



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN
PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL UNIDAD
OAXACA**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE
RECURSOS NATURALES**

ESPECIALIDAD EN PROTECCIÓN Y PRODUCCIÓN VEGETAL

**“Coinóculos bacterianos solubilizadores de fosfato y su efecto en el desarrollo de
maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.)”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA:

NELLY FERNÁNDEZ TÉLLEZ

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MARTHA ANGÉLICA BAUTISTA CRUZ

Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca

Junio de 2016



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

SECRETARIA DE INVESTIGACION Y POSGRADO

ACTA DE REVISION DE TESIS

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez siendo las 13:00 horas del día 12 del mes de mayo del 2016 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación del **Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca** (CIIDIR-OAXACA) para examinar la tesis de grado titulada: "Coinóculos bacterianos solubilizadores de fosfato y su efecto en el desarrollo de maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.)

Presentado por la alumna:

Fernández

Apellido paterno

Téllez

materno

Nelly

nombre(s)

Con registro:

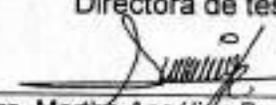
A	1	4	0	0	1	5
---	---	---	---	---	---	---

aspirante al grado de: **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES**

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

LA COMISION REVISORA

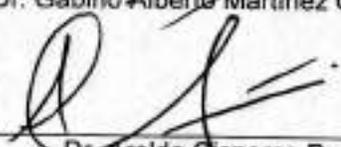
Directora de tesis


Dra. Martha Angélica Bautista Cruz


Dra. Yolanda Connal Ortiz Hernández


Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez


Dr. Teodulfo Aquino Bolaños


Dr. Aroldo Cisneros Peña

EI PRESIDENTE DEL COLEGIO


Dr. Salvador Isidro Belmonte Jiménez



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACION PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
I.P.N.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez el día del mes de del año 2016, el (la) que suscribe **Fernández Téllez Nelly** alumno (a) del Programa de **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES** con número de registro A140015, adscrito al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Martha Angélica Bautista Cruz y cede los derechos del trabajo titulado, "Coinóculos bacterianos solublizadores de fosfato y su efecto en el desarrollo de maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.)", al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección **Calle Hornos 1003, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca**, e-mail: posgradoox@ipn.mx ó nellyfdz.oyamel@gmail.com se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


Fernández Téllez Nelly



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACION PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD OAXACA
I.P.N.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por brindarme el apoyo económico para realizar este trabajo.

Al CIIDIR-Unidad Oaxaca por permitirme cursar la maestría y ayudar en el crecimiento de mi formación profesional.

A la Dra. Martha Angélica Bautista Cruz por su apoyo, orientación, enseñanza y su paciencia en todo momento.

A la M. en C. Verónica del Carmen Martínez Gallegos por guiarme y adiestrarme en las técnicas del laboratorio y el uso de los equipos.

A los miembros del comité revisor de tesis:

Dra. Yolanda Donají Ortiz Hernández

Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez

Dr. Teodulfo Aquino Bolaños

Dr. Aroldo Cisneros Peña

por su tiempo y sus valiosas aportaciones, observaciones, correcciones y sugerencias en el escrito.

A mi papa, mi mama y a Carmela por su gran ayuda.

A todos aquellos que de alguna manera colaboraron conmigo para hacer posible la realización y culminación de este trabajo.

RESUMEN

En este estudio se determinó cuantitativamente *in vitro* la capacidad solubilizadora de fosfato de 15 coinóculos formados por bacterias nativas aisladas previamente de la rizósfera de maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) y se evaluó el efecto de la aplicación de estos coinóculos en etapas tempranas de desarrollo y crecimiento de este maguey en una mezcla de suelo nativo cultivado con esta planta y sustratos orgánicos (turba *Sphagnum* de la marca Premier o bagazo compostado de maguey espadín) bajo condiciones de invernadero. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorio bifactorial (16×2) con 32 tratamientos. Los factores evaluados fueron (i) coinóculo y, (ii) sustrato, cada tratamiento incluyó tres repeticiones y 5 repeticiones cada uno de los controles, en total fueron 100 unidades experimentales. Los coinóculos aplicados a cada uno de los sustratos fueron: C1=*Enterobacter* sp. 1+*Pseudomonas* sp. 1; C2=*Enterobacter* sp. 1+*Bacillus* sp.; C3=*Enterobacter* sp. 1+*Pseudomonas* sp. 2; C4=*Enterobacter* sp. 1+*Enterobacter* sp. 2; C5=*Enterobacter* sp. 1+*Acinetobacter* sp.; C6=*Pseudomonas* sp. 1+*Bacillus* sp.; C7=*Pseudomonas* sp. 1+*Pseudomonas* sp. 2; C8=*Pseudomonas* sp. 1+*Enterobacter* sp. 2; C9=*Pseudomonas* sp. 1+*Acinetobacter* sp.; C10=*Enterobacter* sp. 2+*Acinetobacter* sp.; C11=*Bacillus* sp.+*Pseudomonas* sp. 2; C12=*Enterobacter* sp. 2+*Bacillus* sp.; C13=*Acinetobacter* sp.+*Bacillus* sp.; C14=*Enterobacter* sp. 2+*Pseudomonas* sp. 2; C15=*Acinetobacter* sp.+*Pseudomonas* sp. 2 y C= control (sin inocular). La mayor cantidad de P solubilizado en el filtrado del cultivo bacteriano se detectó con C9 cuando se utilizó fosfato tricálcico como fuente insoluble de fosfato, mientras que la mayor cantidad de P mineralizado se registró con C9 y C13 cuando se empleó β-glicerolfosfato como fuente orgánica de fosfato. La aplicación de coinóculos bacterianos solubilizadores de fosfato nativos en plantas de maguey espadín incrementó la biomasa aérea fresca y seca, la biomasa radicular fresca y seca y los sólidos solubles en el tallo (°Bx). La aplicación de estos coinóculos también tuvo un efecto positivo en algunas variables bioquímicas como actividad de fosfatasa ácida y alcalina, pH y P disponible de los sustratos evaluados. Sin embargo, la interacción significativa sustrato×coinóculo sugirió que la efectiva colonización de la rizósfera por los coinóculos bacterianos solubilizadores de fosfato y su efecto en el

desarrollo y crecimiento de plantas de maguey espadín estuvo influenciada por el tipo de sustrato. Variables como biomasa aérea seca (77.27 g), P disponible (130.25 mg kg⁻¹), °Bx (28.33%), fosfatasa ácida (739.97 µg de p-nitrofenol g⁻¹ h⁻¹) y fosfatasa alcalina (455.2 µg de p-nitrofenol g⁻¹ h⁻¹) presentaron los valores más altos en el sustrato bagazo compostado/suelo nativo con los coinóculos C1, C6, C3, C7 y C12 respectivamente. Por lo que, se sugiere confirmar el efecto positivo de estos coinóculos bacterianos solubilizadores de fosfato tanto en el cultivo de maguey espadín como en la fertilidad del suelo en condiciones de campo.

Palabras clave: *Agave angustifolia* Haw., bagazo compostado de maguey espadín, coinóculos bacterianos solubilizadores de fosfato, crecimiento vegetal.

ABSTRACT

In this study it was made a quantitative assessment *in vitro* of solubilizing phosphate capacity of 15 dual bacteria strains formed by native bacteria previously isolated from the rhizosphere of “maguey espadín” (*Agave angustifolia* Haw.). It was also evaluated the effect of the application of these dual bacteria strains in early stages of development and growth of the maguey plants in a mixture of native soil planted with “maguey espadín” and organic substrates (peatmoss *Sphagnum* Premier or composted “maguey espadín” bagasse) under greenhouse conditions. A completely randomized bifactorial (16×2) experimental design was used with 32 treatments. The evaluated factors were (i) coinoculate and, (ii) substrates, each treatment included three replicates and the controls had 5 repetitions, in total there were 100 experimental units. The treatments for both substrates were: C1=*Enterobacter* sp. 1+*Pseudomonas* sp. 1; C2=*Enterobacter* sp. 1+*Bacillus* sp.; C3=*Enterobacter* sp. 1+*Pseudomonas* sp. 2; C4=*Enterobacter* sp. 1+*Enterobacter* sp. 2; C5=*Enterobacter* sp. 1+*Acinetobacter* sp.; C6=*Pseudomonas* sp. 1+*Bacillus* sp.; C7=*Pseudomonas* sp. 1+*Pseudomonas* sp. 2; C8=*Pseudomonas* sp. 1+*Enterobacter* sp. 2; C9=*Pseudomonas* sp. 1+*Acinetobacter* sp.; C10=*Enterobacter* sp. 2+*Acinetobacter* sp.; C11=*Bacillus* sp.+*Pseudomonas* sp. 2; C12=*Enterobacter* sp. 2+*Bacillus* sp.; C13=*Acinetobacter* sp.+*Bacillus* sp.; C14=*Enterobacter* sp. 2+*Pseudomonas* sp. 2; C15=*Acinetobacter* sp.+*Pseudomonas* sp. 2 y C=uninoculated control. The results showed that higher P solubilized in the filtrate of the bacterial culture was detected with C9 when tricalcium phosphate was used as insoluble phosphate source, while the highest amount of mineralized P registered with C9 and C13 when used β -glycerolphosphate as organic source of phosphate. The “maguey espadín” co-inoculated plants increased fresh and dry aerial weight, fresh and dry root weight and soluble solids in the stem ($^{\circ}$ Bx). The application of the co-inoculations also had a positive effect on some biochemical variables such as activity of acid and alkaline phosphatase, pH and available P uptaken in substrates. However, significant interaction between the factors (substrate×coinoculates) suggested that the effective colonization of the rhizosphere by dual bacteria strains with phosphate solubilizing capacity and its effect on the development and growth of “maguey espadín” plants was influenced by the

type of substrate. Variables like dry aerial weight (77.27 g), available P uptaken (130.25 mg kg⁻¹), ° Bx (28.33%) and acid phosphatase (739.97 µg de p-nitrofenol g⁻¹ h⁻¹) and alkaline phosphatase (455.2 µg de p-nitrofenol g⁻¹ h⁻¹) showed the highest values in the substrate composted by “maguey espadín” bagasse/native soil with C1, C6, C3, C7 and C12 dual bacteria strains, respectively. Based in this results it is suggested to confirm the positive effect of these phosphate solubilizing dual bacteria strains in growing of “maguey espadín” and soil fertility under field conditions.

Keywords: *Agave angustifolia* Haw., “maguey espadín” composted bagasse, phosphate solubilizing dual bacteria strains, plant growth.

ÍNDICE

Capítulos	pág.
RESUMEN	
ABSTRACT	
ÍNDICE DE CUADROS	9
ÍNDICE DE FIGURAS	11
I. INTRODUCCIÓN	12
II. ANTECEDENTES	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1 Determinación cuantitativa <i>in vitro</i> de la capacidad solubilizadora de fosfato de coinóculos bacterianos	17
3.1.1 Pruebas de antagonismo	17
3.1.2 Evaluación <i>in vitro</i> de la capacidad solubilizadora de fosfato inorgánico y orgánico de los coinóculos bacterianos	19
3.2 Efecto de la aplicación de coinóculos bacterianos solubilizadores de fosfato en el desarrollo y crecimiento de plantas maguey espadín bajo condiciones de invernadero	20
3.2.1 Variables biométricas	23
3.2.2 Variables bioquímicas	23
3.3 Análisis estadístico	23
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
4.1 Determinación cuantitativa <i>in vitro</i> de la capacidad solubilizadora de fosfato de coinóculos bacterianos	25
4.1.1 Pruebas de antagonismo	25
4.1.2 Evaluación <i>in vitro</i> de la capacidad solubilizadora de fosfato inorgánico y orgánico de los coinóculos bacterianos	26

4.2 Efecto de la aplicación de coinóculos bacterianos solubilizadores de fosfato en el desarrollo y crecimiento de maguey espadín bajo condiciones de invernadero	29
4.2.1 Variables biométricas	29
4.2.2 Variables bioquímicas	36
V. CONCLUSIONES	44
VI. LITERATURA CITADA	45

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Parámetros físicos y químicos de sustratos compuestos por una mezcla de materiales orgánicos y minerales.	22
Cuadro 2. Coinóculos bacterianos solubilizadores de fosfato aplicados a plantas de maguey espadín (<i>Agave angustifolia</i> Haw.) en una mezcla de suelo/sustrato orgánico bajo condiciones de invernadero.	22
Cuadro 3. Determinación cuantitativa <i>in vitro</i> de la capacidad solubilizadora de fosfato tricálcico de los coinóculos en el filtrado de los cultivos bacterianos.	26
Cuadro 4. Fósforo mineralizado y actividad de fosfatasa de los coinóculos bacterianos cuando se empleó β -glicerolfosfato como fuente de fosfato orgánico.	28
Cuadro 5. Respuesta en la biomasa (media \pm error estándar) de plantas de maguey espadín (<i>Agave angustifolia</i> Haw.) a la coinoculación con bacterias solubilizadoras de fosfato desarrolladas en sustrato de turba/suelo nativo bajo condiciones de invernadero.	30
Cuadro 6. Respuesta en las variables biométricas (media \pm error estándar) de plantas de maguey espadín (<i>Agave angustifolia</i> Haw.) a la coinoculación con bacterias solubilizadoras de fosfato desarrolladas en sustrato de turba/suelo nativo bajo condiciones de invernadero.	31
Cuadro 7. Respuesta en la biomasa (media \pm error estándar) de plantas de maguey espadín (<i>Agave angustifolia</i> Haw.) a la coinoculación con bacterias solubilizadoras de fosfato desarrolladas en sustrato de bagazo compostado/suelo nativo bajo condiciones de invernadero.	33
Cuadro 8. Respuesta en las variables biométricas (media \pm error estándar) de plantas de maguey espadín (<i>Agave angustifolia</i> Haw.) a la coinoculación con bacterias solubilizadoras de fosfato desarrolladas en sustrato de bagazo compostado/suelo nativo bajo condiciones de invernadero.	34

- Cuadro 9. Efecto de la coinoculación de bacterias solubilizadoras de fosfato sobre algunas variables bioquímicas (media \pm error estándar) en un sustrato de turba/suelo nativo cultivado con maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) bajo condiciones de invernadero. 37
- Cuadro 10. Efecto de la coinoculación de bacterias solubilizadoras de fosfato sobre algunas variables bioquímicas (media \pm error estándar) en un sustrato de bagazo compostado/suelo nativo cultivado con maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) bajo condiciones de invernadero. 38
- Cuadro 11. Efecto de la interacción sustrato \times coinóculo en variables bioquímicas (media \pm error estándar) en sustratos órgano-minerales cultivados con maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) bajo condiciones de invernadero. 41
- Cuadro 12. Efecto de la interacción sustrato \times coinóculo en la actividad de fosfatasa (media \pm error estándar) en sustratos órgano-minerales cultivados con maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) bajo condiciones de invernadero. 42
- Cuadro 13. Efecto de la interacción sustrato \times coinóculo en variables biométricas (media \pm error estándar) de plantas de *Agave angustifolia* Haw. en sustratos órgano-minerales bajo condiciones de invernadero. 43

ÍNDICE DE FIGURAS

- Fig. 1. Pruebas de antagonismo entre cepas bacterianas solubilizadoras de fosfato aisladas previamente de la rizósfera de maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.). 18
- Fig. 2. Pre-coinóculos bacterianos con capacidad fosfato solubilizadora obtenidos a partir de cepas individuales. 18
- Fig. 3. a) Inoculación de 5 ml de pre-coinóculo en caldo nutritivo. b) Incubación del pre-coinóculo en una incubadora-agitadora. 18
- Fig. 4. Hijuelos rizomatosos de maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) sembrados en arena solarizada para la formación de callos y raíces nuevas. 20
- Fig. 5. a) Parcela cultivada con maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) en la localidad de Matatlán, Tlacolula (Oaxaca) donde se colecto el suelo. b) Bolsas con la mezcla de suelo/sustrato orgánico. 21
- Fig. 6. Pruebas de antagonismo entre 6 cepas bacterianas solubilizadoras de fosfato aisladas de la rizósfera de *Agave angustifolia* Haw. 25

I. INTRODUCCIÓN

Las fuentes principales de fósforo (P) en el suelo son la mineralización de la materia orgánica (MO) y el intemperismo del material parental (Sanzano, 2003). Este elemento ha sido llamado “la llave de la vida” porque está directamente implicado en la mayoría de los procesos vitales de las plantas, con tendencia a concentrarse en las semillas y zonas de crecimiento (Acosta, 2008). El P se considera un factor limitante para el desarrollo vegetal, a pesar de ser abundante tanto en formas inorgánicas como orgánicas, es un elemento de baja disponibilidad para las plantas (Sanzano, 2003; Negrín, 2005), debido a su precipitación como fosfatos insolubles de hierro, aluminio, magnesio y calcio (Rodríguez y Ramírez, 2010).

Algunas rizobacterias con capacidad fosfato solubilizadora producen ácidos orgánicos capaces de solubilizar los fosfatos inorgánicos que forman compuestos insolubles con los cationes del suelo (Goldstein, 2007), mientras que otras son más activas en la liberación de P contenido en los fosfatos orgánicos mediante la producción de fosfatasas (Osorio-Vega, 2007). Estos ácidos y enzimas ayudan a disminuir el costo metabólico de la planta para aprovechar las fuentes de P insoluble y recalcitrante (Giles *et al.*, 2014).

En México el género *Agave* es muy importante, económica y culturalmente y su uso es muy amplio, uno de los usos más conocidos es la producción de mezcal (García, 2007). El sistema de producción Maguey-Mezcal a nivel nacional involucra nueve entidades federativas consideradas en la denominación de origen mezcal: Oaxaca, Guerrero, San Luis Potosí, Zacatecas, Durango, Guanajuato, Tamaulipas, Michoacán y Puebla (Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial, 2015).

En las zonas semiáridas del estado de Oaxaca (México) se cultivan aproximadamente 8 422.7 hectáreas con maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.), el cual se utiliza como ingrediente básico en la producción de mezcal, una bebida alcohólica tradicional oaxaqueña (Oficina Estatal de Información para el Desarrollo

Rural Sustentable de Oaxaca, 2011). Bautista-Cruz *et al.* (2007) reportaron las condiciones de fertilidad de los suelos cultivados con maguey espadín en el distrito de Tlacolula, de acuerdo a las condiciones topográficas de los agrosistemas y a la edad de las plantas concluyeron que, en general, los suelos son pobres en MO, nitrógeno (N) y P, dos de los elementos más importantes para el desarrollo vegetal (Olaleye *et al.*, 2012). El fenómeno de precipitación y fijación de P en el suelo es altamente dependiente del pH y del tipo de suelo, las características de los suelos cultivados con maguey espadín sugieren que el P probablemente es fijado por el ión calcio, formando fosfatos de calcio insolubles (Fernández y Rodríguez, 2005).

Bautista-Cruz *et al.* (2015) reportaron que una opción con alto potencial agroecológico para tratar de incrementar la disponibilidad de P para el cultivo de maguey espadín y contrarrestar los efectos colaterales causados por los fertilizantes minerales puede ser el empleo de bacterias solubilizadoras de fosfato (BSF). Estos autores encontraron un efecto positivo de la inoculación individual de BSF en el crecimiento de maguey espadín y en el contenido de P disponible en el suelo. La aplicación de inóculos compuestos por dos o más cepas bacterianas, conocidos también como inóculos bacterianos multicepa o coinóculos, es más eficiente en la estimulación del crecimiento de la planta comparado con la inoculación bacteriana individual también denominada unicepa (Perveen *et al.*, 2002; Martins *et al.*, 2004; Lara y Negrete, 2015).

Por otra parte, los subproductos agroindustriales constituyen un problema de residuos en gran parte del mundo, contaminan el agua, suelo y atmósfera, además ponen en riesgo la salud humana y el nicho de muchas especies animales y vegetales, un ejemplo de estos residuos es el bagazo que se produce en la industria del mezcal (Robles, 2011). Martínez *et al.* (2012) mostraron que el bagazo de maguey compostado puede ser una alternativa de sustrato para el cultivo de tomate y melón, ya que presenta condiciones deseables para ser utilizado con ese fin, dando una posible solución al problema de contaminación por este subproducto agroindustrial.

Los objetivos de este estudio fueron (i) determinar cuantitativamente *in vitro* la capacidad solubilizadora de fosfato de coinóculos formados por bacterias nativas aisladas previamente de la rizósfera de maguey espadín y, (ii) evaluar el efecto de la aplicación de estos coinóculos en etapas tempranas de desarrollo y crecimiento de

magüey espadín, en una mezcla de suelo nativo cultivado con esta planta y sustratos orgánicos bajo condiciones de invernadero. La hipótesis planteada fue que la aplicación de coinóculos BSF aumenta la cantidad de P disponible y favorece el desarrollo y el crecimiento de magüey espadín.

II. ANTECEDENTES

El uso de inóculos microbianos como biofertilizantes para aumentar la disponibilidad de P en el suelo es tema de múltiples investigaciones. Esta práctica se considera una alternativa amigable para el aumento de la fertilidad del suelo (Seema *et al.*, 2013).

Rfaki *et al.* (2014) aislaron varias cepas bacterianas de la rizósfera de campos cultivados con leguminosas (*Vicia faba* L., *Cicer arietinum* L. y *Pisum sativum* L.) en la región de Meknes en Marruecos y probaron su capacidad de solubilización de fosfato *in vitro*. Los resultados revelaron que las cepas *Pantoea brenneri* y *Enterobacter cowanii*, fueron las más eficientes para solubilizar fosfatos, así como para fijar N y la producir ácido indol-acético y sideróforos.

Bautista-Cruz *et al.* (2015) evaluaron el efecto de la inoculación unicepa de bacterias nativas con capacidad fosfato solubilizadora en plantas de maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) bajo condiciones de invernadero. Los resultados mostraron que las plantas inoculadas registraron un aumento en la biomasa aérea seca y la biomasa total de la planta en un 12.1% y 10.9% respectivamente, la biomasa radicular seca en un 17.8%, la longitud de la raíz en un 56.8%, el diámetro del tallo en un 13.6% y las hojas desplegadas en un 35.0% en comparación con el control sin inocular.

Existen trabajos que demuestran que el uso de coinóculos compuestos por dos o más especies de microorganismos pueden llegar a ser más eficientes que el uso de inóculos unicepa. Qureshi *et al.* (2011) realizaron un experimento que consistió en la coinoculación de cuatro cepas de *Bacillus* y *Rizhobium* para mejorar el rendimiento de *Vigna radiata* L., los resultados revelaron que esta inoculación multicepa incrementó el crecimiento de la planta y el rendimiento con respecto a las plantas no inoculadas.

Anamika *et al.* (2012) utilizaron cepas de *Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia cepacia* y *Aeromonas vaga* aisladas de la rizosfera de mijo perla (*Pennisetum glaucum* L.) para evaluar su capacidad solubilizadora de fosfato *in vitro* y

el efecto de la inoculación individual y en coinóculo en la germinación y crecimiento de semillas de *Phaseolus aureus* L. y *Sesamum indicum* L. Los resultados de las pruebas *in vitro* mostraron que la coinoculación aumentó la eficiencia de solubilización de fosfato con respecto a la inoculación individual, debido a un efecto sinérgico. *Pseudomonas fluorescens*+*Burkholderia cepacia* solubilizaron más P (161 mg l⁻¹), mientras que *Burkholderia cepacia*+*Aeromonas vaga* registraron los valores menores de pH (3.8) en el medio de cultivo. La aplicación de coinóculos bacterianos presentó una diferencia significativa con respecto al control y a la inoculación de cepas individuales en las variables altura del brote, longitud y peso seco de la raíz en las plantas.

Walpola y Yoon (2012) aplicaron un coinóculo formado por *Pantoea agglomerans*+*Burkholderia anthina* en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). La aplicación de este coinóculo promovió un aumento en la altura de la planta, el peso seco y fresco, la longitud de la raíz y el fósforo disponible en el suelo.

Lara y Negrete (2015) evaluaron el efecto de coinóculos formados por bacterias nativas de los géneros *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas* sp., *Pseudomonas luteola* y *Pantoea* sp. en pasto Angleton (*Dichanthium aristatum* Poir.). El coinóculo que mostró mayor eficiencia en la solubilización de fosfato fue el formado por las cepas de *Pantoea* sp.+*Pseudomonas* sp. Así mismo, este coinóculo presentó un incremento significativo en el peso seco y área foliar de pasto Angleton en comparación con el control.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Determinación cuantitativa *in vitro* de la capacidad solubilizadora de fosfato de coinóculos bacterianos

Se utilizaron 6 cepas de BSF, 2 del género *Enterobacter* sp., 2 del género *Pseudomonas* sp., 1 del género *Acinetobacter* sp. y 1 del género *Bacillus* sp., las cuáles se aislaron previamente de la rizósfera de maguey espadín, por el método de dilución en serie (Barragán *et al.*, 2003) de la muestra de suelo en agar Sundara Rao y Sinha (SRS) (Sundara y Sinha, 1969). Estas cepas se seleccionaron por su alta capacidad solubilizadora de fosfato *in vitro* (Martínez-Gallegos, 2014). La reactivación de estas 6 cepas se realizó mediante siembra masiva en agar SRS y se verificó su pureza mediante tinción de Gram.

3.1.1 Pruebas de antagonismo

Las cepas de BSF se sometieron a pruebas de antagonismo para verificar que no existiera inhibición entre ellas. Cada cepa se sembró en caldo nutritivo. A partir de estos cultivos se prepararon seis suspensiones bacterianas en solución salina al 0.85% con una concentración celular de 1.5×10^8 UFC ml⁻¹, de acuerdo a la escala de McFarland (1907). Cada suspensión bacteriana se inoculó en placas con agar Muller-Hinton mediante la técnica de difusión en agar (Beltrán *et al.*, 2005) y se colocaron discos estériles de papel filtro impregnado con la suspensión bacteriana a enfrentar. Como control se utilizaron discos impregnados con solución salina estéril al 0.85% (Fig. 1). Las placas se incubaron a 30 °C durante 48 h. Posteriormente se observó la presencia o ausencia de halos de inhibición de crecimiento. El criterio de eliminación de cepas se determinó por la presencia de halos de inhibición de crecimiento con diámetros mayores a 5 mm entre la cepa sembrada masivamente y la cepa enfrentada (Barragán *et al.*, 2003).

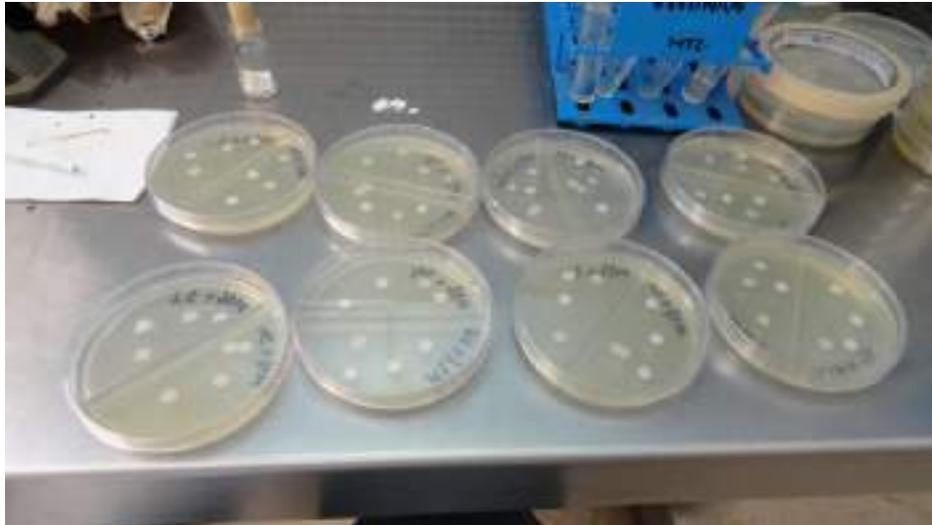


Fig. 1. Pruebas de antagonismo entre cepas bacterianas solubilizadoras de fosfato aisladas previamente de la rizósfera de maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.).

Para la obtención del pre-coinóculo se tomó 1 ml de cultivo bacteriano de cada cepa solubilizadora de fosfato no antagónica y se inoculó conjuntamente en caldo nutritivo. Se obtuvieron de 15 pre-coinóculos compuestos por dos cepas de BSF cada uno (Fig. 2).



Fig. 2. Pre-coinóculos bacterianos con capacidad fosfato solubilizadora obtenidos a partir de cepas individuales.

De cada pre-coinóculo se tomaron 5 ml y se inocularon en caldo nutritivo (Fig. 3a) para posteriormente incubarse a 30° C y 150 opm durante 48 h en una incubadora-agitadora (Fig. 3b).



Fig. 3. a) Inoculación de 5 ml de pre-coinóculo en caldo nutritivo. b) Incubación del pre-coinóculo en una incubadora-agitadora.

Transcurrido el tiempo de incubación el pre-coinóculo se centrifugó a 10,000 rpm durante 10 min. Para obtener el coinóculo final, el pellet obtenido por centrifugación se diluyó con solución salina al 0.85% hasta obtener una concentración celular de 15×10^8 UFC ml^{-1} de acuerdo con la escala de McFarland (1907).

3.1.2 Evaluación *in vitro* de la capacidad solubilizadora de fosfato inorgánico y orgánico de los coinóculos bacterianos

La capacidad solubilizadora de fosfato tricálcico *in vitro* de los coinóculos se determinó cuantitativamente mediante (i) la cantidad de P solubilizado, (ii) la producción de ácidos orgánicos y, (iii) el cambio en el pH del filtrado del cultivo bacteriano. Mientras que la liberación de P a partir de una fuente orgánica de fosfato (β -glicerolfosfato), se determinó mediante (i) la actividad de fosfatasa y, (ii) la cantidad de P mineralizado en el filtrado del cultivo bacteriano. Para ello se tomaron 2 ml del coinóculo y se colocaron en medio líquido SRS, se incubó a 30° C durante 7 días. Posteriormente los coinóculos se centrifugaron a 10,000 rpm durante 10 min. para eliminar la biomasa celular. El filtrado del cultivo bacteriano se empleó para determinar

la capacidad solubilizadora de fosfato. La cuantificación del P solubilizado se determinó a través del método colorimétrico de Olsen y Sommers (1982). La cuantificación de los ácidos orgánicos producidos se hizo de acuerdo al procedimiento establecido por Balamurugan *et al.* (2010). La actividad de fosfatasa se determinó por el procedimiento de Tabatabai y Bremner (1969). La medición del pH del medio de cultivo se realizó con un medidor digital de pH antes de la inoculación y después 7 días del desarrollo de los coinóculos BSF.

3.2 Efecto de la aplicación de coinóculos bacterianos solubilizadores de fosfato en el desarrollo y crecimiento de plantas maguey espadín bajo condiciones de invernadero

Las plantas de maguey espadín utilizadas fueron hijuelos rizomatosos que presentaron características similares en edad (aproximadamente 1 año), altura y libres de plagas y enfermedades. A las plantas de maguey se les eliminó la raíz y se desinfectaron mediante su inmersión durante cinco minutos en una solución de hipoclorito de sodio al 0.624%. Posteriormente se colocaron verticalmente con la base de su tallo sobre arena seca estéril durante una semana para que cicatrizaran. Las plantas de maguey desinfectadas y cicatrizadas se plantaron en arena húmeda estéril y se regaron ligeramente cada tercer día con agua purificada durante un periodo de un mes con la finalidad de generar callos y raíces nuevas (Fig. 4) (Arredondo *et al.*, 2005).



Fig. 4. Hijuelos rizomatosos de maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) sembrados en arena solarizada para la formación de callos y raíces nuevas.

La unidad experimental fue una planta de maguey espadín. Cada una de las unidades experimentales fue colocada en bolsas negras de polietileno con capacidad para 2 kg. Las bolsas se llenaron con sustrato, el cual fue una mezcla preparada en proporciones volumétricas (v/v) de 50% sustrato orgánico (turba *Sphagnum* de la marca Premier o bagazo compostado de maguey espadín) y 50% suelo nativo colectado *in situ* (Fig. 5.b) en una parcela cultivada con esta planta en la localidad de Matatlán, Tlacolula, Oaxaca (Fig. 5.a).



Fig. 5. a) Parcela cultivada con maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) en la localidad de Matatlán, Tlacolula (Oaxaca) donde se colecto el suelo. b) Bolsas con la mezcla de suelo/sustrato orgánico.

Antes del establecimiento de las plantas en invernadero se determinaron algunas propiedades físicas, químicas y bioquímicas de los sustratos (Cuadro 1). La metodología que se utilizó para la caracterización de los sustratos fue la sugerida por la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000 (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2002). Los parámetros evaluados fueron MO por el método de Walkey y Black (1954), el pH se determinó con un medidor digital de pH (relación suelo:agua, 1:2), el P disponible se determinó según el procedimiento modificado de Murphy-Riley (Olsen y Sommers, 1982), y la actividad de fosfatasa ácida y fosfatasa alcalina por el método de Tabatabai y Bremner (1969).

Cuadro 1. Parámetros físicos y químicos de sustratos compuestos por una mezcla de materiales orgánicos y minerales.

SUSTRATO	pH	Materia orgánica (%)	P disponible (mg kg ⁻¹)	Fosfatasa (µg de p-nitrofenol g ⁻¹ h ⁻¹)	
				alcalinas	ácidas
Turba/Suelo	5.9	36.02	5.54	357.65	113.95
Bagazo/Suelo	7.21	40.32	126.82	629.41	428.06

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorio bifactorial (16×2) con 32 tratamientos (Cuadro 2). Los factores evaluados fueron (i) coinóculo y, (ii) sustrato, cada tratamiento incluyó tres repeticiones y 5 repeticiones cada uno de los controles, en total fueron 100 unidades experimentales.

Cuadro 2. Coinóculos bacterianos solubilizadores de fosfato aplicados a plantas de maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) en una mezcla de suelo/sustrato orgánico bajo condiciones de invernadero.

Coinóculo	Bacterias solubilizadoras de fosfato	Repeticiones	
		Turba/Suelo	Bagazo/Suelo
C1	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 1	3	3
C2	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	3	3
C3	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	3	3
C4	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	3	3
C5	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	3	3
C6	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	3	3
C7	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	3	3
C8	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	3	3
C9	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	3	3
C10	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Acinetobacter</i> sp.	3	3
C11	<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	3	3
C12	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Bacillus</i> sp.	3	3
C13	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Bacillus</i> sp.	3	3
C14	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	3	3
C15	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	3	3
C	Control sin coinóculo	5	5

Se aplicaron 30 ml de cada coinóculo BSF por unidad experimental al momento de la siembra. El crecimiento de las plantas inoculadas ocurrió bajo condiciones de invernadero. La aplicación de los riegos se inició una semana después de haber establecido el experimento. Por cada unidad experimental se realizaron dos riegos semanales con 200 ml de agua purificada en la época donde las temperaturas del

invernadero oscilaban entre 15 y 25 °C y tres riegos en la temporada de estiaje, además se realizó un riego semanal con 50 ml de solución de Hoagland por planta, disminuyendo diez veces la concentración de P; para ello se modificó el volumen de la solución stock de KH_2PO_4 utilizada para la preparación de la solución final (Maynard y Hochmuth, 2007). El periodo de evaluación fue de 6 meses después del trasplante.

3.2.1 Variables biométricas

Las variables biométricas evaluadas al inicio del experimento y a los 6 meses después del trasplante fueron longitud de la raíz, diámetro del tallo con un vernier digital, altura de la planta, hojas desplegadas. Al término del periodo de evaluación, además de las variables anteriormente citadas, se midió el contenido de sólidos solubles en el tallo ($^{\circ}\text{Bx}$) con un refractómetro, la biomasa aérea y radicular fresca y seca.

3.2.2 Variables bioquímicas

En el sustrato se determinó al inicio y al final del experimento el contenido de P disponible mediante el procedimiento modificado de Murphy-Riley (Olsen y Sommers, 1982), el pH se determinó con un medidor digital de pH y la actividad de fosfatasa ácida y fosfatasa alcalina de acuerdo con el procedimiento sugerido por Tabatabai y Brenner (1969). El contenido de P foliar por el método vanadato-molibdato de amonio (Cottenie, 1984) se midió únicamente al finalizar el periodo de evaluación.

3.3 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de las variables biométricas se utilizaron las diferencias entre los datos iniciales y los finales. La distribución normal de los datos se verificó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y se transformaron cuando fue necesario para asegurar que presentaran una distribución normal; cabe destacar que aunque en los cuadros se presentan los valores reales, el análisis se realizó con los datos transformados (raíz cuadrada o \log_{10}). Además se realizó la prueba de Levene para asegurar la homocedasticidad. Posteriormente se sometieron a un análisis de varianza

(ANOVA) de dos vías para conocer el efecto de los factores (i) coinóculo y, (ii) sustrato, así como la interacción coinóculo×sustrato. La comparación de medias se realizó con la prueba de Duncan ($p<0.05$). La asociación entre las variables analizadas se determinó mediante un análisis de correlación de Pearson. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el paquete estadístico IBM SPSS para Windows XP, versión 22.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Determinación cuantitativa *in vitro* de la capacidad solubilizadora de fosfato de coinóculos bacterianos

4.1.1 Pruebas de antagonismo

De las 6 cepas de BSF evaluadas ninguna presentó halos de inhibición mayores a 5 mm (Fig. 6), por lo que no hubo un efecto antagónico entre ellas y resultaron compatibles para preparar los coinóculos bacterianos. Lo anterior indicó que no hubo ningún tipo de antibiosis, competencia por espacio o por nutrientes que impidiera el libre desarrollo de los microorganismos conjuntamente. Se obtuvieron 15 coinóculos BSF formados por dos cepas cada uno (Cuadro 3).



Fig. 6. Pruebas de antagonismo entre 6 cepas bacterianas solubilizadoras de fosfato aisladas de la rizósfera de *Agave angustifolia* Haw.

4.1.2 Evaluación *in vitro* de la capacidad solubilizadora de fosfato inorgánico y orgánico de los coinóculos bacterianos

La capacidad solubilizadora de fosfato de los coinóculos bacterianos determinada en el filtrado del cultivo reveló que los 15 coinóculos BSF tuvieron la capacidad de solubilizar fosfato tricálcico (Cuadro 3). La cantidad de P solubilizado por estos coinóculos varió de 245.6 a 500.7 mg l⁻¹ (Cuadro 3).

Cuadro 3. Determinación cuantitativa *in vitro* de la capacidad solubilizadora de fosfato tricálcico de los coinóculos en el filtrado de los cultivos bacterianos.

Coinóculo	Bacterias solubilizadoras de fosfato	pH	Acidez titulable (ml de NaOH consumido)	Fósforo solubilizado (mg l ⁻¹)
C1	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 1	4.76	11.03	445.77
C2	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	4.93	10.93	333.27
C3	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	5.26	8.13	265.14
C4	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	5.14	11.43	270.42
C5	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	5.26	10.03	390.32
C6	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	5.22	9.33	486.97
C7	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	5.19	6.23	245.60
C8	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	5.36	10.63	393.49
C9	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	5.43	8.33	500.70
C10	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Acinetobacter</i> sp.	5.26	8.13	486.44
C11	<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	5.18	4.03	443.66
C12	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Bacillus</i> sp.	5.24	6.53	335.65
C13	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Bacillus</i> sp.	5.31	7.43	445.77
C14	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	5.34	6.13	284.68
C15	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	5.16	9.73	278.87

Estos resultados son inferiores a los reportados por Lara y Negrete (2015) de 117 y 842 mg l⁻¹ de P solubilizado por consorcios BSF a una concentración de 10⁸ UFC ml⁻¹. Osorio y Lara (2013) indicaron valores de 602.6 mg l⁻¹ de P solubilizado en consorcios formados por *Pantoea* sp. y *Azotobacter* sp. a una concentración de 10⁶ UFC ml⁻¹. Martínez-Gallegos (2014) reportó valores de 9.2 a 67.0 mg l⁻¹ de P solubilizado por las cepas individuales de BSF empleadas para la preparación de los coinóculos evaluados en este estudio. Las bacterias en consorcios presentaron mayor solubilización de fosfato que aquéllas que se encontraban de manera individual debido a que los consorcios microbianos en muchos casos interactúan de manera sinérgica estimulando algunas

actividades físicas o bioquímicas de las bacterias involucradas en las mezclas (Lara y Negrete, 2015).

Todos los coinóculos disminuyeron el pH inicial del filtrado del cultivo bacteriano (6.67). Pero fue C1 (*Enterobacter* sp.1+*Pseudomonas* sp.1) el que registró el menor valor de pH (4.76). La estimación de la acidez titulable indicó que la producción de ácidos orgánicos fue más alta con C4, el cual incluyó dos cepas del género *Enterobacter* (Cuadro 3). La acidez titulable es la concentración total de iones H^+ que puede ser producida por diferentes compuestos como el ácido málico entre otros (Casierra-Posada y González, 2009). La producción de ácidos orgánicos debido a la inoculación con BSF se puede estimar indirectamente a través de la acidez titulable en el medio de cultivo (Walpola y Yoon, 2012). Las BSF son capaces de producir algunos ácidos orgánicos tales como ácido fórmico, láctico, glucénico, glicólico, oxálico, succínico, málico, cítrico, entre otros para solubilizar fosfatos inorgánicos (Lal, 2002). Especies del género *Pseudomonas* están asociadas a la producción de ácidos orgánicos, especialmente de glucosa a ácido glucónico por la ruta de oxidación directa, la cual está relacionada directamente con la acidificación del medio de cultivo (Naik *et al.*, 2008).

La mayor cantidad de P solubilizado a partir de fosfato tricálcico en el filtrado del cultivo bacteriano se detectó con C9 (*Pseudomonas* sp. 1+*Acinetobacter* sp.), seguido por C6 (*Pseudomonas* sp. 1+*Bacillus* sp.) y C10 (*Enterobacter* sp. 2+*Acinetobacter* sp.) (Cuadro 3). En este estudio la solubilización de fosfato tricálcico probablemente se debió a la producción de ácidos orgánicos por las BSF en el medio, ya que el contenido de P solubilizado coincidió con una disminución en el pH del filtrado del cultivo bacteriano (Cuadro 3). Estos ácidos orgánicos a través de sus grupos carboxílicos quelan los cationes (principalmente calcio) unidos a los grupos fosfato para su liberación a formas solubles (Dessureault-Rompré *et al.*, 2008; Oburger *et al.*, 2011).

La actividad de fosfatasa en el filtrado del cultivo bacteriano osciló entre 23.8 y 72.6 μg de *p*-nitrofenol $\text{ml}^{-1} \text{h}^{-1}$. La mayor cantidad de fosfatasa alcalina se observó con C9 (*Pseudomonas* sp. 1+*Acinetobacter* sp.) (Cuadro 4). El P orgánico constituye aproximadamente 50% del P total del suelo (Restrepo *et al.*, 2015). La mayoría de los compuestos de P orgánico en el suelo son fosfatos de inositol, fosfolípidos y ácidos nucleicos (Batkova *et al.*, 2015). Las fosfatasas cumplen una función muy importante

en la mineralización de este P orgánico (Yarzabal, 2010), ya que son las enzimas encargadas de catalizar la hidrólisis de ésteres y anhídridos de ácido fosfórico, para liberar formas de P inorgánico asimilables para la planta (Nahas, 2002). La cantidad de P mineralizado en el filtrado del cultivo bacteriano cuando se utilizó β -glicerolfosfato como fuente de fosfato orgánico varió de 2.3 a 9.2 mg l⁻¹ (Cuadro 4). La mayor cantidad de P mineralizado se registró con C13 (*Acinetobacter* sp.+*Bacillus* sp.) y C9 (*Pseudomonas* sp. 1+*Acinetobacter* sp.) (Cuadro 4). Ponmurugan y Gopi (2006) reportaron valores de P mineralizado en el filtrado del cultivo bacteriano de 24.8 a 44.0 mg l⁻¹ con inóculos unicepa BSF cuando se empleó β -glicerolfosfato como fuente de fosfato orgánico; dichos valores de P mineralizado en el filtrado del cultivo bacteriano fueron superiores a los reportados en este estudio.

Cuadro 4. Fósforo mineralizado y actividad de fosfatasa de los coinóculos bacterianos cuando se empleó β -glicerolfosfato como fuente de fosfato orgánico.

Coinóculo	Bacterias solubilizadoras de fosfato	Actividad de fosfatasas ($\mu\text{g de p-nitrofenol ml}^{-1}\text{h}^{-1}$)	Fósforo mineralizado (mg l ⁻¹)
C1	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 1	42.67	2.50
C2	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	65.33	2.33
C3	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	24.5	2.42
C4	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	32.17	2.46
C5	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	45	2.46
C6	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	31	2.38
C7	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp.	56	2.33
C8	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp.2	23.83	2.55
C9	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	72.67	9.16
C10	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Acinetobacter</i> sp.	61.83	2.38
C11	<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	60.17	6.15
C12	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Bacillus</i> sp.	50	5.30
C13	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Bacillus</i> sp.	33.33	9.16
C14	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	61.83	2.55
C15	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	38.17	4.44

4.2 Efecto de la aplicación de coinóculos bacterianos solubilizadores de fosfato en el desarrollo y crecimiento de maguey espadín bajo condiciones de invernadero

4.2.1 Variables biométricas

El 44% de las variables biométricas evaluadas en plantas de maguey espadín desarrolladas en el sustrato turba/suelo nativo respondieron positivamente a la aplicación de coinóculos BSF, presentando una diferencia significativa con respecto al control ($p < 0.05$). La biomasa aérea seca incrementó 82.3% con C4 (*Enterobacter* sp. 1+*Enterobacter* sp. 2), la biomasa radicular fresca y seca aumentaron 51.4% y 70.6%, respectivamente con C11 (*Bacillus* sp.+*Pseudomonas* sp. 2) (Cuadro 5). Los °Bx incrementaron 110.9% con C7 (*Pseudomonas* sp. 1+*Pseudomonas* sp. 2) (Cuadro 6).

Bouhraoua *et al.* (2015) también encontraron un aumento de 58% y 78% con respecto al control en la biomasa radicular seca en plantas de cacahuete (*Arachis hypogaea*) inoculadas con cepas de los géneros *Pseudomonas* y *Aeromonas* respectivamente.

Bautista-Cruz *et al.* (2015) no encontraron diferencia estadística significativa en los °Bx de plantas de *Agave angustifolia* Haw. inoculadas con las cepas BSF utilizadas en este experimento, pero de manera individual. En contraste, los resultados obtenidos en el actual trabajo mostraron un aumento del 110.9% en esta variable con respecto al control. Lo cual sugiere que existe un efecto sinérgico entre las cepas BSF que promueve una mayor eficiencia de los coinóculos con respecto a los inóculos unicepa.

Cuadro 5. Respuesta en la biomasa (media \pm error estándar) de plantas de maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) a la coinoculación con bacterias solubilizadoras de fosfato desarrolladas en sustrato de turba/suelo nativo bajo condiciones de invernadero.

Coinóculo	Bacterias solubilizadoras de fosfato	Biomasa aérea (g)		Biomasa radicular (g)	
		fresca	seca	fresca	seca
C1	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 1	313.22 \pm 25.58 a	55.24 \pm 5.85 abcde	34.37 \pm 4.19 def	16.34 \pm 1.69 de
C2	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	353.83 \pm 10.48 a	65.66 \pm 6.55 abc	91.18 \pm 28.62 abcd	34.89 \pm 2.22 abcd
C3	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	289.06 \pm 23.99 a	51.53 \pm 4.8 bcde	73.62 \pm 5.41 abcde	33.56 \pm 1.59 abcd
C4	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	332.85 \pm 40.84 a	71.9 \pm 2.98 a	108.75 \pm 26.14 ab	53.67 \pm 10.38 ab
C5	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	324.26 \pm 70.08 a	67.57 \pm 7.97 ab	101.5 \pm 48.04 abcd	49.93 \pm 23.33 abc
C6	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	254.4 \pm 41.71 a	39.43 \pm 4.86 e	30.89 \pm 7.62 ef	16.2 \pm 4.62 de
C7	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	255.71 \pm 29.49 a	41.79 \pm 4.28 de	55.52 \pm 8.63 abcdef	29.83 \pm 4.19 bcd
C8	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	282.2 \pm 22.79 a	48.12 \pm 2.56 cde	44.81 \pm 11.63 bcdef	20.99 \pm 7.28 cde
C9	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	287.26 \pm 64.24 a	46.16 \pm 12.63 de	66.65 \pm 48.47 cdef	21.73 \pm 11.57 de
C10	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Acinetobacter</i> sp.	292.44 \pm 25.89 a	59.12 \pm 3.32 abc	41.79 \pm 4.57 bcdef	18.55 \pm 2.98 cde
C11	<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	315.24 \pm 31.43 a	49.3 \pm 3.63 bcde	150.23 \pm 53.82 a	80.72 \pm 31.56 a
C12	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Bacillus</i> sp.	240.24 \pm 13.4 a	45.19 \pm 2.84 de	91.12 \pm 21.28 abcd	23.76 \pm 2.01 bcde
C13	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Bacillus</i> sp.	281.7 \pm 44.67 a	46.26 \pm 5.97 de	108.56 \pm 26.97 abc	49.06 \pm 13.67 ab
C14	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Pseudomonas</i> sp.2	279.49 \pm 32.42 a	50.49 \pm 5.31 bcde	103.8 \pm 20.34 abc	53.55 \pm 13.52 ab
C15	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp.2	268.82 \pm 31.84 a	42.01 \pm 6.44 de	25.37 \pm 2.05 f	15.82 \pm 1.51 de
C	Control sin coinóculo	246.75 \pm 24.7 a	39.44 \pm 4.12 e	26.07 \pm 2.93 f	12.42 \pm 1.43 e

Medias con letras iguales en una misma columna no presentan diferencia significativa entre los coinóculos (Duncan, $p < 0.05$)

Cuadro 6. Respuesta en las variables biométricas (media \pm error estándar) de plantas de maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) a la coinoculación con bacterias solubilizadoras de fosfato desarrolladas en sustrato de turba/suelo nativo bajo condiciones de invernadero.

Coinóculo	Bacterias solubilizadoras de fosfato	Hojas desplegadas	Altura de la planta	Longitud de la raíz	Diámetro de tallo	Sólidos solubles en el tallo
			(cm)			
C1	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 1	5.33 \pm 0.33 ab	4.01 \pm 0.36 a	8.96 \pm 0.74 a	11.32 \pm 1.22 c	18 \pm 2.08 bcd
C2	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	6.66 \pm 0.88 ab	3.75 \pm 1.36 a	18.03 \pm 2.11 a	24.08 \pm 1.04 ab	20.33 \pm 1.85 b
C3	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	5.33 \pm 0.33 ab	4.85 \pm 1.89 a	16.8 \pm 2.31 a	17.43 \pm 2.71 abc	18.66 \pm 1.45 bc
C4	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	5.66 \pm 0.66 ab	4.66 \pm 1.29 a	20.43 \pm 5.15 a	23.98 \pm 4.37 ab	11.66 \pm 0.66 fg
C5	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	4.33 \pm 1.45 b	4.85 \pm 0.45 a	17.86 \pm 9.06 a	17.73 \pm 1.92 abc	14.66 \pm 2.33 cdefg
C6	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	6.66 \pm 1.33 ab	7.53 \pm 0.84 a	15.2 \pm 5.1 a	14.73 \pm 5.23 bc	14.5 \pm 0.28 cdefg
C7	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	6.66 \pm 1.45 ab	2.28 \pm 0.53 a	12.26 \pm 7.88 a	13.11 \pm 2.39 bc	27 \pm 2.08 a
C8	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	7 \pm 2.08 ab	4 \pm 0.27 a	12.56 \pm 4.62 a	10.89 \pm 3.44 c	11.83 \pm 2.04 fg
C9	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	5.66 \pm 0.88 ab	3.63 \pm 0.57 a	17.83 \pm 8.45 a	8.71 \pm 3.15 c	16 \pm 0.57 bcdef
C10	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Acinetobacter</i> sp.	5.66 \pm 0.66 ab	4.03 \pm 1.66 a	16.4 \pm 5.73 a	17.5 \pm 3.91 abc	10 \pm 1.15 g
C11	<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	7.66 \pm 1.85 ab	4.9 \pm 1.91 a	15.66 \pm 6.48 a	19.77 \pm 1.4 abc	14.33 \pm 1.85 cdefg
C12	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Bacillus</i> sp.	9.66 \pm 1.45 a	4.56 \pm 2.7 a	14.33 \pm 6.01 a	19.84 \pm 5.38 abc	13.33 \pm 0.33 defg
C13	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Bacillus</i> sp.	7 \pm 0.57 ab	2.43 \pm 0.53 a	18.36 \pm 8.2 a	19.89 \pm 3.99 abc	17.66 \pm 0.88 bcde
C14	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	8 \pm 1.15 ab	4.18 \pm 1.63 a	20.36 \pm 3.96 a	20.69 \pm 2.76 abc	17.33 \pm 1.2 bcde
C15	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	9.33 \pm 1.66 a	4.76 \pm 2.59 a	11.8 \pm 2.85 a	9.27 \pm 8.74 c	15.66 \pm 1.85 bcdef
C	Control sin coinóculo	7.2 \pm 1.06 ab	7.55 \pm 1.45 a	12.68 \pm 2.04 a	29.98 \pm 1.65 a	12.8 \pm 1.31 efg

Medias con letras iguales en una misma columna no presentan diferencia significativa entre los coinóculos (Duncan, $p < 0.05$)

El 66% de las variables biométricas evaluadas en plantas de maguey espadín desarrolladas en el sustrato bagazo compostado/suelo nativo respondieron positivamente a la aplicación de coinóculos BSF, presentando diferencias significativas con respecto al control ($p < 0.05$). La biomasa aérea fresca y seca incrementaron 179.5% y 233.9% respectivamente con C1 (*Enterobacter* sp. 1 + *Pseudomonas* sp. 1), C8 (*Pseudomonas* sp. 1 + *Enterobacter* sp. 2) aumentó la biomasa radicular fresca en un 61.0%, la biomasa radicular seca en un 104.4% (Cuadro 7) y la longitud de la raíz un 82.5% (Cuadro 8), los °Bx aumentaron 94.1% con C3 (*Enterobacter* sp. 1 + *Pseudomonas* sp. 2) (Cuadro 7).

Bautista-Cruz *et al.* (2015) encontraron un aumento de 12.14% en la biomasa aérea seca y de 17.85% en la biomasa radicular seca con respecto al control en plantas de *Agave angustifolia* Haw. inoculadas con las cepas individuales de BSF utilizadas en este experimento. Estos incrementos son menores a los reportados en el presente trabajo donde la biomasa aérea seca fue 14 veces mayor y la biomasa radicular seca fue 6 veces mayor.

Escobar *et al.* (2011) evaluaron el efecto de cepas de *Azotobacter* spp. inoculadas en consorcio en el crecimiento y desarrollo de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y observaron un incremento en la biomasa seca aérea y radicular con relación al control de 101.2% y 104% respectivamente.

De acuerdo con Podile y Kishore (2006) y Appanna (2007) es posible que el incremento en las variables biométricas evaluadas en plantas de maguey espadín con la aplicación de coinóculos BSF se pueda atribuir a dos factores: 1) a un aumento en la elongación y multiplicación celular debido a una mejor biodisponibilidad de nutrientes, particularmente de P, propiciada por la inoculación con BSF y, 2) a la producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal como auxinas, citocininas, giberelinas y algunos compuestos volátiles por las BSF en la zona rizosférica. Idris *et al.* (2004) y Aftab *et al.* (2010) expresaron que las bacterias del género *Pseudomonas* y *Bacillus* tienen la capacidad de producir fitohormonas como el ácido giberélico, el cual promueve la proliferación de raíces y estimula el crecimiento de la planta, tal vez por ello, los coinóculos que incluyeron especies del género *Pseudomonas* (C1, C3 y C8) fueron los que más promovieron las variables biométricas en las plantas de maguey espadín.

Cuadro 7. Respuesta en la biomasa (media \pm error estándar) de plantas de maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) a la coinoculación con bacterias solubilizadoras de fosfato desarrolladas en sustrato de bagazo compostado/suelo nativo bajo condiciones de invernadero.

Coinóculo	Bacterias solubilizadoras de fosfato	Biomasa aérea (g)		Biomasa radicular (g)	
		fresca	seca	fresca	seca
C1	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 1	410.74 \pm 28.27 a	77.26 \pm 10.55 a	30.15 \pm 1.1 abc	15.79 \pm 5 ab
C2	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	379.64 \pm 56 ab	72.79 \pm 6.79 ab	38.86 \pm 7.86 abc	18.7 \pm 4.03 a
C3	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	222.18 \pm 10.21 cd	46.95 \pm 2.11 de	27.36 \pm 6.86 abc	18.36 \pm 4.86 a
C4	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	271.4 \pm 57.71 bcd	56 \pm 10.28 bcde	35.11 \pm 4.95 abc	19.94 \pm 8.19 a
C5	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	266.56 \pm 66.5 bcd	40.95 \pm 1.9 ef	25.49 \pm 2.69 abc	14.1 \pm 1.71 ab
C6	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	257.68 \pm 36.05 bcd	51.79 \pm 3.21 cde	34.66 \pm 9.22 abc	20.85 \pm 2.32 ab
C7	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	249.96 \pm 29.97 bcd	49.05 \pm 5.65 de	26.67 \pm 7 abc	11.14 \pm 1.58 ab
C8	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	320.04 \pm 56.83 abc	62.12 \pm 7.17 abcd	105.51 \pm 8.99 a	46.02 \pm 8.06 a
C9	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	301.06 \pm 69.32 abc	48.84 \pm 11.06 de	24.82 \pm 6.83 bc	11.26 \pm 1.98 ab
C10	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Acinetobacter</i> sp.	408.43 \pm 9.65 a	72.13 \pm 0.09 ab	33.08 \pm 8.86 abc	14.27 \pm 3.82 ab
C11	<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	329.84 \pm 10.97 abc	56.1 \pm 1.99 bcde	48.77 \pm 4.64 ab	23.02 \pm 3.58 a
C12	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Bacillus</i> sp.	306.37 \pm 34.5 abc	44.84 \pm 3.17 de	40.72 \pm 9.49 abc	13.12 \pm 1.42 ab
C13	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Bacillus</i> sp.	211.83 \pm 23.07 cd	40.48 \pm 5.69 ef	51.44 \pm 3.61 ab	22.9 \pm 5.66 a
C14	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	201.23 \pm 35.35 cd	37.37 \pm 5.42 ef	35.4 \pm 9.71 abc	13.74 \pm 3.73 ab
C15	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	328.15 \pm 24.68 abc	68.32 \pm 2.2 abc	45.32 \pm 3.74 abc	16.86 \pm 3.33 a
C	Control sin coinóculo	146.98 \pm 21.37 d	23.14 \pm 2.33 f	16.78 \pm 4.14 c	5.91 \pm 1.71 c

Medias con letras iguales en una misma columna no presentan diferencia significativa entre los coinóculos (Duncan, $p < 0.05$)

Cuadro 8. Respuesta en las variables biométricas (media \pm error estándar) de plantas de maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) a la coinoculación con bacterias solubilizadoras de fosfato desarrolladas en sustrato de bagazo compostado/suelo nativo bajo condiciones de invernadero.

Coinóculo	Bacterias solubilizadoras de fosfato	Hojas desplegadas	Altura de la planta	Longitud de la raíz	Diámetro de tallo (mm)	Sólidos solubles en el tallo (°Bx)
			----- (cm)			
C1	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 1	4.66 \pm 0.88 b	7.68 \pm 2.43 ab	10.33 \pm 0.69 ab	25.14 \pm 3.62 a	25.00 \pm 2.51 abcd
C2	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	5.66 \pm 0.66 ab	7.51 \pm 1.93 ab	13.66 \pm 0.69 ab	17.49 \pm 0.99 a	26.33 \pm 2.18 abc
C3	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	5.66 \pm 0.66 ab	6.61 \pm 2.57 abc	24.1 \pm 0.66 ab	19.5 \pm 2.18 a	28.33 \pm 2.33 a
C4	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp.2	5.66 \pm 0.88 ab	6.81 \pm 2.59 abc	6.6 \pm 2.25 b	19.27 \pm 2.3 a	21.33 \pm 1.45 bcde
C5	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	5.33 \pm 1.45 ab	5.78 \pm 0.41 abc	13.06 \pm 1.23 ab	17.68 \pm 5.28 a	19.33 \pm 1.76 def
C6	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	5 \pm 0.57 ab	4.25 \pm 1.03 abc	10.06 \pm 1.78 ab	16.96 \pm 3.05 a	23.33 \pm 1.2 abcd
C7	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	5 \pm 0.57 ab	4.55 \pm 0.52 abc	7.2 \pm 2.44 b	17.55 \pm 2.36 a	25.83 \pm 1.3 abc
C8	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	8 \pm 1.52 ab	2.61 \pm 0.21 bc	23.1 \pm 0.72 a	16.88 \pm 3.19 a	5.66 \pm 1.2 g
C9	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	8 \pm 1.52 ab	5.8 \pm 0.93 abc	8.73 \pm 0.89 ab	22.33 \pm 2.19 a	15.66 \pm 1.2 ef
C10	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Acinetobacter</i> sp.	7.33 \pm 1.85 ab	3.16 \pm 0.24 abc	10.33 \pm 0.94 ab	17.88 \pm 1.86 a	25 \pm 2.3 abcd
C11	<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	7.66 \pm 1.45 ab	3.76 \pm 0.63 abc	14.1 \pm 1.4 ab	22.99 \pm 4.29 a	20.66 \pm 0.88 cde
C12	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Bacillus</i> sp.	9.33 \pm 2.02 a	3.25 \pm 2.28 bc	15.83 \pm 2.61 ab	26.27 \pm 3.41 a	14.66 \pm 2.18 f
C13	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Bacillus</i> sp.	7 \pm 0.57 ab	1.81 \pm 0.96 c	10.56 \pm 2.42 ab	13.91 \pm 4.59 a	26.83 \pm 2.08 ab
C14	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	5 \pm 1.15 b	10.5 \pm 3.13 a	12.5 \pm 0.79 ab	13.33 \pm 3.63 a	19.66 \pm 1.45 def
C15	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	4.66 \pm 0.33 b	4.51 \pm 0.92 abc	11.13 \pm 0.82 ab	16.22 \pm 1.51 a	14.66 \pm 0.88 f
C	Control sin coinóculo	5.6 \pm 0.92 ab	4.37 \pm 2.15 abc	7.02 \pm 1.43 b	15.76 \pm 5.51 a	14.6 \pm 1.72 f

Medias con letras iguales en una misma columna no presentan diferencia significativa entre los coinóculos (Duncan, $p < 0.05$)

En este estudio se encontró una asociación positiva entre los °Bx y el contenido de P disponible en el sustrato ($r = 0.442$, $p < 0.000$), lo cual sugiere que el incremento en los °Bx en el tallo de las plantas con el coinóculo C7 en el sustrato turba/suelo y con el coinóculo C3 en el sustrato bagazo/suelo estuvo favorecido por una mayor disponibilidad de P para la planta.

Anamika *et al.* (2012) aplicaron BSF individuales y en coinóculo en frijol mungo (*Vigna radiata* L.) y encontraron que los coinóculos BSF incrementaron 126.0% la biomasa radicular fresca y seca con respecto al control. Lara y Negrete (2015) coinoculaban *Pseudomonas* sp. y *Pantoea* sp. en semillas de pasto Angleton (*Dichanthium aristatum* Poir.) y reportaron un aumento en la longitud de la raíz con respecto al control.

Selvaraj *et al.* (2008) reportaron un aumento de la longitud de la raíz y la biomasa aérea seca de las plantas de *Brassica campestris* L. como respuesta a la inoculación individual de BSF (*Pseudomonas* sp. y *Agrobacterium* sp.) con relación al control. Por su parte Qureshi *et al.* (2011) reportaron que *Bacillus* sp. ya sea en inoculación individual o en coinóculo con *Rhizobium* sp. afectó positivamente el crecimiento y la longitud radicular de frijol mungo (*Vigna radiata* L.). Puente *et al.* (2004) inocularon semillas de cardón (*Pachycereus pringlei* S. W.) con cepas individuales y en coinóculo de los géneros *Klebsiella* sp., *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas* sp. y *Bacillus* sp. y encontraron cambios en la biomasa radicular, donde se presentaron valores significativamente mayores con respecto al control. Según Vacheron *et al.* (2013) esta cualidad de las BSF de afectar positivamente la longitud de la raíz de la planta esta relacionada con la producción de dos hormonas (auxinas y citocininas), las cuales tienen la capacidad de estimular la elongación de pelos radiculares y aumentar el número de raíces secundarias (Contesto *et al.*, 2008).

Aftab *et al.* (2010) mostraron resultados similares a los obtenidos en este estudio con coinóculos formados por *Pseudomonas* sp.+*Bradyrhizobium* sp. con relación al aumento en la biomasa radicular de plantas de soya (*Glycine max* L.).

Anzuay *et al.* (2015) inocularon plantas de cacahuate (*Arachis hypogaea* L.) con *Acinetobacter* sp., *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. y registraron un aumento en la

biomasa aérea seca, la altura de la planta y la longitud de la raíz en comparación con el control.

Walpola y Yoon (2013) relacionaron el desarrollo de la planta al crecimiento y multiplicación celular que resulta de una buena absorción nutrimental, los cuales aumentan su disponibilidad gracias a la acción de los microorganismos y a la producción de fitohormonas como el ácido indol-acético.

4.2.2 Variables bioquímicas

Las variables bioquímicas evaluadas en el sustrato turba/suelo nativo que respondieron positivamente a la aplicación de coinóculos BSF presentando diferencias significativas con respecto al control ($p < 0.05$) fueron actividad de fosfatasa alcalina, contenido de P disponible y concentración de P foliar (Cuadro 9). La actividad de fosfatasa alcalina aumentó 13.7% con C8 (*Pseudomonas* sp. 1+*Enterobacter* sp. 2), el contenido de P disponible incrementó 435.9% con C3 (*Enterobacter* sp. 1+*Pseudomonas* sp. 2) y la concentración de P foliar incrementó 51.2% con C5 (*Enterobacter* sp. 1+*Acinetobacter* sp.). Mientras que el pH aumentó en dos unidades, presentando el valor más elevado C15 (*Acinetobacter* sp.+*Pseudomonas* sp. 2) (Cuadro 9).

Las variables bioquímicas evaluadas en el sustrato bagazo compostado/suelo nativo que respondieron positivamente a la aplicación de coinóculos BSF presentando diferencias significativas con respecto al control ($p < 0.05$) fueron actividad de fosfatasa ácida y fosfatasa alcalina, con un incremento del 51.3% (C12=*Enterobacter* sp. 2+*Bacillus* sp.) y 112.6% (C7=*Pseudomonas* sp. 1+*Pseudomonas* sp. 2) respectivamente, contenido de P disponible (67.1%) con C6 (*Pseudomonas* sp. 1+*Bacillus* sp.) y el pH disminuyó en 0.4 unidades con C3 (*Enterobacter* sp. 1+*Pseudomonas* sp. 2) (Cuadro 10).

Cuadro 9. Efecto de la coinoculación de bacterias solubilizadoras de fosfato sobre algunas variables bioquímicas (media \pm error estándar) en un sustrato de turba/suelo nativo cultivado con maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) bajo condiciones de invernadero.

Coinóculo	Bacterias solubilizadoras de fosfato	Actividad de fosfatasa (μg de p-nitrofenol $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$)		Fósforo disponible (mg kg^{-1})	pH	Fósforo foliar (%)
		ácida	alcalina			
C1	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 1	175.32 \pm 8.27 def	223.49 \pm 9.69 f	11.94 \pm 0.84 bc	6.73 \pm 0.03 ab	0.38 \pm 0.05 c
C2	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	98.67 \pm 5.84 g	306.29 \pm 8.98 cd	7.6 \pm 0.47 ef	6.93 \pm 0.06 ab	0.42 \pm 0.02 bc
C3	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	222.76 \pm 25.18 cd	290.61 \pm 15.85 cde	17.8 \pm 0.94 a	6.76 \pm 0.2 ab	0.4 \pm 0.05 bc
C4	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	158.18 \pm 30.75 defg	248 \pm 10.62 ef	11.5 \pm 0.84 bcde	6.7 \pm 0.15 ab	0.45 \pm 0.05 bc
C5	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	127.18 \pm 8.33 efg	225.12 \pm 18.47 f	9.01 \pm 1.36 cde	7.13 \pm 0.12 a	0.62 \pm 0.11 a
C6	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	184.4 \pm 7.32 de	455.49 \pm 21.24 ab	8.79 \pm 0.81 cde	6.9 \pm 0.05 ab	0.5 \pm 0.1 abc
C7	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	223.51 \pm 25.88 cd	457.57 \pm 35.8 ab	8.57 \pm 0.78 def	7 \pm 0.2 ab	0.57 \pm 0.09 ab
C8	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	338.25 \pm 10.93 a	496.62 \pm 8.84 a	6.73 \pm 0.96 ef	7.1 \pm 0.15 ab	0.41 \pm 0.02 bc
C9	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	271 \pm 30.51 bc	475.01 \pm 17.12 ab	9.33 \pm 0.39 cde	7.1 \pm 0.2 ab	0.36 \pm 0 c
C10	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Acinetobacter</i> sp.	110.39 \pm 13.2 fg	328.2 \pm 26.76 c	3.47 \pm 0.96 g	6.6 \pm 0.1 b	0.42 \pm 0.04 bc
C11	<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	161.14 \pm 11.45 defg	157.99 \pm 13.89 g	8.36 \pm 1.03 def	6.93 \pm 0.18 ab	0.45 \pm 0.01 bc
C12	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Bacillus</i> sp.	184.41 \pm 4.9 de	294.89 \pm 18.53 cde	5.21 \pm 1.49 fg	6.93 \pm 0.26 ab	0.37 \pm 0.01 c
C13	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Bacillus</i> sp.	104.47 \pm 18.43 g	287.65 \pm 18.01 cde	6.08 \pm 0.39 efg	7.13 \pm 0.23 a	0.39 \pm 0.04 bc
C14	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	161.31 \pm 17.82 defg	226.33 \pm 16.6 f	8.36 \pm 1.9 def	7.06 \pm 0.08 ab	0.46 \pm 0.01 abc
C15	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	105.28 \pm 4.51 g	267.33 \pm 15.09 def	12.59 \pm 1.28 b	7.16 \pm 0.03 a	0.41 \pm 0.01 bc
C	Control sin coinóculo	300.24 \pm 27.43 ab	436.86 \pm 5.85 b	3.32 \pm 0.8 g	5.1 \pm 0.1 c	0.41 \pm 0.02 bc

Medias con letras iguales en una misma columna no presentan diferencia significativa entre los coinóculos (Duncan, $p < 0.05$)

Cuadro 10. Efecto de la coinoculación de bacterias solubilizadoras de fosfato sobre algunas variables bioquímicas (media \pm error estándar) en un sustrato de bagazo compostado/suelo nativo cultivado con maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) bajo condiciones de invernadero.

Coinóculo	Bacterias solubilizadoras de fosfato	Actividad de fosfatasa (μg de p-nitrofenol $\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$)		Fósforo disponible (mg kg^{-1})	pH	Fósforo foliar (%)
		ácida	alcalina			
C1	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 1	289.44 \pm 16.78 bcd	319.98 \pm 28.52 efg	126.69 \pm 11.45 ab	8 \pm 0.11 bcde	0.36 \pm 0.01 a
C2	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	236.98 \pm 27.47 de	297.32 \pm 24.19 fgh	104.5 \pm 12.94 abcde	8.1 \pm 0.15 abcde	0.4 \pm 0.04 a
C3	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	368.77 \pm 20.64 abc	403.66 \pm 2.76 cdef	120.4 \pm 5.56 abc	7.83 \pm 0.15 e	0.49 \pm 0.07 a
C4	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	316.66 \pm 40.69 bcd	585.62 \pm 116.69 abc	116.25 \pm 7.07 abcd	7.86 \pm 0.09 de	0.41 \pm 0.04 a
C5	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	261.31 \pm 50.75 cd	665.37 \pm 131.01 ab	124.19 \pm 16.81 abc	8.01 \pm 0.2 bcde	0.49 \pm 0.08 a
C6	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	373.88 \pm 46.84 abc	543.96 \pm 148.08 abcd	130.24 \pm 4.84 a	8.36 \pm 0.09 ab	0.44 \pm 0.02 a
C7	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	391.54 \pm 72.84 ab	739.97 \pm 77.57 a	110.79 \pm 10.2 abcd	8.1 \pm 0.09 abcde	0.43 \pm 0.04 a
C8	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	258.17 \pm 19.73 cd	585.04 \pm 51.54 abc	104.03 \pm 9.65 abcde	8.31 \pm 0.02 ab	0.41 \pm 0.03 a
C9	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	322.45 \pm 3.75 bcd	521.83 \pm 44.3 abcde	109.84 \pm 10.6 abcd	8.32 \pm 0.05 ab	0.36 \pm 0.02 a
C10	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Acinetobacter</i> sp.	305.27 \pm 26.03 bcd	465.36 \pm 43.35 bcdef	101.77 \pm 2.96 abcde	8.23 \pm 0.01 abc	0.44 \pm 0.06 a
C11	<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	364.85 \pm 21.71 abc	481.53 \pm 14.38 bcdef	97.03 \pm 11.92 bcde	8.3 \pm 0.05 ab	0.4 \pm 0.02 a
C12	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Bacillus</i> sp.	455.19 \pm 28.08 a	425.28 \pm 104.05 cdef	85.64 \pm 11.86 def	8.43 \pm 0.03 a	0.4 \pm 0.02 a
C13	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Bacillus</i> sp.	265.59 \pm 63.7 cd	124.61 \pm 9.57 gh	94.54 \pm 7.38 cdef	8.06 \pm 0.08 bcde	0.35 \pm 0.01 a
C14	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	138.38 \pm 26.28 e	104.62 \pm 28.03 h	85.17 \pm 10.91 def	8.2 \pm 0.1 abcd	0.42 \pm 0.05 a
C15	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	133.32 \pm 13.37 e	124.44 \pm 9.08 gh	65 \pm 5.45 f	7.93 \pm 0.08 cde	0.45 \pm 0.01 a
C	Control sin coinóculo	300.76 \pm 14.75 bcd	348.04 \pm 14.15 def	77.93 \pm 4.64 ef	8.22 \pm 0.1 abcd	0.44 \pm 0.03 a

Medias con letras iguales en una misma columna no presentan diferencia significativa entre los coinóculos (Duncan, $p < 0.05$)

La actividad de fosfatasa ácida registrada en los sustratos evaluados en este estudio es similar a la reportada por Arzuaga *et al.* (2005) de 336.25 y 457.86 μg de p-nitrofenol $\text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$ en tres órdenes de suelos con situaciones de uso diferentes: un Entisol (suelo virgen y bajo uso citrícola), un Alfisol (suelo virgen, suelo con arroz y con exarrocera en descanso con pastura natural) y un Vertisol (suelo virgen y pastura implantada con *Setaria* sp.). Lara *et al.* (2011) reportaron que los géneros bacterianos que con mayor frecuencia intervienen en el proceso de solubilización de fosfato son *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Enterobacter* y *Azospirillum* ya que presentan amplia versatilidad genética y utilizan varios mecanismos de solubilización, entre ellos la producción de ácidos orgánicos y altos niveles de fosfatasas. En el presente estudio los coinóculos que presentaron la mayor actividad de fosfatasa incluyeron especies de los géneros bacterianos anteriormente mencionados.

Walpola y Yoon (2012) evaluaron el efecto de la coinoculación de *Pantoea agglomerans*+*Burkholderia anthina* en un cultivo de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y encontraron que la coinoculación de estas BSF aumentó el contenido de P disponible en el suelo, el cual osciló entre 108.18 y 110.06 mg kg^{-1} . Similares contenidos de P disponible se detectaron en el sustrato de bagazo compostado/suelo nativo mediante la coinoculación de BSF, la cual aumentó el contenido de este nutriente con respecto al control.

Los resultados sugieren que el aumento en la actividad de fosfatasa alcalina en ambos sustratos con la coinoculación de BSF propició un incremento en el contenido de P disponible, como lo muestra la asociación positiva entre estas variables ($r = 0.367$, $p < 0.000$). La materia orgánica proveniente de la turba o el bagazo compostado posiblemente estimuló la producción de fosfatasa por parte de los coinóculos BSF, al ser la principal fuente de inositolfosfato, ácidos nucleicos y fosfolípidos (Restrepo *et al.*, 2015).

Algunas bacterias también pueden solubilizar fosfatos insolubles sin producir ácidos orgánicos. En estos casos, además de la producción enzimática, se ha propuesto que el mecanismo principal responsable de la solubilización de fosfato es la producción de protones durante la asimilación de NH_4^+ , o a través de las actividades respiratorias (Patiño-Torres y Sanclemente-Reyes, 2008), probablemente este sea el mecanismo que

utilizan los coinoculos BSF que presentaron los valores más altos de P disponible en el sustrato.

Se encontraron efectos significativos de la interacción coinóculo×sustrato para las variables P disponible, pH (Cuadro 11), fosfatasa ácida y fosfatasa alcalina (Cuadro 12), °Bx, y biomasa aérea seca (Cuadro 13). Todas estas variables presentaron los mayores valores en el sustrato bagazo compostado/suelo nativo. Los coinóculos BSF que favorecieron estas variables en este sustrato de bagazo compostado/suelo nativo fueron C1 (*Enterobacter* sp. 1+*Pseudomonas* sp. 1) para biomasa aérea seca, C3 (*Enterobacter* sp. 1+*Pseudomonas* sp. 2) para °Bx, C6 (*Pseudomonas* sp. 1+*Bacillus* sp.) para P disponible, C12 (*Enterobacter* sp. 2+*Bacillus* sp.) para fosfatasa alcalina, C3 (*Enterobacter* sp. 1+*Pseudomonas* sp. 2) para pH y C7 (*Pseudomonas* sp. 1+*Pseudomonas* sp. 2) para fosfatasa ácida. Estos resultados sugieren que la efectiva colonización de la rizósfera por los coinóculos BSF y su efecto en el desarrollo y crecimiento de plantas de maguey espadín estuvo influenciada por el tipo de sustrato. Lo cual parece indicar que el sustrato que más favoreció la colonización de BSF en la rizósfera de maguey espadín fue el bagazo compostado/suelo nativo. El adecuado establecimiento de las BSF está condicionado por factores tales como el pH, la salinidad, tipo de MO, humedad y temperatura (Sharan *et al.*, 2008). Probablemente el pH inicial de los sustratos fue la variable que mayor influencia ejerció sobre una colonización eficiente de las BSF en la rizósfera de maguey espadín, puesto que el sustrato bagazo compostado/ suelo nativo tuvo un valor inicial de pH de 7.2 (Cuadro 1), el cual es semejante al valor de pH (7.5) de los suelos cultivados con este maguey (Bautista-Cruz *et al.*, 2007) de donde se aislaron originalmente las cepas individuales de BSF empleadas en el presente estudio (Martínez-Gallegos, 2014). Esto refuerza la necesidad de contar con cepas BSF nativas procedentes de los ecosistemas o agroecosistemas en estudio para tener una mayor probabilidad de colonización cuando sean aplicadas a condiciones de campo.

Cuadro 11. Efecto de la interacción sustrato×coinóculo en variables bioquímicas (media ± error estándar) en sustratos órgano-minerales cultivados con maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) bajo condiciones de invernadero.

Coinóculo	Bacterias solubilizadoras de fosfato	Fósforo disponible (mg kg ⁻¹)	pH
Sustrato de turba/suelo nativo			
C1	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 1	11.94 ± 0.85 h	6.73 ± 0.03 efg
C2	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	7.6 ± 0.47 h	6.93 ± 0.06 efg
C3	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	17.8 ± 0.94 h	6.76 ± 0.2 efg
C4	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	11.51 ± 0.84 h	6.7 ± 0.15 fg
C5	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	9.01 ± 1.36 h	7.13 ± 0.12 ef
C6	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	8.79 ± 0.81 h	6.9 ± 0.05 efg
C7	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	8.57 ± 0.78 h	7 ± 0.2 efg
C8	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	6.73 ± 0.96 h	7.1 ± 0.15 ef
C9	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	9.33 ± 0.39 h	7.1 ± 0.2 ef
C10	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Acinetobacter</i> sp.	3.47 ± 0.96 h	6.6 ± 0.1 g
C11	<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	8.36 ± 1.03 h	6.93 ± 0.18 efg
C12	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Bacillus</i> sp.	5.21 ± 1.49 h	6.93 ± 0.26 efg
C13	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Bacillus</i> sp.	6.08 ± 0.39 h	7.13 ± 0.23 ef
C14	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	8.36 ± 1.9 h	7.06 ± 0.08 ef
C15	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	12.59 ± 1.27 h	7.16 ± 0.03 e
C	Control sin inóculo	3.32 ± 0.8 h	5.1 ± 0.1 h
Sustrato bagazo/suelo nativo			
C1	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 1	126.69 ± 11.45 a	8 ± 0.11 abcd
C2	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	104.5 ± 12.94 bcde	8.1 ± 0.15 abcd
C3	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	120.4 ± 5.55 abc	7.83 ± 0.15 d
C4	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	116.25 ± 7.07 abcd	7.87 ± 0.09 cd
C5	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	124.2 ± 16.81 ab	8.01 ± 0.2 abcd
C6	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	130.24 ± 4.84 a	8.36 ± 0.09 ab
C7	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	110.79 ± 10.2 abcd	8.1 ± 0.09 abcd
C8	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	104.03 ± 9.65 bcde	8.31 ± 0.02 abc
C9	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	109.84 ± 10.6 abcd	8.32 ± 0.05 ab
C10	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Acinetobacter</i> sp.	101.78 ± 2.96 cde	8.23 ± 0.01 abcd
C11	<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	97.03 ± 11.91 def	8.3 ± 0.05 abc
C12	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Bacillus</i> sp.	85.64 ± 11.86 efg	8.43 ± 0.03 a
C13	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Bacillus</i> sp.	94.54 ± 7.38 def	8.06 ± 0.08 abcd
C14	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Pseudomonas</i> sp.2	85.17 ± 10.91 efg	8.2 ± 0.1 abcd
C15	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp.2	65 ± 5.45 g	7.93 ± 0.08 bcd
C	Control sin inóculo	77.93 ± 4.64 fg	8.22 ± 0.1 abcd
	sustrato×coinóculo <i>p</i>	≤0.000	≤0.000

Medias con letras iguales en una misma columna no presentan diferencia significativa entre las interacciones (Duncan, *p* < 0.05)

Cuadro 12. Efecto de la interacción sustrato×coinóculo en la actividad de fosfatasa (media ± error estándar) en sustratos órgano-minerales cultivados con maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) bajo condiciones de invernadero.

Coinóculo	Bacterias solubilizadoras de fosfato	Actividad de fosfatasa ($\mu\text{g de p-nitrofenol g}^{-1}\text{h}^{-1}$)	
		ácida	alcalina
Sustrato de turba/suelo nativo			
C1	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 1	223.49 ± 9.69 mnop	175.32 ± 8.27 ijkl
C2	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	306.29 ± 8.98 fghijklm	98.67 ± 5.84 l
C3	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	290.61 ± 15.85 hijklm	222.76 ± 25.18 ghijk
C4	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp.2	248 ± 10.62 klmno	158.18 ± 30.75 jkl
C5	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	225.12 ± 18.47 mnop	127.18 ± 8.33 l
C6	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	455.49 ± 21.24 cdefghi	184.4 ± 7.32 hijkl
C7	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp.2	457.57 ± 35.8 cdefgh	223.51 ± 25.88 ghijk
C8	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	496.62 ± 8.84 cde	338.25 ± 10.93 bcde
C9	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	475.01 ± 17.12 cdef	271 ± 30.51 defgh
C10	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Acinetobacter</i> sp.	328.2 ± 26.76 efghijklm	110.39 ± 13.2 l
C11	<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	157.99 ± 13.89 nop	161.14 ± 11.45 jkl
C12	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Bacillus</i> sp.	294.89 ± 18.53 ghijklm	184.41 ± 4.9 hijkl
C13	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Bacillus</i> sp.	287.65 ± 18.01 ijklm	104.47 ± 18.43 l
C14	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	226.33 ± 16.6 mnop	161.31 ± 17.82 jkl
C15	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	267.33 ± 15.09 jklmn	105.28 ± 4.51 l
C	Control sin inóculo	436.86 ± 5.85 cdefghij	300.24 ± 27.43 bcdefg
Sustrato bagazo/suelo nativo			
C1	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 1	319.98 ± 28.52fghijklm	289.44 ± 16.78 cdefg
C2	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	297.32 ± 24.19 ghijklm	236.98 ± 27.47 fghij
C3	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	403.66 ± 2.76 defghijkl	368.77 ± 20.64 abc
C4	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	585.62 ± 116.69 bc	316.66 ± 40.69 bcdefg
C5	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	665.37 ± 131.01 ab	261.31 ± 50.75 efghi
C6	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	543.96 ± 148.08 bcd	373.88 ± 46.84 abc
C7	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp.2	739.97 ± 77.57 a	391.54 ± 72.84 ab
C8	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	585.04 ± 51.54 bc	258.17 ± 19.73 efghi
C9	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	521.83 ± 44.3 bcd	322.45 ± 3.75 bcdef
C10	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Acinetobacter</i> sp.	465.36 ± 43.35 cdefg	305.27 ± 26.03 bcdefg
C11	<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	481.54 ± 14.38 cdef	364.85 ± 21.71 bcd
C12	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Bacillus</i> sp.	425.28 ± 104.05defghijk	455.19 ± 28.08 a
C13	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Bacillus</i> sp.	124.61 ± 9.57 op	265.59 ± 63.7 efghi
C14	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	104.62 ± 28.03 p	138.38 ± 26.28 kl
C15	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	124.44 ± 9.08 op	133.32 ± 13.37 kl
C	Control sin inóculo	348.04 ± 14.15fghijklm	300.76 ± 14.75 bcdefg
sustrato×coinóculo <i>p</i>		≤0.000	≤0.000

Medias con letras iguales en una misma columna no presentan diferencia significativa entre las interacciones (Duncan, $p < 0.05$)

Cuadro 13. Efecto de la interacción sustrato×coinóculo en variables biométricas (media ± error estándar) de plantas de *Agave angustifolia* Haw. en sustratos órgano-minerales bajo condiciones de invernadero.

Coinóculo	Bacterias solubilizadoras de fosfato	Biomasa aérea seca (g)	Sólidos solubles en el tallo (°Bx)
Sustrato de turba/suelo nativo			
C1	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 1	55.24 ± 5.85 bcdefgh	18 ± 2.08 defghi
C2	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	65.66 ± 6.55 abcde	20.33 ± 1.85 cdef
C3	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	51.53 ± 4.8 bcdefgh	18.66 ± 1.45 defgh
C4	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	71.9 ± 2.98 ab	11.66 ± 0.66 kl
C5	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	67.57 ± 7.97 abcd	14.66 ± 2.33 ghijkl
C6	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	39.43 ± 4.86 ghi	14.66 ± 0.33 ghijkl
C7	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp.2	41.79 ± 4.28 ghi	27 ± 2.08 a
C8	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	48.13 ± 2.56 defgh	12 ± 2.08 jkl
C9	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	46.17 ± 12.63 fgh	16 ± 0.57 efghijk
C10	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Acinetobacter</i> sp.	59.13 ± 3.31 abcdefg	10 ± 1.15 lm
C11	<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp.2	49.3 ± 3.63 bcdefgh	14.33 ± 1.85 ghijkl
C12	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Bacillus</i> sp.	45.19 ± 2.84 fgh	13.33 ± 0.33 hijkl
C13	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Bacillus</i> sp.	46.27 ± 5.97 efgh	17.66 ± 0.88 defghij
C14	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	50.5 ± 5.31 bcdefgh	17.33 ± 1.2 efghij
C15	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	42.01 ± 6.44 ghi	15.66 ± 1.85 fghijk
C	Control sin inóculo	39.44 ± 4.12 ghi	12.8 ± 1.31 ijkl
Sustrato bagazo/suelo nativo			
C1	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 1	77.26 ± 10.55 a	25 ± 2.51 abc
C2	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	72.79 ± 6.79 ab	26.33 ± 2.18 ab
C3	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	46.95 ± 2.11 efgh	28.33 ± 2.33 a
C4	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	56 ± 10.27 bcdefgh	21.33 ± 1.45 bcde
C5	<i>Enterobacter</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	40.95 ± 1.9 ghi	19.33 ± 1.76 defg
C6	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Bacillus</i> sp.	51.79 ± 3.21 bcdefgh	23.33 ± 1.2 abcd
C7	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	49.05 ± 5.65 bcdefgh	26 ± 1.15 ab
C8	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Enterobacter</i> sp. 2	62.12 ± 7.17 abcdef	5.66 ± 1.2 m
C9	<i>Pseudomonas</i> sp. 1+ <i>Acinetobacter</i> sp.	48.84 ± 11.06 cdefgh	15.66 ± 1.2 fghijk
C10	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Acinetobacter</i> sp.	72.13 ± 0.09 ab	25 ± 2.3 abc
C11	<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	56.1 ± 1.99 bcdefgh	20.66 ± 0.88 cdef
C12	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Bacillus</i> sp.	44.84 ± 3.17 fgh	14.66 ± 2.18 ghijkl
C13	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Bacillus</i> sp.	40.48 ± 5.69 ghi	27 ± 2 a
C14	<i>Enterobacter</i> sp. 2+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	37.37 ± 5.42 hi	19.66 ± 1.45 cdefg
C15	<i>Acinetobacter</i> sp.+ <i>Pseudomonas</i> sp. 2	68.32 ± 2.2 abc	14.66 ± 0.88 ghijkl
C	Control sin inóculo	23.14 ± 2.33 i	14.6 ± 1.72 ghijkl
sustrato×coinóculo <i>p</i>		≤0.000	≤0.000

Medias con letras iguales en una misma columna no presentan diferencia significativa entre las interacciones (Duncan, $p < 0.05$)

V. CONCLUSIONES

El coinóculo formado por *Pseudomonas* sp. 1+*Acinetobacter* sp. demostró ser el más eficiente para solubilizar fosfato tricálcico *in vitro*, mientras que la mayor cantidad de P mineralizado se registró con *Pseudomonas* sp. 1+*Acinetobacter* sp. y *Acinetobacter* sp.+*Bacillus* sp. cuando se empleó β -glicerolfosfato como fuente orgánica de fosfato.

La aplicación de coinóculos bacterianos solubilizadores de fosfato nativos en plantas de maguey espadín (*Agave angustifolia* Haw.) bajo condiciones de invernadero incrementó diversas variables biométricas como biomasa aérea fresca y seca, biomasa radicular fresca y seca y sólidos solubles en el tallo ($^{\circ}$ Bx). La coinoculación también tuvo un efecto positivo en algunas variables bioquímicas como actividad de fosfatasa ácida y fosfatasa alcalina, pH y P disponible de los sustratos evaluados. Sin embargo, la interacción significativa sustrato \times coinóculo sugirió que la efectiva colonización de la rizósfera por los coinóculos bacterianos solubilizadores de fosfato y su efecto en el desarrollo y crecimiento de plantas de maguey espadín estuvo influenciada por el tipo de sustrato.

VARIABLES como biomasa aérea seca, P disponible, $^{\circ}$ Bx, fosfatasa ácida y fosfatasa alcalina presentaron los valores más altos en el sustrato bagazo compostado/suelo nativo con los coinóculos C1, C6, C3, C7 y C12 respectivamente. Por lo que, se sugiere confirmar el efecto positivo de estos coinóculos bacterianos solubilizadores de fosfato, tanto en el cultivo de maguey espadín como en la fertilidad del suelo en condiciones de campo.

VI. LITERATURA CITADA

- Acosta, C. (2008). Evaluación de una fertilización en *Eucalyptus globulus* Labill. aplicada en la etapa de máxima acumulación nutritiva. Valdivia, Chile: Escuela de ingeniería.
- Aftab, A., Asghari, B. and Mussarat, F. (2010). Higher soybean yield by inoculation with N-fixing and P-solubilizing bacteria. *Agronomy for Sustainable Development*, Springer Verlag, 2 (30), 487-495.
- Anamika, J., Divya, S. and Jyoti, S. (2012). Effect of single and dual phosphate-solubilizing bacterial strain inoculation on overall growth of mung bean plant. *Agronomy and Soil Science*, 58 (9), 967-981.
- Anzuay, M. S., Ludueña, L. M., Angelini, J. G., Fabra, A. and Taurian, T. (2015). Beneficial effects of native phosphate solubilizing bacteria on peanut (*Arachis hypogaea* L.) growth and phosphorus acquisition. *Symbiosis*, 66, 89-97.
- Appanna, V. (2007). Efficacy of phosphate solubilizing bacteria isolated from vertisols on growth and yield parameters of sorghum. *Research Journal of Microbiology*, 2, 550-559.
- Arredondo, V. C., Bravo, M. E. y Espinosa, P. H. (2005). Efectos de la lluvia, temperatura y dinámica poblacional del picudo del maguey mezcalero *Scyphophorus interstitialis*. *Ciencia y desarrollo*, 3 (1), 17-24.
- Arzuaga, S., Fernández-López, C., Dalurzo, H. y Vazquez, S. (2005). Fósforo total, fósforo orgánico y fosfatasa ácida, en Entisoles, Alfisoles y Vertisoles de Corrientes con diferentes usos agrícolas. *Comunicaciones científicas y tecnológicas*, 190-195. Universidad Nacional del Nordeste.

Balamurugan, A., Princy, T., Pallavi, R. V., Napoleon-Jayanthi, P. R. And Premkumar, R. (2010). Isolation and characterization of phosphate solubilising bacteria in tea (*Camellia sinensis*). *Journal of Bioscience Research*, 1 (4), 285-293.

Barragán, C., Zambrano, D., Pedroza, A. y Bobadilla, R. (2003). Producción de bacterias fosfato solubilizadoras mediante la fermentación discontinua en caldo Pikoskaya modificado. *Tesis de pregrado en Microbiología Industrial*. Bogotá, Colombia: Universidad Javierana.

Bautista-Cruz, A., Carrillo-González, R., Arnaud-Viñas, M. R., Robles, C. and León-González, F. (2007). Soil fertility properties on *Agave angustifolia* Haw. plantations. *Soil and Tillage Research*, 96, 342-349.

Bautista-Cruz, A., Martínez-Gallegos, V., Martínez-Martínez, L. and Martínez-Gutiérrez, G. (2015). Effect of Phosphate solubilizing bacteria on the growth of *Agave angustifolia* Haw. (Maguey espadín). *Pakistan Journal of Botany*, 47 (3), 1033-1038.

Beltrán, S., Torrado, Y. y Matiz, A. (2005). Aislamiento de bacterias con actividad fosfato solubilizadora a partir de suelos ácidos del norte de Boyacá y producción de un inóculo mixto en fermentación discontinua. *Tesis de pregrado en Microbiología Industrial*, Bogotá, Colombia: Universidad Javierana.

Bouhraoua, D., Aarab, S., Laglaoui, A., Bakkali, M. and Arakrak, A. (2015). Phosphate Solubilizing Bacteria Efficiency on Mycorrhization and Growth of Peanut in the Northwest of Morocco. *American Journal of Microbiological Research*, 3 (5), 176-180.

Bratkova, S., Kaisheva, A. and Manukyan, V. (2015). Influence of our *Bacillus* strains, isolated from calcareous soils, on phosphate solubilization. *First National Conference of Biotechnology*, pp. 21-31. Sofia: Université de Sofia.

Casierra-Posada, F. y González, D. (2009). Cambio circadiano de pH y acidez titulable en la savia de fique (*Furcraea castilla* y *F. macrophylla*). *Orinoquia*, 13 (1), 5-13.

Contesto, J., Desbrosses, C., Lefoulon, G., Bena, F., Borel, M., Galland, L., Gamet, F., Varoquaux, T. and Touraine, B. (2008). Effects of rhizobacterial ACC- deaminase

activity on *Arabidopsis* indicate that ethylene mediates local root responses to plant growth promoting rhizobacteria. *Plant Science*, 175, 178-189.

Cottenie, A. (1984). *Los análisis de suelos y de plantas como base para formular recomendaciones sobre fertilizantes*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Suelos. Roma, Italia: Boletín de suelo de la FAO.

Dessureault-Rompré, J., Nowack, B., Shulin, R., Tercier-Waeber, M. and Luster, J. (2008). Metal Solubility and Speciation in the Rhizosphere of *Lupinus albus* Cluster Roots. *Environmental Science Technology*, 42, 7146-7151.

Escobar, C., Horna, Y., Carreño, C. y Mendoza, G. (2011). Caracterización de cepas nativas de *Azotobacter* spp. y su efecto en el desarrollo de *Lycopersicon esculentum* Mill "tomate" en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 2, 39-49.

Fernández, M. T. y Rodríguez, H. (2005). Papel de la solubilización de fósforo en los biofertilizantes microbianos ICIDCA. *Sobre los derivados de la caña de azúcar*, 32 (3), 27-34.

García, A. (2007). Los agaves de México. *Ciencias*, 87, 14-23.

Giles, C. D., Chun, L., Richardson, A., Hurst, M. and Hill, J. (2014). Plant assimilation of phosphorus from an insoluble organic form is improved by addition of an organic anion producing *Pseudomonas* sp. *Soil biology and biochemistry*, 68, 263-269.

Goldstein, A. H. (2007). First international meeting on microbial phosphate solubilization. *Future trends in research on microbial phosphate solubilization: one hundred years of insolubility*, pp. 91-96.

Idris, E., Bochow, H., Ross, H. and Borriss, R. (2004). Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 111 (6), 583-597.

Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. (2015, diciembre 24). Resolución por la que se modifica la Declaración General de Protección de la Denominación de Origen Mezcal. *Diario Oficial de la Federación de México*. Recuperado el 05 de febrero de 2016 de http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5421317&fecha=24/12/2015.

Lal, L. (2002). *Phosphoric biofertilizers*. Udaipur, India: Agrotech Publishing Academy.

Lara, C. y Negrete, J. L. (2015). Efecto de un bioinoculante a partir de consorcios microbianos nativos fosfato solubilizadores, en el desarrollo de pastos Angleton (*Dichantium aristatum*). *Revista colombiana de Biotecnología*, 17 (1), 122-130.

Lara, C., Esquivel, L. y Negrete, J. (2011). Bacterias nativas solubilizadoras de fosfatos para incrementar los cultivos en el departamento de Córdoba-Colombia. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 9 (2), 114-120.

McFarland, J. (1907). Nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *Journal of the American Medical Association*, 14, 1176-1178.

Martínez, G. A., Zárate, G. And Urrestarazu, M. (2012). Maguey bagasse waste: a sustainable substrate in soilless culture by melon and tomato crop. *Journal of plant nutrition*, 35, 2135-2144.

Martínez-Gallegos, V. (2014). Rizobacterias nativas solubilizadoras de fosfato y su eficiencia en el desarrollo de maguey mezcalero. *Tesis de maestría*. Oaxaca, México: Universidad Autónoma Benito Juárez, Facultad de medicina y cirugía.

Martins, A., Kimura, O., Goi S. R. and Baldani, J. I. (2004). Effect of co-inoculation of plant growth promoting rhizobacteria and rhizobia on development of common bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *Floresta e Ambiente*, 11, 33-39.

Maynard, D. N. And Hochmuth, G. J. (2007). *Knotts Handbook for Vegetable Growers*, (5th ed.). New York: Wiley Interscience, J. Wiley and sons.

Nahas, E. (2002). Microrganismos do solo productores de fosfatases em diferentes sistemas agrícolas. *Bragantia*, 61, 267-275.

Naik, P., Raman, G., Narayanan, K. and Sakthivel, N. (2008). Assessment of genetic and functional diversity of phosphate solubilizing fluorescent pseudomonads isolated from rhizospheric soil. *BMC Microbiology*, 8, 230-241.

Negrín, M. A. (2005). Especiación de fósforo en suelos ácidos de las Islas Canarias. *Tesis de doctorado* . La Laguna, España.

Oburger, E., Jones, D. and Wensel, W. (2011). Phosphorus saturation and pH differentially regulate the efficiency of organic acid anion mediated P solubilization mechanisms in soil. *Soil Science Society of America Journal*, 65, 780-787.

Oficina Estatal de Información para el Desarrollo Rural Sustentable de Oaxaca. (2011). *Maguey-mezcal, regiones productoras de Oaxaca*. Oaxaca de Juárez.

Olaleye, O., Olajire, R., Abaidoo, C. and Nnenna, I. (2012). Phosphorus response efficiency in cowpea genotypes. *Journal of Agricultural Science*, 4, 81-90.

Olsen, S. R. and Sommers, L. E. (1982). *Chemical and microbiological properties* (2 ed., Vol. 9). Madison, WI, USA: American Society of Agronomy.

Osorio, A. y Lara, C. (2013). Evaluación del potencial biofertilizante de tres cepas de los géneros *Pantthoea* y *Azotobacter*, aisladas de los suelos de Córdoba, sobre el crecimiento de plántulas de rábano (*Raphanus sativus* L.). *Tesis de grado de Maestría en Biotecnología* . Córdoba, Montería, Colombia: Universidad de Cordoba.

Osorio-Vega, N. (2007). A review on beneficial effects of rhizosphere bacteria on soil nutriente availability and plant nutrient uptake. *Facultad nacional de agronomía-Medellín* , 60 (1), 3621-3643.

Patiño-Torres, C. y Sanclemente-Reyes, E. (2014). Los microorganismos solubilizadores de fósforo: Una alternativa biotecnológica para una agricultura sostenible. *Ciencias Agrícolas*, 10 (2), 288-297.

Perveen, S., Khan, M. S. and Zaidi, A. (2002). Effect of rhizospheric microorganisms on growth and yield of green gram (*Phaseolus radiatus*). *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 72, 421-423.

Podile, A. and Kishore, G. (2006). Plant growth-promoting rizhobacteria. S.S. *Gnanamanickam*, (Ed.) Plant Associated Bacteria, 195-230.

Ponmurugan, P. and Gopi, C. (2006). *In vitro* production of growth regulators and phosphatase activity by phosphate solubilizing bacteria. *African Journal of Biotechnology*, 5 (4), 348-350.

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

Qureshi, M., Shakir, M., Iqbal, A., Akhtar, N. and Khan, A. (2011). Co-inoculation of phosphate solubilizing bacteria and rhizobia for improving growth and yield of mug bean (*Vigna radiata* L.). *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 21 (3), 491-497.

Restrepo, G., Marulanda, S., de la Fe, Y., Díaz, A., Baldani, L. y Hernández, A. (2015). Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 46 (1), 63-76.

Rfaki, A., Nassiri, L. And Ibijbijen, J. (2014). Phosphate-solubilizing bacteria in the rhizosphere of some cultivated legumes from Meknes Region, Morocco. *British Biotechnology Journal*, 4 (9), 946-956.

Robles, I. (2011). *Utilización de residuos orgánicos agroindustriales para la producción de sustratos agrícolas y energías renovables*. Huamuchil: Novauniversitas.

Rodríguez, V. y Ramírez, M. (2010). Señales de reconocimiento plantas y hongos formadores de micorrizas arbusculares. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 11 (1), 53-60.

Sanzano, A. (2003). *El fósforo en el suelo. Facultad de agronomía y zootecnia*. Buenos Aires: Universidad Tecnológica Nacional.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2002, diciembre). NOM-021-SEMARNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de los suelos. Estudios, muestreos y análisis. *Diario Oficial de la Federación*. , 85.

Seema, S., Riyaz, S., Mrugesh, T. and Thivakaran, G. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. (*Springer*) Recuperado el 28 de diciembre de 2015 de SpringerPlus: <http://www.springerplus.com/content/2/1/587>

Selvaraj, P., Madhaiyan, M. and Sa, T. (2008). Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria from chinese cabbage and their effect on growth and phosphorus utilization of plants. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18, 773-777.

Sharan, A., Shikha, S. and Gaur, R. (2008). *Xanthomonas campestris*, a novel stress tolerant, phosphate-solubilizing bacterial strain from saline-alkali soils. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24 (6), 753-759.

Sundara, R. and Shina, M. (1969). Phosphate dissolving micro organisms in the soil and rhizosphere Indian. *Journal of agricultural*, 1, 301-307.

Tabatabai, M. A. and Bremner, J. M. (1969). Use of p-nitrophenylphosphate for assay of phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 1, 301-307.

Vacheron, J., Desbrosses, G., Touraine, B., Muller, D., Legendre, L. and Moenne-Loccoz, Y. (2013). Plant growth promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in Plant Science*, 4, 356-375.

Walkey, A. and Black, I. (1954). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37, 29-38.

Walpola, B. and Yoon, M. (2012). Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria and their co-inoculation efficiency on tomato plant growth and phosphorous uptake. *African Journal of Microbiology Research*, 7 (3), 266-275.

Walpola, B. and Yoon, M. (2013). Phosphate solubilizing bacteria: Assessment of their effect on growth promotion and phosphorous uptake on mug bean (*Vigna radiata* L.). *Chilean Journal of agriculture*, 73, 275-281.

Yarzabal, L. (2010). Soil biology and agriculture in the Tropics. *Soil Biology*, 21, 209-233.