco radical presentó la mayor variación de respuesta en los tratamientos biofertilizados. La biomasa radical incrementó cuando los microorganismos se aplicaron individualmente. Al final de la evaluación, el mayor incremento se obtuvo con *R. intraradices* y representó el doble de la biomasa radical del testigo y alrededor de 40 % más que los otros tratamientos biofertilizados. El mayor crecimiento de la raíz puede estar relacionado con el incremento de algunas sustancias del crecimiento, producto de la simbiosis. Aguirre-Medina et al. (2011) citan incremento en el peso seco del sistema radical de *C. arabica*, al aplicar *G. intraradices* y *A. brasilense* solos y combinados.

La biomasa del tallo y la hoja muestran poca variación durante los muestreos iniciales y la respuesta más contrastante se presentó al final del estudio. El peso seco del tallo fue mayor con *R. intraradices* y fue estadísticamente superior ($P \leq 0.05$) que el resto de los tratamientos a los 140 días después del tratamiento (ddt) (Cuadro 2). La falta de interacción entre los tratamientos puede estar relacionada con la demanda de fotosintatos por los microorganismos en la etapa inicial de su establecimiento. En esta etapa, la disponibilidad de carbohidratos hacia el vástago disminuye, dado que la mayoría de los compuestos son requeridos por la raíz (Roveda & Polo, 2007). Wright et al. (2005) reportaron concentraciones mayores de carbohidratos solubles en las raíces micorrizadas de maíz. Después del periodo de establecimiento, normalmente, inicia el mecanismo de transporte de nutrientes a la planta y el concomitante incremento en biomasa. Resultados semejantes se encontraron en plantas de *Acacia farnesiana* (L.) Willd. y *Prosopis glandulosa* Torr. inoculadas con *G. intraradices* FS-18 (Hernández-Martínez, Cetina-Alcalá, González-Chávez, & Cervantes-Martínez, 2006).

the biofertilized treatments. The presence of other mycorrhizal fungi in the substrate, as part of the regional microbiota, is confirmed by the colonization percentages in the controls without biofertilization. In this regard, the number of spores should not be a limiting factor, but the lower induction in plant development with the endomicorrhiza contained in the substrate without biofertilizer suggests a differential effect in the ability to stimulate growth in cedar. Inoculation with *A. brasilense* promoted root colonization of the mycorrhizae contained in the substrate. The percentages were similar to those found with *R. intraradices* inoculation. Zambrano and Díaz (2008) indicate that bacteria selectively promoted the establishment of *Gmelina arborea* Roxb symbiosis with fungi. These results confirm the colonization ability of *R. intraradices*, as has also happened in other annual and perennial crops (Aguirre-Medina et al., 2006, 2007, 2011; Wright et al., 2005).

Table 2 shows the physiological variables evaluated in biofertilized and chemically fertilized *C. odorata*. Root dry weight showed the greatest variation in response to the biofertilized treatments. Root biomass increased when the microorganisms were individually applied. At the end of the evaluation, the greatest increase was obtained with *R. intraradices* and was double the root biomass of the control and about 40 % more than the other biofertilized treatments. The greater root growth may be related to the increase in some growth substances resulting from the symbiosis. Aguirre-Medina et al. (2011) report that the dry weight of the *C. arabica* root system increased by applying *G. intraradices* and *A. brasilense* alone and in combination.

Stem and leaf biomass show little variation during the initial samplings and the most contrasting response appeared at the end of the study. Stem dry weight was greater with *R. intraradices* and was statistically higher ($P \leq 0.05$) than the other treatments at 140 (dat) (Table 2). The lack of interaction among the treatments may be related to the demand for photosynthates by the microorganisms in the initial stage of their establishment. At this stage, carbohydrate availability for the stem decreases, since most of the compounds are required by the root (Roveda & Polo, 2007). Wright et al. (2005) reported higher concentrations of soluble carbohydrates in mycorrhizal roots of maize. After the establishment period, the mechanism for transporting nutrients to the plant and the concomitant increase in biomass normally starts. Similar results were found in plants of *Acacia farnesiana* (L.) Willd. and *Prosopis glandulosa* Torr. inoculated with *G. intraradices* FS-18 (Hernández-Martínez, Cetina-Alcalá, González-Chávez, & Cervantes-Martínez, 2006).

Leaf dry weight was contrasting due to the effect of microorganisms from 112 to 140 dat, but the greatest influence appeared at the end of the evaluation with *R. intraradices* (Table 2). Leaf area exhibits similarity to leaf dry biomass; in general, the response to the inoculation of the microorganisms over time showed statistical differences from 28 dat,

CUADRO 2. Variables fisiológicas de *Cedrela odorata* biofertilizada y fertilizada químicamente.

TABLE 2. Physiological variables of biofertilized and chemically fertilized *Cedrela odorata*.

Días / Days	Tratamiento/ Treatment	Peso seco (g.planta ⁻¹) / Dry weight (g.plant ⁻¹)			Área foliar (cm ² .planta ⁻¹) /
		Raíz / Root	Tallo / Stem	Hoja / Leaf	Leaf area (cm ² .plant ⁻¹)
28	Testigo / Control	0.007 a ^z	0.006 b	0.026 b	10.89 c
	15 _N -15 _P -15 _K	0.008 a	0.008 a	0.034 a	16.61 b
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	0.009 a	0.008 a	0.034 a	18.08 ab
	<i>Azospirillum brasilense</i>	0.009 a	0.009 a	0.034 a	19.28 a
	<i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i>	0.009 a	0.009 a	0.034 a	18.99 a
	<i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i> +15 _N -15 _P -15 _K	0.009 a	0.008 a	0.028 b	17.76 ab
	CV (%)	10.44	10.20	7.68	5.07
56	Testigo / Control	0.240 a	0.217 ab	0.885 a	377.87 a
	15 _N -15 _P -15 _K	0.162 c	0.207 bc	0.755 bc	358.53 ab
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	0.237 a	0.247 a	0.877 a	400.30 a
	<i>Azospirillum brasilense</i>	0.187 b	0.245 a	0.767 b	349.45 ab
	<i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i>	0.222 a	0.197 bc	0.730 bc	310.97 bc
	<i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i> +15 _N -15 _P -15 _K	0.165 bc	0.180 c	0.672 c	273.71 c
	CV (%)	5.20	6.37	5.38	8.43
84	Testigo / Control	1.032 c	1.015 ab	2.317 a	750.71 ab
	15 _N -15 _P -15 _K	1.265 a	0.895 b	2.280 a	642.04 b
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	1.067 bc	0.857 b	2.015 a	699.38 ab
	<i>Azospirillum brasilense</i>	1.262 a	1.205 a	2.275 a	759.72 a
	<i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i>	1.095 bc	1.112 ab	2.135 a	769.64 a
	<i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i> +15 _N -15 _P -15 _K	1.147 b	0.992 ab	2.262 a	709.46 ab
	CV (%)	4.08	13.40	10.58	6.89
112	Testigo / Control	5.075 ab	4.850 a	10.100 a	2,564.60 b
	15 _N -15 _P -15 _K	4.050 b	3.925 b	8.800 b	2,992.60 ab
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	4.650 ab	5.275 a	10.550 b	3,316.00 a
	<i>Azospirillum brasilense</i>	5.525 a	5.250 a	12.725 a	3,189.90 a
	<i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i>	4.475 ab	5.050 a	10.225 b	3,247.40 a
	<i>Rhizophagus</i> <i>Azospirillum</i> +15 _N -15 _P -15 _K	5.050 ab	5.200 a	8.750 b	3,071.00 ab
	CV (%)	11.24	5.46	9.15	8.85
140	Testigo / Control	5.157 c	7.337 c	10.985 d	2,931.60 d
	15 _N -15 _P -15 _K	5.930 bc	8.702 b	13.622 c	3,874.10 c
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	11.137 a	12.767 a	23.067 a	6,413.40 a
	<i>Azospirillum brasilense</i>	6.055 bc	8.657 b	11.867 cd	4,358.40 bc
	<i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i>	7.455 b	7.600 bc	12.740 cd	3,803.90 c
	<i>Rhizophagus</i> <i>Azospirillum</i> +15 _N -15 _P -15 _K	6.700 bc	8.602 b	16.427 b	4,702.50 b
	CV (%)	9.72	6.20	7.40	7.18

Medias con la misma letra por día y columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). CV: Coeficiente de variación.

Means with the same letter by day and column are equal according to Tukey's test ($P \leq 0.05$). CV: Coefficient of variation.

El peso seco de las hojas fue contrastante por efecto de los microorganismos de los 112 a los 140 ddt, pero la mayor influencia se presentó al final de la evaluación con *R. intraradices* (Cuadro 2). El área foliar presenta similitud con la biomasa seca de la hoja, en general, la respuesta a la inoculación de los microorganismos a través del tiempo presentó diferencias estadísticas desde los 28 ddt; este efecto fue semejante hasta los 112 ddt. Al final del estudio, la mayor área foliar del cedro se presentó con *R. intraradices* (Cuadro 2). Los beneficios de la simbiosis micorrízica sobre la inducción de mayor área foliar en la planta huésped se han encontrado en otras especies como *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh (Pereira, Sánchez, Rios, & Miguel, 2001) y *C. arabica* (Aguirre-Medina et al., 2011). Los resultados anteriores indican que la acumulación de materia seca en los órganos de la planta de *C. odorata* varía según el microorganismo aplicado y que su efecto también es diferencial a través del tiempo.

Con respecto a los nutrientes, la Figura 1 muestra los contenidos en *C. odorata* a los 140 ddt. El contenido de N fue mayor y estadísticamente diferente ($P \leq 0.05$) en los tratamientos biofertilizados. En otros estudios, la inoculación con hongos micorrízicos incrementó el contenido de N en el tejido vegetal de *A. graveolens* Jacq., *T. grandis*, *T. amazonica* (J. F. Gmel.) Excell, *G. arborea* (Hernández & Salas, 2009) y *C. arabica* (Aguirre-Medina et al., 2011). El contenido de P incrementó en los tratamientos con *R. intraradices* y fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo y al tratamiento fertilizado químicamente. Uno de los principales beneficios que las plantas reciben en simbiosis con los hongos micorrízicos es la aportación de P. Muchos estudios han demostrado que las plantas micorrizadas absorben P del suelo de manera más eficiente que las plantas no colonizadas (Aguirre-Medina & Kohashi-Shibata, 2002). Se han obtenido resultados semejantes en el incremento de absorción de P en plantas de *C. arabica* y *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze inoculadas con *G. intraradices* y *R. intraradices*, respectivamente (Aguirre-Medina et al., 2011; Moreira-Souza & Cardoso, 2002). De acuerdo con los resultados obtenidos, los microorganismos pueden facilitar el transporte de N y P en las plantas de cedro; cabe mencionar que es posible establecer que *R. intraradices* beneficia la reducción del uso de fertilizantes fosfatados en los viveros.

CONCLUSIONES

La biofertilización con *R. intraradices*, solo o en combinación con *A. brasilense*, promovió mayor crecimiento vegetal en los componentes morfológicos y fisiológicos del rendimiento de la planta de *C. odorata*. Los contenidos de N y P en el tejido vegetal del cedro incrementaron con la inoculación de los microorganismos solos o combinados.

REFERENCIAS

Aguirre-Medina, J. F., & Kohashi-Shibata, J. (2002). Dinámica de la colonización micorrízica y su efecto sobre los compo-

and this effect was similar until 112 dat. At the end of the study, the greatest cedar leaf area was presented with *R. intraradices* (Table 2). The benefits of mycorrhizal symbiosis in terms of inducing greater leaf area in the host plant have been found in other species such as *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh (Pereira, Sánchez, Rios, & Miguel, 2001) and *C. arabica* (Aguirre-Medina et al. 2011). The above results indicate that the accumulation of dry matter in the plant organs of *C. odorata* varies depending on the microorganism applied and that its effect is differential over time.

Figure 1 shows the nutrient contents in *C. odorata* at 140 dat. The N content was greater and statistically different ($P \leq 0.05$) in the biofertilized treatments. In other studies, inoculation with mycorrhizal fungi increased the N content in the plant tissue of *A. graveolens* Jacq., *T. grandis*, *T. amazonica* (J. F. Gmel.) Excell, *G. arborea* (Hernández & Salas, 2009) and *C. arabica* (Aguirre-Medina et al., 2011). The P content increased in the treatments with *R. intraradices* and was statistically different ($P \leq 0.05$) than the control and the chemically fertilized treatment. One of the main benefits that plants receive in symbiosis with mycorrhizal fungi is

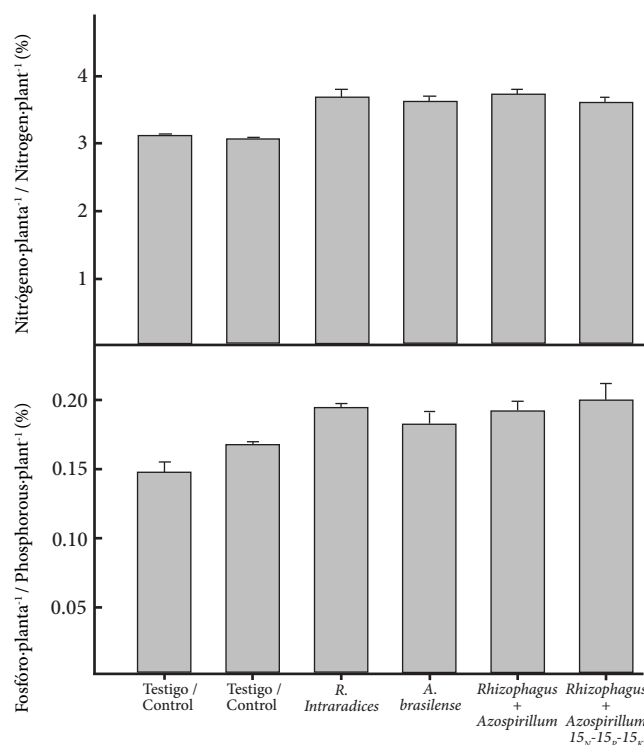


FIGURA 1. Variación del contenido de nitrógeno y fósforo en el tejido vegetal de *Cedrela odorata* a los 140 días después del tratamiento. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$). Error estándar de la media ($n = 5$). Coeficiente de Variación: N = 5.3 %, P = 4.4 %.

FIGURE 1. Variation in nitrogen and phosphorus content in plant tissue of *Cedrela odorata* at 140 days after treatment. Different letters indicate statistically significant differences ($P \leq 0.05$). Standard error of the mean ($n = 5$). Coefficient of Variation: N = 5.3 %, P = 4.4 %.

- nentes del rendimiento y el contenido de fósforo en frijol común. *Agricultura Técnica en México*, 28 (1), 23–33. Obtenido de <http://www.inifap.gob.mx/SitePages/revistas/rmca.aspx>
- Aguirre-Medina, J. F. (2006). Biofertilizantes microbianos: Experiencias agronómicas del programa nacional del INIFAP en México. México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias-Centro de Investigaciones Regionales Pacífico Sur-Campo Experimental Rosario Izaapa. Obtenido de <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/handle/123456789/3633>
- Aguirre-Medina, J. F., Mendoza-López, A., Cadena-Iñiguez, J., & Avendaño-Arrazate C. H. (2007). La biofertilización del cacao (*Theobroma cacao* L.) en vivero con *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Döbereiner y *Glomus intraradices* Schenk et Smith. *Interciencia*, 32(8), 1–6. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33932808>
- Aguirre-Medina, J. F., Moroyoqui-Ovilla, D. M., Mendoza-López, A., Cadena-Iñiguez, J., Avendaño-Arrazate, C. H., & Aguirre-Cadena, J. F. (2011). Aplicación de *A. brasilense* y *G. intraradices* a *Coffea arabica* en vivero. *Agronomía Mesoamericana*, 22(1), 1–10. Obtenido de http://www.mag.go.cr/rev_mesov22n01_071.pdf
- Aguirre-Medina, J. F., Aguirre-Cadena, J. F., Cadena-Iñiguez, J., & Avendaño-Arrazate, C. H. (2012). Biofertilización en plantas de la selva húmeda tropical. México: Colegio de Postgraduados.
- Barea, J. M., Azcón, R., & Azcón-Aguilar, C. (2002). Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 81(1-4), 343–351. Obtenido de <http://bashanis.org/barea/bareafitness.pdf>
- Galán, L. R., De los Santos, P. H. M., & Valdez, H. J. I. (2008). Crecimiento y rendimiento de *Cedrela odorata* L. y *Tabebuia donnell-smithii* Rose en San José Chacalapa, Pochutla, Oaxaca. *Madera y Bosques*, 14(2), 65–82. Obtenido de <http://www.redalyc.org/pdf/617/61711316006.pdf>
- Grajales, M., De la Piedra, R., & López, J. (2008). Diagnóstico biofísico y socioeconómico de la parte media y alta de la subcuenca Cohatán en el Soconusco, Chiapas. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 12(1), 29–44. Obtenido de <http://www.ucol.mx/revaia/portal/pdf/2008/enero/2.pdf>
- Hernández, W., & Salas, E. (2009). La inoculación con *Glomus fasciculatum* en el crecimiento de cuatro especies forestales en vivero y campo. *Agronomía Costarricense*, 33(1), 17–30. Obtenido de <http://www.latindex.ucr.ac.cr/agrocostar-33-1/agrocostar-33-1-02.pdf>
- Hernández-Martínez, M., Cetina-Alcalá, V. M., González-Chávez, M. C., & Cervantes-Martínez, C. T. (2006). Inoculación micorrízica y su efecto en el crecimiento de dos leguminosas arbóreas. *Terra Latinoamericana*, 24(1), 65–73. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57311494008&idp=1&cid=2815540>
- Hungria, M., Campo, R. J., Souza, E. M., & Pedrosa, F. O. (2004). Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant and Soil*, 331, 413–425. doi: 10.1007/s11104-009-0262-0
- the contribution of P. Many studies have shown that mycorrhizal plants absorb P from the soil more efficiently than non-colonized plants (Aguirre-Medina & Kohashi-Shibata, 2002). Similar increases in P absorption have been obtained in plants of *C. arabica* and *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze inoculated with *G. intraradices* and *R. intraradices*, respectively (Aguirre-Medina et al., 2011; Moreira-Souza & Cardoso, 2002). Based on the results, microorganisms can facilitate N and P transport in cedar plants; it should be noted that it is possible to establish that *R. intraradices* helps reduce the need for phosphate fertilizers in nurseries.

CONCLUSIONS

Biofertilization with *R. intraradices*, alone or combined with *A. brasilense*, promoted greater plant growth in the morphological and physiological yield components of the *C. odorata* plant. The N and P contents in the plant tissue of cedar increased with the inoculation of the microorganisms alone or combined.

End of English Version

- Leigh, J., Hodge, A., & Fitter, A. H. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material. *New Phytologist*, 181, 199–207. doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02630.x
- Moreira-Souza, M., & Cardoso, E. J. B. N. (2002). Dependência micorrízica de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. sob doses de fósforo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 26(4), 905–912. Obtenido de www.redalyc.org/pdf/1802/180218306008.pdf
- Pereira, G., Sanchez, M., Rios, D., & Miguel, A. H. (2001). Micorrizas vesículo arbusculares y su incidencia en el crecimiento de plántulas de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnn. *Bosque*, 22(2), 39–44. Obtenido de <http://mingaonline.uach.cl/pdf/bosque/v22n2/art04.pdf>
- Phillips, J. M., & Hayman, D. J. (1970). Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55, 158–161. doi: 10.1016/S0007-1536(70)80110-3
- Roveda, R., & Polo, C. (2007). Mecanismos de adaptación de maíz asociado a *Rhizophagus* spp. en suelos con bajo fósforo disponible. *Agronomía Colombiana*, 25(2), 349–356. Obtenido de <http://www.redalyc.org/pdf/1803/180320296019.pdf>
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2005). Indicadores básicos del desempeño ambiental de México: 2005. Proyecto PNUD-SEMARNAT. México, D. F.: Autor. Consultado 12-02-13 en <http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/indicadores04/index.htm>
- Statistical Analysis System (SAS). (1999-2000). SAS/STAT user's Guide: Ver 8.1. Cary NC, USA: SAS Institute Inc.
- Sylvia, M. D. (2005). Mycorrhizal symbioses. In M. D. Sylvia, J. J. Fuhrmann, G. P. Harte, & A. D. Zuberer (Eds.), *Principles*

- and applications of soil microbiology (pp. 263–282, 2nd ed.). New Jersey, USA. Pearson Prentice Hall.
- Wright, D. P., Scholes, J. D., Read, D. J., & Rolfe, S. A. (2005). European and African maize cultivars differ in their physiological and molecular responses to mycorrhizal infection. *New phytologist*, 167, 881–896. doi.10.1111/j.1469-8137.2005.01472.x
- Zambrano, J. A., & Díaz, L. A. (2008). Efecto de la inoculación de *Azospirillum brasilense* y *Glomus* sp. en *Gmelina arborea* durante su germinación y manejo en vivero. *Universitas Scientiarum*, 13(2), 162–170. Obtenido de <http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/scientarium/article/view/1420/882>