

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



Producción Orgánica de Pepino (*Cucumis sativus* L.) con Biofertilizantes y Acolchado Plástico en Condiciones de Casasombra.

Por:

ESTEVAN VÁSQUEZ SANTIAGO

Tesis

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México,

Junio, 2012.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Producción Orgánica de Pepino (*cucumis sativus* L.) con Biofertilizantes y
Acolchado Plástico en Condiciones de Casasombra.

Por:

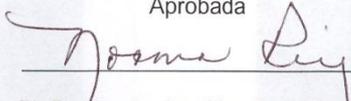
ESTEVAN VÁSQUEZ SANTIAGO

Tesis

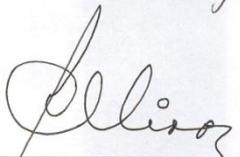
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

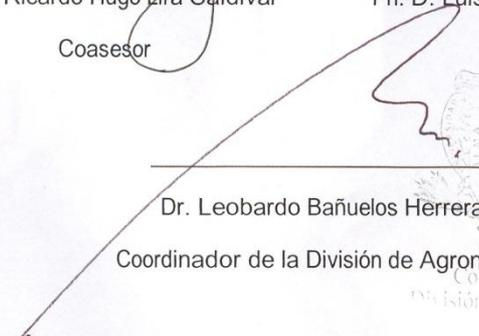
Aprobada


Ph.D. Norma Angélica Ruiz Torres

Asesor principal


Ph. D. Ricardo Hugo Lira Saldivar
Coasesor


Ph. D. Luis Alonso Valdez Aguilar
Coasesor


Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía

Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2012.

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por darme la oportunidad de formarme como profesionista.

Al Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) y en especial al **Departamento de Plásticos en la Agricultura**, por el apoyo que me brindaron para la realización de este trabajo.

A la empresa **Greencorp Biorganiks de México, S.A. de C.V.**, por donar sus productos Orgánico-Biológicos para la nutrición y manejo de plagas y enfermedades en el cultivo de pepino.

Al Ph.D. Ricardo Hugo Lira Saldivar, por su calidad humana, y por el constante apoyo brindado en la dirección de este proyecto de tesis.

A la Ph.D. Norma Angélica Ruiz Torres, por todo su apoyo brindado en la realización de este trabajo.

Al Ph.D. Luis Alonso Valdez Aguilar, por todo su apoyo brindado en la realización de este documento.

A la L. C. Q. Magdalena Olvera Esquivel. Por su participación técnica en la realización del experimento en el laboratorio del CCDTS de la UAAAN.

Al Ing. Felipe Hernández Castillo, por su colaboración y asesoría en el experimento en casasombra en el CIQA.

A la Lic. Josefina Zamora Rodríguez, por todo su apoyo brindado en las observaciones realizadas en el área de Microscopía óptica del CIQA.

PRODUCCIÓN ORGÁNICA DE PEPINO (*Cucumis sativus* L.) CON BIOFERTILIZANTES Y ACOLCHADO PLÁSTICO EN CONDICIONES DE CASASOMBRA

RESUMEN GENERAL

Con el objetivo de estudiar la efectividad de dos biofertilizantes comerciales (1) Azotón conteniendo las bacterias *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter* spp. y *Bacillus* spp.; (2) Ecorriza conteniendo el hongo *Glomus intraradices*, en el cultivo de pepino y con la perspectiva de disminuir los costos de producción y minimizar la contaminación ambiental se realizaron dos experimentos: el primero fue para evaluar la germinación de semillas de pepino en condiciones de laboratorio y en el segundo se analizó la producción de este cultivo en condiciones de agricultura protegida en casasombra. Al valorar los resultados del bioensayo de germinación se determinó que el biofertilizante Azotón superó numéricamente al testigo en las variables longitud de radícula y longitud de plúmula. En el experimento en casasombra se encontró diferencia altamente significativa para el factor biofertilización en la variable altura de plantas a los 60 días después de la siembra. También se encontró diferencia estadísticamente significativa para la interacción de segundo orden (biofertilización X acolchado X fertilización química) en la variable rendimiento. Este resultado sugiere que la biofertilización puede sustituir parcialmente a la fertilización tradicional recomendada en el cultivo de pepino, y con la ventaja potencial de que el uso de esos biofertilizantes no altera las propiedades fisicoquímicas del suelo, ni contaminan el ambiente.

Palabras clave: agricultura protegida, *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp., *Glomus intraradices*, ácido giberélico, germinación, biofertilización.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN GENERAL	ii
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ÍNDICE DE CUADROS	vii
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPITULO 1	4
RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	5
REVISIÓN DE LITERATURA	7
MATERIALES Y MÉTODOS	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
CONCLUSIÓN	15
CAPITULO 2	17
RESUMEN	17
INTRODUCCIÓN	18
REVISIÓN DE LITERATURA	21
MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
CONCLUSIÓN	43
RESULTADOS Y DISCUSIÓN GENERAL	38
CONCLUSIÓN GENERAL	39
RECOMENDACIONES	42
LITERATURA CITADA	43

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1. Efecto de los biofertilizantes en el vigor de semillas, cantidad de plántulas normales y plántulas anormales de plántulas de pepino, en función de los tratamientos Azotón, Ecorriza, y el fitorregulador AG₃. Valores promedio de tres repeticiones..... 14

CAPÍTULO 2

- Figura 1. Temperatura y humedad relativa registradas el 29 de agosto del 2011, dentro de la casasonbra, a los 33 días después de la siembra27
- Figura 2. Temperatura y humedad relativa registradas el 1 de septiembre del 2011, dentro de la casasonbra, a los 36 días después de la siembra.....28
- Figura 3. Medias de los tratamientos en la altura de plantas de pepino a los 30, 45 y 60 días después de la siembra (dds) bajo condiciones de casa sombra. Valores promedio de cuatro repeticiones31
- Figura 4. Efecto de los tratamientos en el índice del contenido relativo de clorofila (IRCC) en las hojas de la planta de pepino a los 30 días después de la siembra (dds). Valores promedio de cuatro repeticiones.32
- Figura 5. Vista microscópica del lado abaxial de las hojas de pepino cultivadas en casa sombra.33

Figura 6. Vista microscópica del lado abaxial de las hojas de pepino cultivadas en campo abierto.....	34
Figura 7. Efectos de las combinaciones de niveles de fertilización química con biofertilización y acolchado.....	37

ÍNDICE DE CUADROS

CAPÍTULO 1

- Cuadro 1. Descripción de los tratamientos evaluados en la prueba de germinación de semillas en condiciones de laboratorio 12
- Cuadro 2. Medias de las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de pepino. Valores promedio de tres repeticiones. 13

CAPÍTULO 2

- Cuadro 1. Productos orgánicos aplicados durante el cultivo de pepino, proporcionados por la empresa Greencorp Biorganiks de México, S.A. de C.V26
- Cuadro 2. Tratamientos evaluados en la producción de pepino en casasombra.29
- Cuadro 3. Análisis de varianza para las variables: altura de plantas, área foliar, índice relativo del contenido de clorofila y peso seco de las hojas en el cultivo de pepino en condiciones de casasombra.....31
- Cuadro 4. Análisis de varianza para las variables, diámetro del fruto, longitud del fruto, peso del fruto y rendimiento en el cultivo de pepino en condiciones de casasombra.36

INTRODUCCIÓN GENERAL

A nivel mundial los productos hortícolas se destacan por pertenecer a un mercado en crecimiento, generadores de divisas y empleos. En los últimos años han recibido un marcado impulso en el campo de la biotecnología; en especial a lo que se refiere a la investigación en el desarrollo de la agricultura sustentable.

En México la producción de pepino se encuentra entre las principales especies de hortalizas cultivadas comercialmente para exportación. El deterioro ecológico causado por la agricultura tradicional tiene como principales causas el manejo inadecuado de los recursos naturales suelo y agua, así como el incremento en el uso de los agroquímicos sintéticos. Por estas razones, se hace necesario incorporar tecnologías que nos permitan minimizar el uso de esos productos químicos en los sistemas productivos agrícolas convencionales. El uso de los biofertilizantes es una tecnología que potencialmente puede permitir minimizar el deterioro ecológico, así como disminuir los costos de producción en los sistemas agrícolas.

El término biofertilizantes se ha utilizado para designar a aquellas sustancias que contienen microorganismos (MICs) vivos que cuando se aplica a la semilla, planta o suelo, colonizan a la rizósfera o el interior de las plantas y promueven su crecimiento, debido al incremento de los nutrientes que ponen a disposición de las plantas (Vessey, 2003).

Las rizobacterias y los hongos micorrícicos, son los MICs que se han empleado como componentes de los biofertilizantes en la agricultura. Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCP) y los hongos

micorrízicos arbusculares, estimulan positivamente el crecimiento de las plantas, también contribuyen al estado nutricional de las mismas, generando incrementos en el rendimiento y en la eficiencia de la fertilización nitrogenada (Terry y Leyva, 2006).

Las bacterias promotoras de crecimiento de plantas o BPCP benefician a las plantas a través de diferentes mecanismos como: la fijación de N₂, la producción de fitohormonas y sideróforos, la solubilización de fosfato y la síntesis de enzimas que alteran los niveles de fitohormonas y promueven el biocontrol de los fitopatógenos (Holguín *et al.*, 2003).

Los hongos micorrízicos participan directamente en la nutrición de la planta mediante un proceso simbiótico. La simbiosis aumenta la absorción de los nutrientes menos móviles, fundamentalmente el fósforo y también de los micronutrientes como el zinc y cobre, e influyen en la absorción de agua (Ortas, 2010).

Los hongos micorrízicos desarrollan un extenso micelio extra radical que explora regiones del suelo inaccesibles a la raíz, incrementando así la captación de nutrientes como el fósforo y nitrógeno, favoreciendo el crecimiento de la planta. Además, contribuye a reducir los daños a la planta ocasionados por el estrés biótico, incluidos los fitopatógenos, y el abiótico, incluyendo a los contaminantes del ambiente como los metales pesados (Bashán *et al.*, 2006).

Los primeros biofertilizantes microbianos distribuidos en grandes cantidades en el campo mexicano, fueron en el programa Alianza para el Campo, SAGARPA, durante el ciclo agrícola de Primavera- Verano (PV)

1999 y Otoño–Invierno (OI) 1999-2000; los MICs usados en el programa Alianza para el Campo fueron *Azospirillum brasilense*, *Glomus intraradices* y *Rhizobium etli*. En total se distribuyó material biológico para biofertilizar 1, 882,263 has en casi todo el país (Aguirre *et al.*, 2009).

El cultivo de pepino es de gran importancia económica para México y ante la escasa información que existe sobre su producción en condiciones de casasombra, y suelo con acolchado plástico utilizando biofertilizantes como recursos que minimicen el uso de fertilizantes químicos-sintéticos, surgió la necesidad de realizar una investigación que permitiera comparar el efecto de los biofertilizantes en la germinación, crecimiento y rendimiento de este cultivo hortícola. Por consiguiente, el objetivo principal de este trabajo fue evaluar el efecto de la inoculación y la coinoculación o inoculación dual de dos biofertilizantes comerciales: Azotón y Ecorriza, en el crecimiento y rendimiento del cultivo de pepino en un suelo con acolchado plástico y en condiciones de casasombra.

CAPÍTULO 1

EFFECTO DE DOS BIOFERTILIZANTES EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE PEPINO

RESUMEN

Con el objetivo de conocer el efecto de rizobacterias y micorrizas en la germinación de semillas de pepino (*Cucumis sativus*) en condiciones de laboratorio, se evaluó el efecto de dos biofertilizantes comerciales: Azotón (*Azospirillum brasilense*, *Azotobacter* spp., y *Bacillus* spp.) y Ecorriza (micorriza arbuscular *Glomus intraradices*), teniendo al fitoregulador de crecimiento, el ácido giberélico (AG₃) como testigo. Se realizó el experimento bajo un diseño completamente al azar con seis tratamientos y 3 repeticiones. Los tratamientos fueron los siguientes: Testigo absoluto, Azotón, Ecorriza, AG₃ a 100 y 200 ppm, y la coinoculación de los dos biofertilizantes Azotón + Ecorriza. Al evaluar los resultados de la germinación se observó que el biofertilizante Azotón superó al testigo en las variables longitud de radícula y longitud de plúmula; resultados que nos permiten considerar que la inoculación con rizobacterias en semillas de pepino son una opción de bajo costo y ecológico para la producción de plántulas más vigorosas. Esta diferencia entre tratamientos, fue numérica, pero no estadística.

Palabras clave: pepino, biofertilizantes, rizobacterias, *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter* spp, *Bacillus* spp., *Glomus intraradices*, ácido giberélico, germinación.

INTRODUCCIÓN

Una de las ventajas del uso de los MICs benéficos en la agricultura es la de producir hormonas vegetales que inducen la elongación celular y por consiguiente el crecimiento de la planta en general. También generan hormonas como el ácido indolacético (IAA), giberelinas, vitaminas como los ácidos biotina y fólico (Meenakshisundaram *et al.*, 2011); por su parte, Cassán (2009) afirma que la bacteria *A. brasilense* producen ácido indolacético (IAA) y ácido giberélico (AG_3), productos que también estimulan el crecimiento de las plantas.

La síntesis de fitohormonas como las auxinas, particularmente el ácido indolacético, promueven el crecimiento de las raíces y la proliferación de los pelos radicales, mejorando la absorción de agua y minerales del suelo y con ello un mejor y mayor desarrollo de la planta (Caballero-Mellado, 2006). En ese mismo sentido, Kidoglu *et al.*, (2008) obtuvo respuestas positivas al probar el efecto de las rizobacterias en el crecimiento de plántulas de pepino.

La simbiosis que promueven las micorrizas arbusculares presentes en la mayoría de las plantas terrestres, favorece la nutrición mineral, la captación de agua e incrementa la resistencia a estrés abiótico, biótico y la protección contra agentes patógenos (Lioussanne, 2010).

En la siembra de semillas es fundamental conseguir un buen establecimiento de las plantas y esto se logra al tener plantas con buena longitud radical que le permiten a la planta explorar mayores profundidades

del suelo en busca de nutrientes y agua. Así también el rápido crecimiento de las estructuras aéreas que le dan la ventaja de competir contra malezas.

El objetivo de este trabajo fue analizar y comparar el efecto de dos biofertilizantes en la germinación de semillas de pepino en condiciones de laboratorio. La hipótesis de trabajo fue que es posible obtener mayor crecimiento de plántulas al inocular las semillas de pepino con rizobacterias.

REVISIÓN DE LITERATURA

La germinación de las semillas. Moreno (1984) define a la germinación como la emergencia y desarrollo de aquellas estructuras esenciales que provienen del embrión, y que manifiestan la capacidad de la semilla para producir una planta normal bajo condiciones favorables.

Ascón y Talón (2008) señalan que la germinación es el proceso que se inicia con la toma de agua por la semilla seca (imbibición) y termina cuando una parte de ésta (eje embrionario en dicotiledóneas o radícula en monocotiledóneas y gimnospermas), atraviesa las estructuras envolventes que la rodean (emergencia). Con la emergencia radicular finaliza la germinación y se inicia el crecimiento de la plántula. Se conoce como emergencia radicular el proceso por el cual la radícula o el eje embrionario atraviesan los tejidos envolventes y pasan de un metabolismo preferentemente anaerobio a otro típicamente aerobio. La emergencia marca el fin de la germinación y el comienzo del crecimiento de la plántula

Tipos de germinación. En las dicotiledóneas pueden reconocerse dos tipos de germinación, la epigea y la hipogea. Estos términos se refieren a la posición de los cotiledones con respecto a la superficie terrestre, una vez desarrolladas las plántulas germinales (Ludwig, 2000).

En las semillas hipogeas en la que los cotiledones permanecen bajo el suelo durante la germinación y la nacencia, el hipocótilo no se diferencia ni crece y es prácticamente inexistente. Por el contrario en las semillas epigeas el hipocótilo crece rápidamente, arrastrando consigo a los cotiledones y

sacándolas a la superficie. Entonces la separación entre el hipocótilo y radícula se establece entonces claramente por el sentido de su crecimiento (Besnier, 1989).

Ensayos de germinación. En los ensayos de germinación se cuenta como semillas germinadas aquellas que producen plántulas normales, capaz de dar a lugar a plantas normales en condiciones normales de cultivo (Besnier, 1989).

Plántulas normales. Son aquellas plántulas con potencial para desarrollarse en forma continua y convertirse en plántulas satisfactorias cuando se les cultiva en suelos de buena calidad y en condiciones óptimas (Warham *et al.*, 1994).

Vigor de las semillas. El vigor de las semillas se refiere a las propiedades de la semilla que determinan el potencial de emergencia uniforme y rápida, y el desarrollo de plántulas normales en diversas condiciones de campo (Warham *et al.*, 1994).

El vigor de las semillas tiene un papel importante durante el almacenamiento. Las semillas vigorosas poseen un mayor potencial de almacenamiento y se preservan bien por largos periodos hasta que llegan a ser no viables. El vigor es un término relativo usado para estimar la calidad de las semillas. Las semillas vigorosas producen plántulas uniformes, sanas y fuertes que tienen mejor establecimiento en campo y por lo general exhiben relativamente mayor longevidad (Doijode, 2001).

Semillas no germinadas. Se denominan así a aquellas que no germinaron al concluir el periodo de una prueba ordinaria de germinación (Warham *et*

al., 1994) Las bacterias promotoras de crecimiento de las plantas no leguminosas han sido el foco de investigación desde varias décadas, porque las plantas no leguminosas como arroz, trigo, maíz, etc., son los cultivos de mayor importancia para la alimentación de la población humana en constante crecimiento en nuestro planeta (Hartman y Bashan, 2009).

Las BPCP representan numerosas especies en el suelo y al igual que muchas especies de hongos, particularmente los micorrícicos, se encuentran asociados con la mayoría de las especies de plantas, sino es que con todas, y comúnmente se les encuentra en la mayoría de los ambientes. Entre las especies de BPCP más ampliamente estudiadas se encuentran las rizobacterias, las cuales colonizan la rizósfera y la superficie de las raíces (Caballero, 2006). Los principales reguladores de crecimiento que producen las rizobacterias son las auxinas y el ácido giberélico. El efecto que tiene *A. brasilense* en las plantas es la producción de una variedad de fitohormonas, principalmente IAA, alterando el metabolismo y la morfología de las raíces, lo cual resulta en una mejor absorción de agua, minerales y por ende, un mayor rendimiento (Bashan y Bashan, 2010).

Las auxinas participan en la respuesta fototrópica de las plantas, la formación de raíces adventicias, la elongación de tallos y raíces. Por su parte las citocininas son sintetizadas en las raíces, estimulan la división celular, inhiben el envejecimiento de algunos órganos como las hojas y flores, y pueden revertir el efecto inhibitorio de las auxinas en la dominancia apical (Curtis, 2008). Además de la elongación del tallo, las giberelinas controlan varios aspectos de la germinación como la dormancia, la

movilización de las reservas del endospermo y la elongación y división celular (Zeyger y Taiz, 2002).

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas (CCDTS), de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, de Saltillo, Coahuila. Los materiales biológicos que se usaron fueron semillas de pepino variedad híbrida POINSETT de la empresa comercializadora de semillas SEMINIS, y los biofertilizantes Azotón y Ecorriza de la empresa Greencorp Biorganiks de México, S.A. de C.V.

Las semillas que se usaron para los tratamientos con los biofertilizantes se inocularon siguiendo las indicaciones de la etiqueta del producto, mientras que para los tratamientos, con AG_3 , se colocaron las semillas durante cuatro horas sobre papel filtro humedecidas previamente con esa hormona, posteriormente se colocaron en cajas Petri para poder conservar húmedas a las semillas. Después se procedió a sembrar colocando 25 semillas por cada repetición en papel Anchor enrollados, los cuales fueron colocados dentro de una cámara de germinación a 25 °C durante 8 días.

El experimento se estableció en un diseño completamente al azar con seis tratamientos y tres repeticiones, con 25 semillas por cada repetición. Los tratamientos evaluados se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos evaluados en la prueba de germinación de semillas en condiciones de laboratorio.

Tratamientos
1. Testigo (agua)
2. Ecorriza (micorriza)
3. Azotón (rizobacterias)
4. AG ₃ 100 ppm
5. AG ₃ 200 ppm
6. Ecorriza + Azotón

Variables evaluadas. Las variables que se evaluaron fueron: vigor, plántulas normales (germinación), plántulas anormales, longitud de plúmula, longitud de radícula, así como el peso seco de la radícula y de la plúmula. El vigor se midió al cuarto día después de la siembra contando las semillas que habían emitido una longitud de plúmula y radícula mayor o igual a 2 cm. Se contaron como plántulas normales aquellas que presentaban sus estructuras bien desarrolladas con potencial a crecer y a desarrollarse, esta variable representa el porcentaje de germinación. Para la medición del peso seco, las plántulas se colocaron en bolsitas de papel de estraza perforadas y se secaron a 70 °C por 24 horas, en una estufa de secado.

El análisis estadístico de los datos se realizó con el sistema SAS 9.1. La comparación de medias se hizo a través de la prueba Tukey al 0.05 de probabilidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de las variables; vigor, plántulas normales y anormales no mostraron diferencia significativa entre tratamientos (cuadro 2). Resultados similares obtuvieron Di *et al.*, (2005) al evaluar la germinación y emergencia de *Capsicum annum* L. var. Trompa de Elefante, inoculadas con la rizobacteria *Azospirillum brasilense*. Los mismos autores mencionan que la inoculación es más efectiva a los siete días posteriores a la siembra. Cabe mencionar que la inoculación con *Glomus intraradices* no fue viable en este experimento, pues fue el tratamiento que presentó mayor efecto negativo. Respecto al fitoregulador AG₃ la concentración 100 ppm, fue la que mejor respuesta produjo en la variable vigor (Figura 1).

Cuadro 2. Medias de las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de pepino. Valores promedio de tres repeticiones.

Tratamiento	VIGOR	PN (%)	PA (%)	LR (cm)	LP (cm)	PSR (mg/plántula)	PSP (mg/plántula)
Testigo	68 a	100 a	0 a	16.7 a	9.5 a	0.07 a	0.407 a
Ecorriza	64 a	93 a	15 a	16.7 a	10.0 a	0.07 a	0.366 a
Azotón	71 a	97 a	8 a	17.5 a	10.3 a	0.07 a	0.387 a
AG3 100 ppm	68 a	99 a	4 a	16.6 a	9.9 a	0.08 a	0.384 a
AG3 200 ppm	69 a	100 a	0 a	16.6 a	10.5 a	0.08 a	0.382 a
Coinoculacion Az+ Ec	69 a	93 a	12 a	16.4 a	10.5 a	0.07 a	0.386 a
C.V %	15	7.5	99	8.4	5.1	13.2	5.600

PN= Plántulas normales, PA= Plántulas anormales LR=Longitud de la radícula, LP=Longitud de la plúmula, Az+ Ec = Azotón + Ecorriza, C.V. =coeficiente de variación

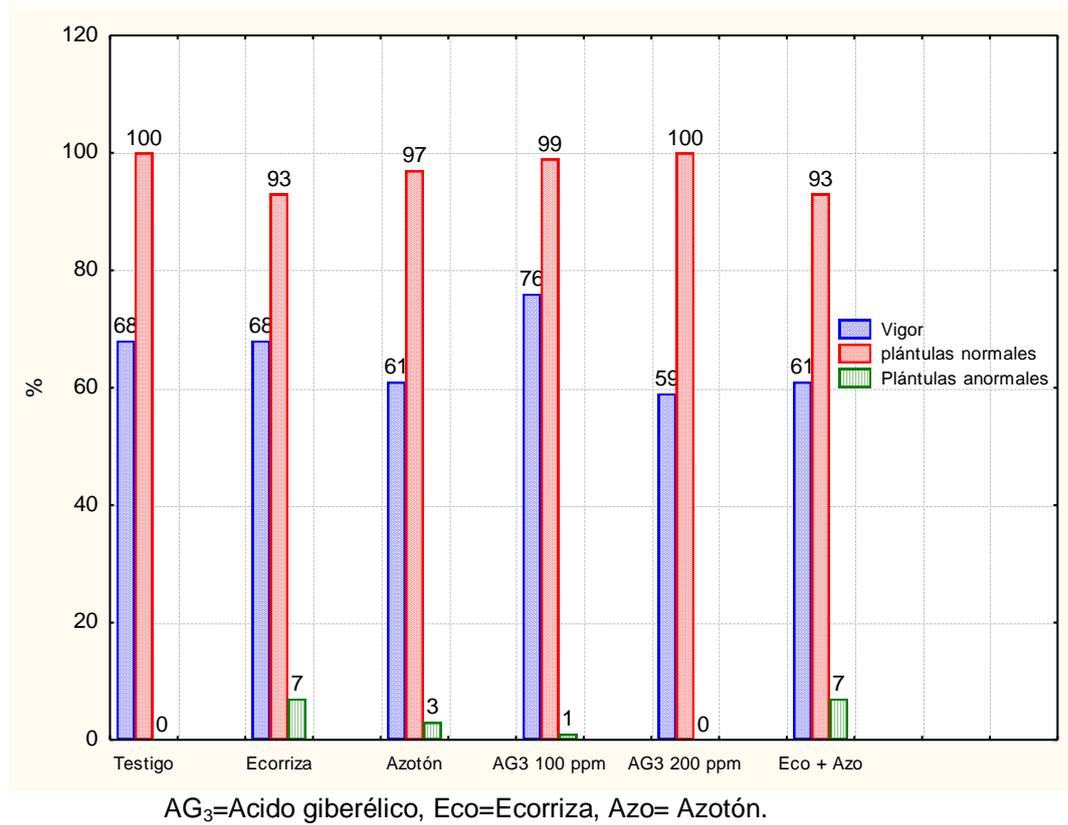


Figura 1. Efecto de los biofertilizantes en el vigor de semillas, porcentaje de plántulas normales (germinación) y de plántulas anormales en pepino, en función de los tratamientos Azotón, Ecorriza, y el fitorregulador AG₃.

En el análisis estadístico realizado para las variables; longitud de plúmula y longitud de radícula, no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, sin embargo, se apreció una tendencia a incrementarse la longitud de radícula en el tratamiento con Azotón (cuadro 2), el cual fue superior al fitorregulador AG₃. Hernández (2006) menciona que las BPCP influyen en el metabolismo de las plantas promoviendo el desarrollo del sistema radicular. Carcaño (2006) afirma que las BPCP liberan fitohormonas que promueven el crecimiento de las plantas, siendo el ácido indol-3-acético uno de ellos.

Resultados similares fueron obtenidos por Meenakshisundaram (2011) al inocular *Azospirillum* + *Azotobacter* en semillas de *Delonix regia*. Respecto a la longitud de la plúmula, la tendencia al incremento se observó con los biofertilizantes solos o combinados (coinoculación) y el fitoregulador AG₃; esto nos permite inferir que los biofertilizantes pueden sustituir al ácido giberélico en estas condiciones.

Respecto a las variables peso seco de radícula y peso seco de plúmula al realizar el análisis de varianza no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos para estas variables (cuadro 2). Similarmente Alimadadi (2011) al realizar un ensayo con semillas de *Cicer arietinum* L., logró resultados semejantes a los aquí señalados. Este autor menciona que el peso seco de las plántulas se vio afectada por casi todos los tratamientos, excepto con hongos micorrízicos, ya que el tratamiento con *G. intraradices* mostró menor peso seco en comparación con las plántulas del tratamiento testigo.

CONCLUSIONES

El uso de las rizobacterias en la germinación de semillas y en la producción de plántulas de pepino puede ofrecer efectos benéficos múltiples, desde un aumento en el crecimiento de las plantas, hasta la protección contra microorganismos patógenos del suelo; además, pueden ayudar a reducir el empleo de productos químicos sintéticos en la agricultura y los altos costos que esto implica en el proceso productivo. De este razonamiento se deriva la importancia de hacer ensayos que permitan comprobar las teorías propuestas. Aunque para lograr esto, los ensayos en sustrato con suelo serían los más indicados, ya que como se observó en este experimento, los resultados que se obtuvieron no presentaron efectos contundentes, debido a la alta calidad fisiológica de la semilla. Lo anterior propició que tanto el testigo como los tratamientos resultaran estadísticamente iguales en la variable plántulas normales que representa el porcentaje de germinación, y que se considera un indicador de viabilidad de la semilla.

CAPITULO 2

CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DE PEPINO EN CONDICIONES DE CASASOMBRA Y SUELO CON Y SIN ACOLCHADO PLÁSTICO, POR EFECTO DE BIOFERTILIZANTES BACTERIANOS Y MICORRÍDICOS

RESUMEN

Con el objetivo de conocer el efecto de los biofertilizantes en las diferentes etapas de crecimiento y desarrollo del pepino (*C. sativus* L.), se evaluó el efecto de dos biofertilizantes comerciales: Azotón (a base de esporas de *A. brasilense*, *Azotobacter* spp., y *Bacillus* spp.) y Ecorriza, conteniendo el hongo *G. intraradices*, acompañados con diferentes dosis de fertilización (50 y 100%) de la recomendada para este cultivo; en suelo con y sin acolchado plástico en condiciones de casasombra. En este trabajo se utilizó un diseño en bloques al azar con ocho tratamientos y cuatro repeticiones y para la evaluación de los resultados se realizó un arreglo factorial 2x2x2. Se encontraron diferencias altamente significativas para la biofertilización en la variable altura de plantas a los 60 días después de la siembra (dds) y en el área foliar a los 45 dds. Así también para los factores acolchado y fertilización a los 45 dds en el peso seco de las hojas. En la variable rendimiento se encontró efecto en la interacción acolchado X biofertilización X fertilización. Estos resultados sugieren que los biofertilizantes son una alternativa ecológica y económica para utilizarlos como sustitutos parciales de la fertilización tradicional en el cultivo de pepino en condiciones de casasombra.

Palabras clave: pepino, biofertilizantes, *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter* spp, *Bacillus* spp., *Glomus intraradices*, fertilización, acolchado, casasombra.

INTRODUCCIÓN

Lograr que las prácticas agrícolas mejoren sus productividades para cumplir con la meta de alimentar a miles de millones de personas en el mundo, sin deteriorar los suelos, es posible gracias a la biotecnología y el uso de microorganismos que establecen relaciones no patogénicas con las plantas y que favorecen su crecimiento y resistencia a limitaciones frente a patógenos, sequía, salinidad, etc. (Sanjuán y Moreno, 2010). Las rizobacterias antagonistas, como *Pseudomonas fluorescentes* y ciertas especies de *Bacillus*, son conocidas como agentes de biocontrol de enfermedades radiculares causadas por hongos en los cultivos agrícolas (Maleki *et al.*, 2011). Las rizobacterias han sido usadas para mejorar el rendimiento de los cultivos y para desarrollar una agricultura sustentable (Adjanohoun *et al.*, 2011).

Debido a los efectos negativos que han causado los fertilizantes químicos en el deterioro del medio ambiente se trabaja desde hace algunas décadas en la introducción de alternativas de fertilización en el manejo de los cultivos. La micorrización es una de las técnicas biológicas empleadas en muchos de ellos (Noda, 2009).

La importancia de los plásticos para la agricultura es muy variada, y entre los principales están: incremento en los rendimientos, mayor calidad de la producción, precocidad en la cosecha, cosechar fuera de temporada, mayor eficiencia en el uso del agua, control de malezas, control de algunas enfermedades y algunas plagas, ahorro de mano de obra, eficiencia en el uso de insumos, mayor seguridad en las producciones, protección de la

producción; y todo esto finalmente repercute en mayores beneficios económicos para los productores y comercializadores (Munguía *et al.*, 2003).

A nivel mundial se usa el acolchado plástico para la producción comercial en cerca de 14,000,000 has. En China, 9,600,000 de ha son cultivadas con acolchado plástico, mientras que en España 120,000; Francia reporta 100,000 e Italia 85,000 has (Joüet, 2006). En México, los principales cultivos en los que se usa el acolchado plástico son: tomate, pimiento, pepino, berenjena, melón, sandía y fresa (Ibarra-Jiménez *et al.*, 2004).

La razón principal para el uso de acolchado plástico en la producción de vegetales es su capacidad para modificar el microclima de los cultivos. El plástico sirve como una barrera física limitante para la pérdida de humedad y cambia la radiación solar por radiación térmica o calor sensible (Ngouajio *et al.*, 2007). La protección de cultivos con mallas es una práctica común utilizada para alcanzar numerosos objetivos como: sombreado, protección contra el viento, granizo y exclusión de insectos. Además, el uso de estas mallas modifica el microclima del cultivo (Tanny *et al.*, 2009).

Muchas rizobacterias tienen la capacidad de promover el crecimiento de la planta de pepino en suelo salinizado y mejorar el rendimiento mediante la protección de estas plantas contra los patógenos del suelo (Egamberdieva *et al.*, 2011). Por su parte Rabie *et al.*, (2005) afirma que la inoculación dual o coinoculación del hongo micorrízico arbuscular *Glomus clarum* y la bacteria *Azospirillum* fijadora de nitrógeno, pueden apoyar tanto a las necesidades de N y P, como para evitar los efectos derivados del exceso de

cloruro de sodio y pueden ser útiles en términos de recuperación de suelos salinos.

Al estudiar el efecto de las micorrizas en la altura de plantas, diámetro del tallo, número de hojas, peso fresco de raíz, tallo y hojas de melón, se ha reportado que todas las especies de micorrizas aumentaron el crecimiento de la planta de melón en comparación con las plantas testigo (Abak *et al.*, 2010).

Por lo tanto, y considerando lo antes señalado, el objetivo de este trabajo fue comparar el efecto de la coinoculación de las rizobacterias y del hongo micorrícico arbuscular *G. intraradices*, en la producción de pepino en suelo con y sin acolchado plástico bajo condiciones de casasombra. La hipótesis de este trabajo fue que aplicando biofertilizantes como sustituto parcial de la fertilización química tradicional, se podrían obtener resultados similares que con la dosis recomendada de la fertilización tradicional en el rendimiento del cultivo de pepino en condiciones de casasombra y en suelo con acolchado.

REVISIÓN DE LITERATURA

Producción mundial de pepino y pepinillos. En el año 2009 la producción mundial de pepino y pepinillos el primer lugar fue ocupado por China, con una producción de 44, 250,182 ton; el segundo lugar correspondió a Turquía con 1, 735,010 ton, seguido por Irán con una producción de 1,603,740 ton. En este contexto México ocupa el treceavo lugar con 433,644 ton (FAOSTAT, 2011).

Producción nacional de pepino y pepinillos. En el 2010 la producción nacional de pepino fue de 477,366 ton, la mayor producción lo obtuvo Sinaloa con 188,596, seguido por Michoacán con 85,491 y Morelos con 26,175 ton. Estos tres estados cubren el 62.8 % de la producción total del país (SIAP, 2011).

Las bacterias promotoras del crecimiento de las planta (BPCP). Las BPCP representan numerosas especies del suelo y al igual que muchas especies de hongos, particularmente los micorrícicos, se encuentran asociados con la mayoría de las especies de plantas, sino es que con todas, y comúnmente se les encuentra en la mayoría de los ambientes. Entre las especies de BPCP más ampliamente estudiadas se encuentran las rizobacterias, las cuales colonizan la rizósfera y la superficie de las raíces (Caballero, 2006). Algunas bacterias como *B. subtilis*, además de promover el crecimiento de las plantas, también contribuyen a la protección de los cultivos contra las enfermedades del suelo.

Un reporte reciente indica que experimentando con un biofertilizante a base de cepas de *B. subtilis* cepa SQR9, se demostró con éxito el control del marchitamiento ocasionado por el hongo *Fusarium oxysporum* sp. *Cucumerinum* en un cultivo de pepino sembrado en invernadero (Cao *et al.*, 2011). Por otro lado, Yan *et al.* (2011) mencionan que el tratamiento de semillas con hongos endófitos ha sido considerado como un método eficaz para el control de nematodos parásitos de plantas. Los principales países en realizar la aplicación de *Azospirillum* son: México con 300,000 ha en el 2007 y Argentina con 220,000 ha en trigo y maíz en el 2008 (Hartman y Bashan, 2009).

Las micorrizas en la agricultura sustentable (AS). En la AS los MICs del suelo cumplen la función de sistemas de bajo insumo, manteniendo la fertilidad del suelo y el control biológico de los MICs que son fitopatógenos. Una mejor comprensión de las interacciones entre los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y otros MICs, son necesarios para el desarrollo de la AS o sostenible (Johansson *et al.*, 2004).

Los HMA pueden colonizar el sistema radicular de la mayoría de las plantas terrestres y modular el crecimiento de éstas mediante la mayor disponibilidad de nutrientes, principalmente fósforo; el transporte de fosfato es una característica fundamental de esta simbiosis colonizadora (Karandashov y Bucher, 2005).

La extensión de las hifas de los hongos micorrícicos ocasiona un incremento de las aéreas de absorción, y por otro lado, la exploración de un mayor volumen de suelo que el que normalmente podría alcanzar el

crecimiento de la raíz por sí sola. Además de explorar sitios más allá de la zona de agotamiento de fósforo, las hifas parece que son más eficientes en la toma de este nutrimento y en su traslocación a las raíces de las plantas (Aguilera *et al.*, 2008).

La simbiosis micorrízica arbuscular, presente en la mayoría de las plantas terrestres, favorece la nutrición mineral, la captación de agua e incrementa la resistencia a estrés abiótico y biótico, así como la protección contra agentes patógenos (Lioussanne, 2010).

Acolchado del suelo El acolchado de suelos es una técnica muy antigua que consiste en colocar materiales como paja, aserrín, capotillo de arroz, plástico o papel, cubriendo el suelo, con la finalidad de proteger al cultivo y al suelo de los agentes atmosféricos, promover cosechas precoces, mejorar rendimientos y evitar el contacto del producto con el suelo (Alvarado y Castillo, 2003).

Malla sombra o casasombra. En las zonas con climas cálidos la necesidad de aumentar la ventilación de invernaderos para mejorar el clima ha llevado a la sustitución de cubiertas de plástico por mallas, además la colocación de estas reduce la entrada de plagas vectores de enfermedades (Flores y Montero, 2008). Proteger a los cultivos con malla tiene la ventaja de reducir la entrada de plagas en los invernaderos, pero al mismo tiempo reduce el impacto de la radiación directa del sol y cambia el microclima (Mutwiwa y Tantau, 2009).

La Agricultura orgánica. En un intento por describir más claramente el sistema orgánico se usan también términos como "biológico" y "ecológico".

Los sistemas de producción orgánica se basan en normas de producción específicas y precisas cuya finalidad es lograr ecosistemas agrícolas óptimos, que sean sostenibles desde el punto de vista social, ecológico y económico. La agricultura orgánica (AO) es un sistema integral de gestión de la producción, que promueve y mejora la salud del ecosistema agrícola, incluidos su biodiversidad, ciclos biológicos y la actividad biológica del suelo (FAO, 2009).

Agricultura orgánica en el mundo. Globalmente se reportan 37.2 millones de ha de tierras con AO. Las regiones con las mayores áreas de AO son: Oceanía 12.2 millones de ha, Europa con 9.3 millones y América Latina con 8.6 millones de ha. Los países con mayor superficie en AO son: Australia, Argentina y el Reino Unido (Willer y Kilcher, 2011).

Agricultura Orgánica en México. La mayoría de los productos orgánicos producidos en México están destinados a la exportación, principalmente hacia Estados Unidos y la Unión Europea, en menor medida a Japón y otros países más pequeños. El cultivo orgánico de exportación más importante es el café, que representa el 61% o 239,763 ha. Además, 35,000 ha se utilizan para la producción de hortalizas, 16,000 ha de cacao, 10,000 ha para el aguacate, y cantidades importantes de agave, mango, coco, *Aloe vera*, maíz, cítricos, miel y ajonjolí (Gómez *et al.*, 2009).

Requerimientos climáticos del cultivo de pepino. El cultivo se desarrolla óptimamente con temperaturas de 18 a 25 °C, sobre los 40 °C, el crecimiento se detiene, cuando son inferiores a 14 °C el crecimiento cesa, y las plantas mueren cuando la temperatura desciende a menos 1°C. Este

cultivo se desarrolla bien cuando la humedad relativa es baja, y cuando es alta se vuelve susceptible a enfermedades fungosas (López, 2003).

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el campo experimental del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), en Saltillo, Coahuila. El suelo del lote experimental es de textura arcillo-limosa. Con un pH de 7.8. La investigación se efectuó en los meses de julio a octubre del 2011, en condiciones semiprotegidas en casasombra con estructura metálica, cubierta con malla de color cristal de 50% de transmisión de luz. Los materiales biológicos que se usaron fueron semillas de pepino variedad híbrida Poinsett de la empresa comercializadora de semillas Seminis, y biofertilizantes Azotón y Ecorriza de la empresa Greencorp Biorganiks de México, S.A. de C.V. para el control de plagas y enfermedades del cultivo se usaron productos órgano-biológicos (Cuadro 1) de la empresa Greencorp Biorganiks de México, S.A. de C.V.

Cuadro 1. Productos orgánico-biológicos aplicados durante el ciclo del cultivo de pepino.

Insecticidas y Repelentes
• eBIOLUZION
• Pestil Out
Acaricidas
• Akabrown
• Abamixxin
Fungicidas
• Best Ultra S
• Best Ultra F
Bactericida
• BiobacterO
Acondicionador de agua
• Proflux
Nematicida
• Nematón plus

En el experimento se utilizó el diseño bloques al azar con ocho tratamientos y cuatro repeticiones y para el análisis de resultados se usó un arreglo factorial combinatorio. La parcela experimental estuvo integrada por 320 plantas, más las plantas sembradas en los bordos. Cada repetición estuvo integrada por 10 plantas. Las variables evaluadas fueron: altura de planta, área foliar, contenido de clorofila, longitud de fruto, diámetro del fruto, peso por unidad de fruto y rendimiento. Adicionalmente se tomaron datos de temperatura y humedad relativa en dos días que presentaron contrastes en las variables climáticas (un día muy caluroso y con baja humedad relativa y el otro fresco y con alta humedad relativa) para usarlo de referencia en algún estudio que a la postre se pudiera realizar y Para la medición de estos datos se utilizó un Thermo-Hygro Esta información aparece en las Figuras 1 y 2.

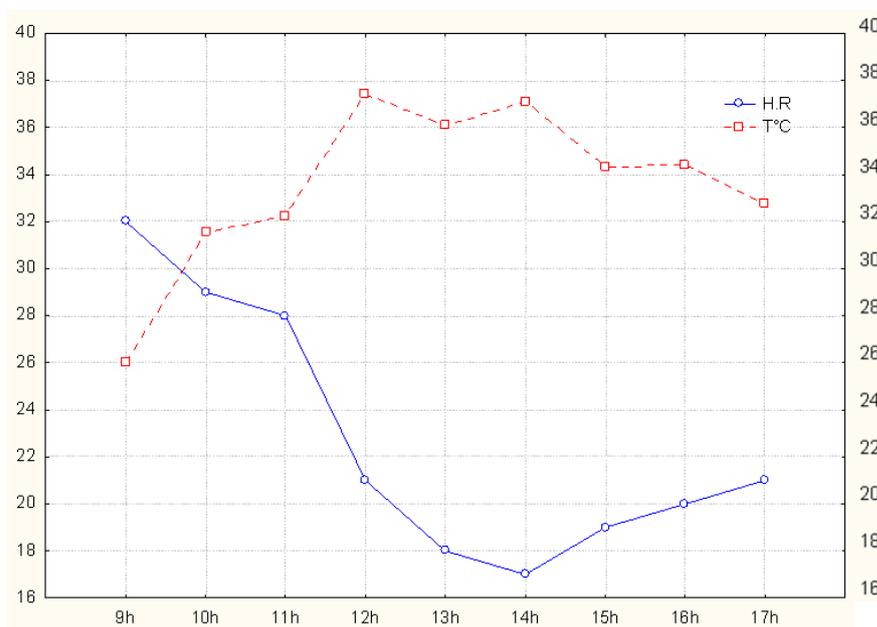


Figura 1. Temperatura y humedad relativa registradas el 1 de septiembre del 2011, dentro de la casasombra, a los 36 días después de la siembra.

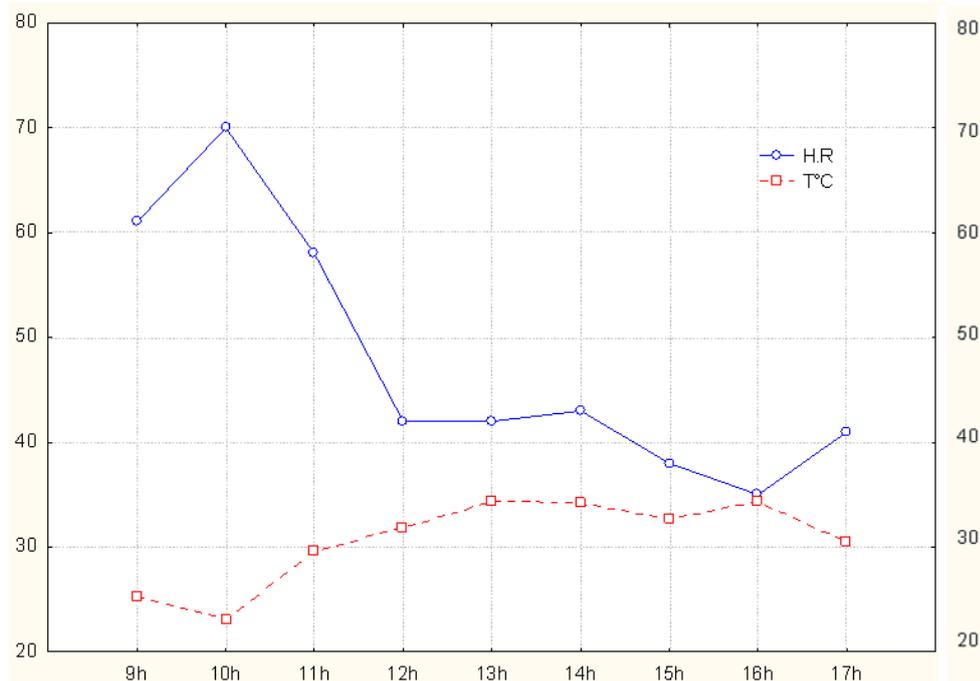


Figura 2. Temperatura y humedad relativa registradas el 29 de agosto de 2011, dentro de la casasmombra, a los 33 días después de la siembra.

La siembra se realizó el 26 de julio del 2011. Las semillas sembradas en los tratamientos con biofertilizantes (cuadro 2), se inocularon siguiendo las indicaciones de la etiqueta de los productos; además se aplicaron a la base de del tallo de las plantas a los 7, 14 y 21 días después de la siembra. La fertilización sintética o convencional se hizo cada tercer día mediante el sistema de riego por goteo, distribuida la dosis durante todo el ciclo del cultivo. Las variables altura, número de hojas, área foliar y biomasa seca, fueron medidas a los 30, 45, 60 días después de la siembra y el contenido de clorofila a los 30 días después de la siembra.

Cuadro 2. Tratamientos evaluados en la producción de pepino en casasombra.

1. 100N-100P-50K Sin acolchado
2. 200N-200P-100K Sin acolchado
3. 100N-100P-50K Sin acolchado+ E* +A**
4. 200N-200P-100K Sin acolchado+ E +A
5. 100N-100P-50K Con acolchado
6. 200N-200P-100K Con acolchado
7. 100N-100P-50K Con acolchado + E +A
8. 200N-200P-100K Con acolchado+ E +A

*Ecorriza y **Azoton

Altura. La altura (m) se midió desde la base del tallo hasta el ápice del eje principal de la planta. **Área foliar:** se registró en cm² con un integrador de área foliar estacionario LI-COR, modelo LI-300, Lincoln, Nebraska, USA). **El peso seco** de las hojas se determinó después de 72 horas de secado a una temperatura de 65°C, hasta alcanzar peso constante. **La pubescencia** de las hojas seleccionadas y representativas de plantas de pepino desarrolladas dentro y fuera de la casasombra, fueron caracterizadas con un estereoscopio modelo Lieca MZ6 del CIQA. Las imágenes obtenidas se procesaron en un analizador de imágenes Image Pro Plus, Versión 7.0

La longitud, diámetro y peso de los frutos se midió con una regla, vernier, y una balanza analítica, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Altura de plantas

En el análisis de varianza que se presenta en el cuadro 3, revela que para el factor biofertilización hubo diferencia altamente significativa para la altura a los 60 días después de la siembra (dds) y un efecto significativo para la interacción acolchado x biofertilización a los 30 dds. La comparación de medias (Figura 3) mostró que las plantas inoculadas no mejoraron el crecimiento (altura) de las plantas a los 60 dds. Resultados que contrastan con los reportados por quienes indican que mediante el uso de las micorrizas y rizobacterias se mejora el crecimiento vegetal. En relación a estos estudios, Abak *et al* (2010) al aplicar micorrizas en cultivo de melón en invernadero, observó que las plantas inoculadas tuvieron mejor respuesta que las plantas testigo. Terry y Leyva (2006) reportan que las plantas de tomate coinoculadas con *A.brasilense* + *G. clarum* mostraron una mayor altura. Por su parte, García *et al.* (2005) reportan que semillas de trigo inoculadas con la mezcla de *A. brasilense* y *A. lipoferum* con fertilización de 50% de urea, tuvieron un efecto equivalente con las plantas fertilizadas a la máxima dosis de urea y sin inocular.

Cuadro 3. Análisis de varianza para las variables: altura de plantas, área foliar, índice relativo del contenido de clorofila y peso seco de las hojas en el cultivo de pepino en condiciones de casasonbra.

FV	AP 30 dds	AP 60 dds	AF 45 dds	IRCC 30 dds	PSH 45 dds (g)
Acolchado	0.019 ns	0.000 ns	12821204 **	2123.3 ns	508.8**
Biofertilización	0.011 ns	0.580 **	809840.2 ns	14.2 ns	1.5 ns
Fertilización	0.015 ns	0.141 ns	2728058.7 ns	475.3 ns	419.0 **
Acol*Biofer	0.077*	0.062 ns	52380.1 ns	550.0 ns	22.7 ns
Acol*Fert	0.001 ns	0.100 ns	48932.4 ns	2.7 ns	80.0 ns
Biofer*Fert	0.010 ns	0.000 ns	2055040.2 ns	360.0 ns	75.6 ns
Biofer* Acol*Fert	0.005 ns	0.048 ns	627946.9 ns	1136.0 ns	25.2 ns
Error	0.012	0.036	1169311.7	758.9	39.5
CV %	13.84	7.32	15.01	12	16.4

*, **, ns; significancia al $p \leq 0.05$, significancia al $p \leq 0.01$, no significativa, respectivamente. AP 30=altura de plantas a los 30 días después de la siembra (dds), AP 60=altura de plantas a los 60 dds. AF 45=área foliar a los 45 dds, IRCC=índice relativo del contenido de clorofila, PSH 45= peso seco de las hojas a los 45 dds.

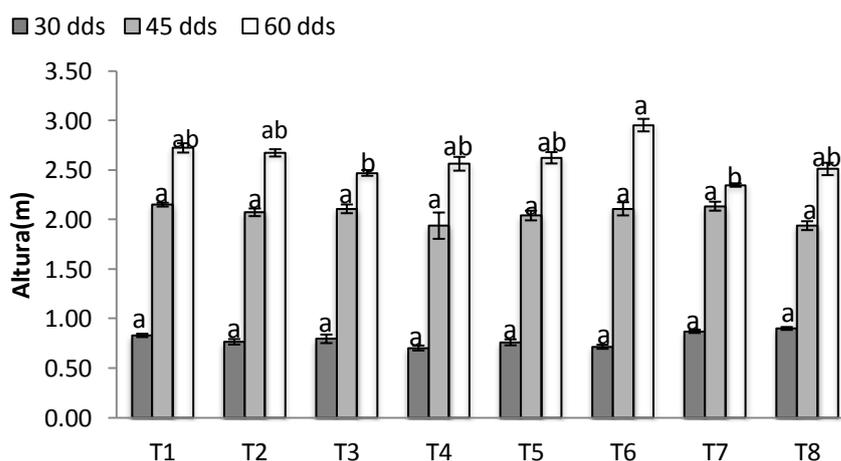


Figura 3. Efecto de los tratamientos aplicados en la altura de plantas a los 30,45 Y 60 días después de la siembra. (T1=100N-100P-50K sin acolchado; T2=200N-200P-100K sin acolchado; T3=100N-100P-50K sin acolchado+ Ecorriza+Azotón; T4=200N-200P-100K sin acolchado+ Ecorriza+Azotón; T5=100N-100P-50K con acolchado; T6=200N-200P-100K con acolchado; T7=100N-100P-50K con + Ecorriza+Azotón; T8=200N-200P-100K con acolchado+ Ecorriza+Azotón).

Índice relativo del contenido de clorofila. Las diferencias entre las medias del índice del contenido relativo de clorofila, no fueron significativas (Figura 4). Resultado similar obtuvo Cepeda (2010) al inocular *A. brasilense* y *G. intraradices* en plantas de tomate cherry, en la que las plantas testigo fueron las que presentaron mayor contenido relativo de clorofila. Estos resultados difieren a lo obtenido por Pereira *et al* (2001) quien encontró mayor contenido de clorofila en plantas de *Eucalyptus camaldulensis* micorrizadas por *G. intraradices* y *G. mosseae*.

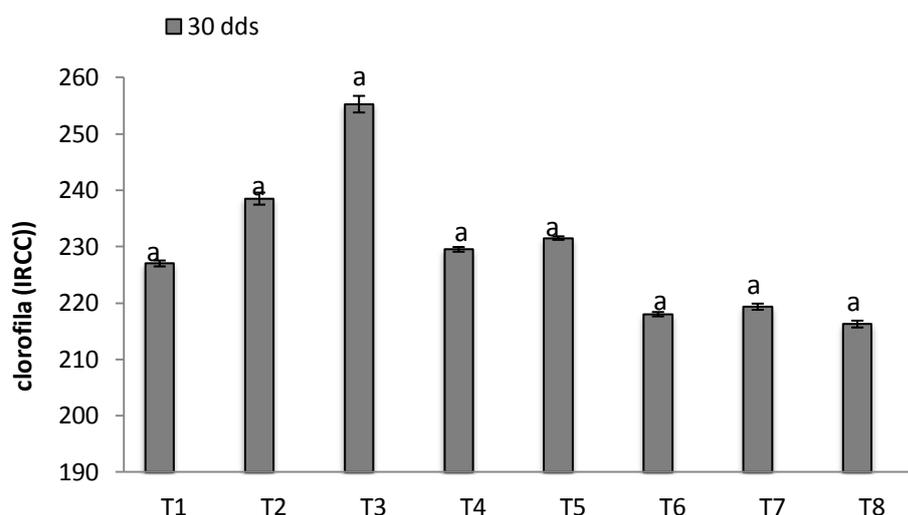


Figura 4. Efecto de los tratamientos en el índice del contenido relativo de clorofila (IRCC) en las hojas de la planta de pepino a los 30 días después de la siembra. (T1=100N-100P-50K sin acolchado; T2=200N-200P-100K sin acolchado; T3=100N-100P-50K sin acolchado+ Ecorriza+Azotón; T4=200N-200P-100K sin acolchado+ Ecorriza+Azotón; T5=100N-100P-50K con acolchado; T6=200N-200P-100K con acolchado; T7=100N-100P-50K con + Ecorriza+Azotón; T8=200N-200P-100K con acolchado+ Ecorriza+Azotón).

Área foliar. En la variable área foliar se encontró diferencia estadística altamente significativa a los 45 dds (cuadro 3). Afkari (2010)

reporta que al aplicar *Azospirillum* en cultivares de girasol obtuvo mayor área foliar. Por su parte, López *et al.* (2003) señala que la aplicación de hongos micorrícicos arbusculares y *Bacillus* en plantas de papayo mostraron mayor área foliar y también mencionan que no hubo efecto de sinergismo entre las bacterias utilizadas, ya que fueron más eficientes inoculadas por separados que aplicadas juntas o coinoculadas. Así mismo, Espin *et al* (2010) obtuvo mayor área foliar en tomate de árbol en suelos micorrizados.

Pubescencia de hojas. Al realizar observaciones microscópicas de hojas de la planta de pepino cultivadas en casasombra (Figura 5), y las establecidas a campo abierto, se detectó que las primeras presentaron mayor área foliar y menor pubescencia en comparación con hojas de pepino cultivadas en campo abierto (Figura 6). Molina-Montenegro (2008), señala que la pubescencia actúa como un sistema de defensa contra la excesiva la radiación solar incidente; como protector de la planta contra bajas temperaturas, contra el efecto abrasivo del viento y para reducir la tasa transpirativa al proteger los estomas de un ambiente hostil a campo abierto.



Figura 5. Vista microscópica del lado abaxial de las hojas de pepino cultivadas en casa sombra.

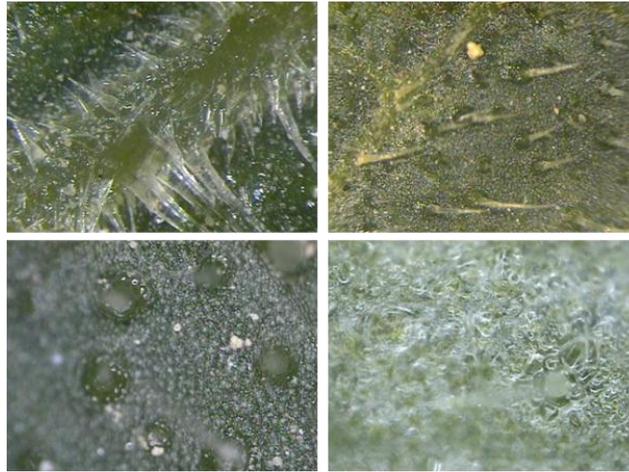


Figura 6. Vista microscópica del lado abaxial de las hojas de pepino cultivadas en campo abierto.

Es importante señalar que la notable diferencia entre la cantidad de pubescencia de las plantas crecidas dentro y fuera de la casasombra, refleja una adaptación anatómica-morfológica de este cultivo, ya que la pubescencia foliar supone una modificación de la epidermis y varía, tanto en longitud como en densidad con la diversos parámetros ecofisiológicos, atenuando los efectos negativos de condiciones ambientales adversas sobre el estado fisiológico y el crecimiento de la planta en cuestión. Por lo tanto, el hecho de que las plantas desarrolladas a campo abierto tuvieran mayor densidad de pubescencia en comparación de las que se encontraban al ambiente con menor intensidad de radiación dentro de la casasombra, pudiese significar que la planta invierte menos fotosintatos en producir pelos y quizá sean utilizados en crecimiento y rendimiento. Sin embargo estas suposiciones necesitan ser comprobadas en estudios posteriores.

Peso seco. Se encontró diferencia estadística altamente significativa en los factores: acolchado y dosis de fertilización en el peso seco a los 45 dds (cuadro 3), pues el acolchado condiciona el estado físico-químico del suelo y la reacción bioquímica y química del suelo, influyendo en la nitrificación. Lo que se deduce a un mayor contenido de materia seca. Estudiando la biofertilización en plántulas de cacao en vivero Aguirre *et al* (2007), encontraron que ese bioproducto favoreció la materia seca de los componentes morfológicos de las plantas; los mismos autores al experimentar con *Coffea arábica* obtuvieron mayor peso seco con plantas coinoculadas con *A. brasilense* y *G. intrardices*. Los resultados no fueron consistentes en los tres muestreos que se hicieron a los 30, 45 y 60 ddt. Finalmente, Melgares (2004) reporta que en el cultivo de lechuga no encontró diferencia estadística significativa en el peso se

Longitud, diámetro y peso de los frutos. En el análisis de estas variables no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos (cuadro 4) por el uso de los biofertilizantes y acolchado o dosis completa de fertilización química. Estos resultados son similares a los reportados por Padilla *et al.* (2006) al aplicar biofertilizantes en el cultivo de melón con acolchado plástico.

Cuadro 4. Análisis de varianza para las variables: diámetro del fruto, longitud del fruto, peso del fruto y rendimiento en el cultivo de pepino en condiciones de casasonbra.

FV	DF (cm)	LF(cm)	PF (g)	REND (kg)
Acolchado	0.095 ns	1.156 ns	6370.1 ns	0.678 ns
Biofertilización	0.181 ns	1.797 ns	10914.1 ns	0.032 ns
Fertilización	0.000 ns	0.347 ns	0.663 ns	0.003 ns
Acol*Biofer	0.275 ns	0.222 ns	5403.8 ns	0.369 ns
Acol*Fert	0.010 ns	0.135 ns	469.3 ns	1.140 ns
Biofer*Fert	0.042 ns	0.078 ns	2466.5 ns	0.022 ns
Biofer* Acol*Fert	0.072 ns	0.222 ns	769.2 ns	1.487 ns
Error	0.082	1.220	3647.8	0.323
CV %	4.87	4.78	12.5	22.33

DF=diámetro del fruto, LF=longitud del fruto, PF=peso del fruto, REND=rendimiento.

Rendimiento. El análisis de varianza que se presenta en el cuadro 4, revela que para los factores: acolchado, biofertilización y dosis de fertilización no hubo diferencias estadísticas significativas. Sin embargo, se encontró diferencia estadísticamente significativa para la interacción de segundo orden (biofertilización X acolchado X fertilización química). La figura 7, revela que es posible obtener rendimientos similares a las plantas fertilizadas completamente con productos químicos cuando se les fertiliza parcialmente pero se le agrega algún producto de la biofertilización

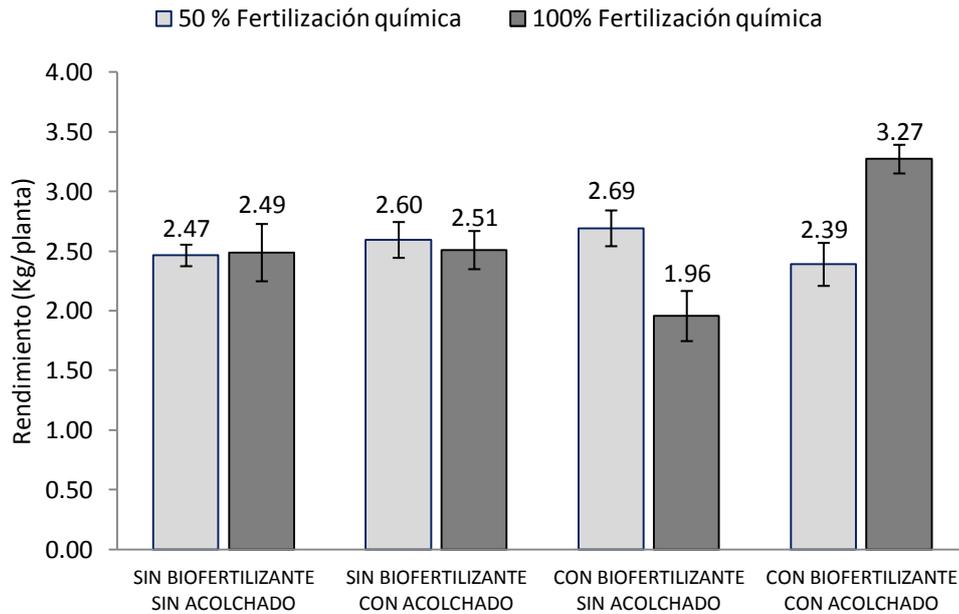


Figura 7. Efectos de las combinaciones de niveles de fertilización química con biofertilización y acolchado.

Este hecho implica un sustancial aumento en la eficiencia en el uso de fertilizantes químicos, pues con el 50% de la dosis normalmente aplicada al pepino se obtuvieron rendimientos similares a los de fertilización completa. Además, lo anterior sugiere que el daño al ambiente se vería reducido al aplicar menos fertilizantes químicos.

En el estudio realizado por López (2003) se afirma que niveles bajos de fósforo son importantes para que los HMA colonicen las raíces y mejoren el crecimiento de las plantas. Por su parte, Terry y Leyva (2006) obtuvieron resultados parecidos en tomate al aplicar *A. brasilense* más *G. clarum*. Es interesante señalar que en el presente trabajo de pepino, la dosis de 50% de fertilización fue estadísticamente igual que la dosis completa (100%) de fertilización. Esto sugiere que una subdosis de fertilizante tradicional más la

coinoculación de MICs biofertilizantes, pueden contrarrestar una dosis relativamente baja de NPK sintético.

Lo antes señalado pudiese reflejar la acción positiva de los MICs (rizobacterias y micorrizas) en el cultivo de pepino, ya que el resultado fue similar al obtenido con el tratamiento sin inocular con dosis de 50% de fertilización; o también se puede explicar señalando que debido a la cercanía entre tratamientos, y como consecuencia, las raíces de las plantas no inoculadas pudieron haber estado en contacto con las esporas o hifas de las plantas inoculada y asimilaron compuestos producidos por los MICs benéficos. En el reporte de Aguirre *et al.* (2001), se menciona que los incrementos de rendimiento han sido más consistentes en cultivos anuales que en cultivos hortícolas, y esto pudiera deberse a que las hortalizas tienen una gran demanda de nutrimentos para abastecer la gran cantidad de frutos que producen corte tras corte; o por otras causas que aun no se esclarecen.

CONCLUSIONES

La inoculación de los biofertilizantes en semillas y aplicaciones en planta, es una opción prometedora para reducir y optimizar la dosis de fertilización en el cultivo de pepino. Además, usando biofertilizantes en condiciones de casombría es factible eliminar el uso del acolchado plástico usando baja dosis de fertilización.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN GENERAL

La biofertilización y la no biofertilización produjeron respuestas diferentes en la altura de plantas, aunque en esta investigación la respuesta de la biofertilización mostró valores inferiores en la altura, se requiere de otras investigaciones para aceptar los resultados en forma contundente, pues las rizobacterias y los hongos micorrícicos pudieron haber estado en contacto con las raíces de las plantas debido a la cercanía entre las unidades experimentales. En suelo sin acolchado y suelo con acolchado produjeron rendimientos diferentes, debido a que en el suelo con acolchado propicia un buen microclima del suelo. También es importante confirmar que al aplicar biofertilizantes, es conveniente aplicar dosis bajas de fertilización química-sintética ya que hay estudios que demuestran que la alta dosis de fertilización tiende a reducir el rendimiento, (Afkari, 2010). Como se puede apreciar en la Figura 7, la aplicación de biofertilización con alta dosis de fertilización química-sintética en suelo con acolchado, fue el tratamiento que produjo mayor rendimiento. Esto probablemente se debió a que el acolchado mejoró las condiciones del suelo, lo que propició una mejor actividad microbiana e influyó en la reacción química y bioquímica de la fertilización, como es la nitrificación. García *et al.* (2005), reportan que semillas de trigo inoculadas con la mezcla de *A. brasilense* y *A. lipoferum* con fertilización de 50 % de urea, tuvieron un efecto equivalente con las plantas fertilizadas a la máxima dosis de urea y sin inocular. Afkari 2010 menciona que al aplicar 210 kg/ha de fertilizante nitrogenado mas inoculación con *Azospirillum* tendió a reducir el rendimiento en comparación con el tratamiento de 140 kg/ha.

Resultados que nos permiten afirmar que la dosis de fertilización recomendada se puede reducir al 50 %, aplicando biofertilizantes para este cultivo a base de las rizobacterias *A. brasilense*, *Azotobacter* spp., y *Bacillus* spp.; así como de la micorriza *G. intraradices*. Los resultados que se obtuvieron en la germinación no tuvieron mucha consistencia, esto fue posiblemente por el corto tiempo que tuvieron las bacterias para la fijación de nitrógeno y para la estimulación del crecimiento en las plántulas por los biocompuestos activos que producen en el suelo. Por otra parte, la función principal de los hongos micorrícicos es la solubilización de fósforo y la absorción de otros iones como N, K, Ca, Mg, Fe y Mn entre otros elementos. Pero como en el medio en que se sembraron las semillas de pepino no había estos elementos, la respuesta fue nula o negativa para la expresión de estos MICs.

CONCLUSIÓN GENERAL

En términos ecológicos y de costos de producción, estos resultados reflejan ser positivos, además estos biocompuestos tienen un nulo o muy bajo impacto ambiental. Con estos trabajos y estudios a futuro, se podría alcanzar mayores conocimientos relacionados con el uso de las rizobacterias y micorrizas en el cultivo de pepino, y así establecer bases más sólidas respecto al manejo de estos MICs en condiciones de agricultura protegida. Por lo tanto, considerando estos resultados, se puede señalar que el uso de rizobacterias y micorrizas como biofertilizantes, constituyen una alternativa económica viable para la producción de pepino en suelos medianamente salinos, con la reducción paulatina en la aplicación de fertilizantes tradicionales. Además se lograría la conservación de suelos agrícolas e incrementar la rentabilidad del cultivo. La siembra de semillas en condiciones de laboratorio no mostro ser un método viable para la probar la efectividad que tienen esos MICs en la germinación de semillas y en la producción de plántulas de pepino, debido al corto tiempo que duro esta investigación.

RECOMENDACIONES

Para una mayor consistencia y certeza de los resultados de las investigaciones de este tipo, es esencial realizar un análisis de suelo para poder cuantificar la eficiencia de estos MICs, además la siembra deberá realizarse en macetas con el fin de excluir fenómenos de invasión de las cepas o hifas en tratamientos testigo. Por otra parte, es importante realizar estas investigaciones en suelos de baja fertilidad, es decir, en un suelo con niveles insuficientes de fuentes de nitrógeno y/o fosfato. Además, es importante establecer los experimentos en suelos que no hayan sido experimentados con organismos similares en cultivos previos al cultivo en estudio.

Literatura citada:

- Abak, K., Dasgan, H.Y., Rehber, Y. and Ortas, I. 2010. Effect of vesicular arbuscular mycorrhizas on plant growth of soilless grown muskmelon. Acta Hort. (ISHS) 871:301-306
- Adjanohoun, A., Allagbe, M., Noumavo, P. A., Gotoechan-Hodonou, H., Sikirou R., Dossa, K. K., GleleKakaï, R., Kotchoni S. O., Baba-Moussa, L. 2011. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on field grown maize. Journal of Animal & Plant Sciences, 2011. Vol. 11, Issue 3:1457-1465.
- Afkari-Bajehbaj, A. 2010. The role of *Azospirillum lipoferum* bacteria in sustainable production of sunflower (*Helianthus annuus L.*). Journal of Food, Agriculture & Environment 8 (2): 347-349.
- Aguilera-Gómez, L., Olalde-Portugal, V., Rubí-Arriaga, M., Contreras-Alonso, R. (2008). Micorrizas arbusculares .Ciencia Ergo Sum 14(3):300-306 Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México pp 300-306.
- Aguirre-Medina, J., Irizar-Garza, M., Durán-Prado, A., Grajeda-Cabrera, O., Peña-del Río, M., Loredó-Osti, C., Gutiérrez-Baeza, A. 2009. Los biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México. Folleto Técnico Núm. 5, INIFAP. Tuxtla Chico, Chiapas.
- Aguirre-Medina, J.F. Moroyoqui-Ovilla, D.M., Mendoza-López, A., Cadena-Iñiguez, J., Avendaño-Arrazate, C.H., Aguirre-Cadena, J.F. 2011.

Hongo endomicorrízico y bacteria fijadora de nitrógeno inoculadas a *coffea arabica*. Rev. Agronomía Mesoamericana 22(1):71-80.

Aguirre-Medina, J. F., Mendoza-López, A., Cadena-Iñiguez, J., Avendaño-Arrazate, C.H. 2007. Efecto de la biofertilización en vivero del cacao (*Theobroma cacao*) con *Azospirillum brasilense* tarrand, y *Glomus intraradices*. Interciencia [en línea] 2007, 32 (agosto), [fecha de consulta: 20 de enero de 2012] Disponible en: <<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=33932808>> ISSN 0378-1844.

Alimadadi, A., Jahansouz, M.R., Besharati, H., Tavakkoli, M. 2011. Evaluating the effects of biofertilizers and seed priming on chickpea (*Cicer arietinum* L.) seed quality. Journal of Food Agriculture & Environment, 9 (2): 362-365.

Alvarado-Valenzuela, P y Castillo-Gutiérrez, H. 2003. Acolchado de suelos mediante filmes de polietileno. Biblioteca virtual Universal, Chile.

Azcón-Bieto, J. y Talón, M. 2008. Fundamentos de Fisiología Vegetal .McGraw-Hill Interamericana de España, 656 pp.

Bashan, Y. and de-Bashan, L. E. 2010. How the Plant Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum* Promotes Plant Growth A Critical Assessment Advances in Agronomy 108:77-136.

Bashan, Y., Puente M. E. and Salazar, B. 2006. Uso de los Microorganismos del desierto como recurso para recuperar suelos erosionados. Revista Latinoamericana de Microbiología 48: 154-161.

- Besnier-Romero, F. 1989. Semillas: Biología y Tecnología, ed. Mundiprensa, 637pp.
- Caballero-Mellado, J. 2006. Microbiología Agrícola e Interacciones Microbianas con plantas. Rev. Latinoamericana de Microbiología, 48:154-161.
- Cao, Y., Zhang Z., Ling, N., Yuan, Y., Zheng, X., Shen, B. and Shen, Q. 2011. *Bacillus subtilis* SQR 9 can control *Fusarium wilt* in cucumber by colonizing plant roots. Biol Fertil Soils 47:495–506.
- Carcaño-Montiel, M. G.; Ferrera-Cerrato, R.; Pérez-Moreno, J.; Molina-Galán, J D.; Bashan, Y. 2006. Actividad nitrogenasa, producción de fitohormonas, sideróforos y antibiosis en cepas de *Azospirillum* y *Klebsiella* aisladas de maíz y teocintle Rev. TERRA Latinoamericana, 24(4) 493-502. Universidad Autónoma Chapingo. México.
- Cassan, F., Perrig, D., Sgroy, V., Masciarelli, O., Penna, C., Luna, V. 2009. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.) European Journal of Soil Biology 45 28–35.
- Cepeda-Guzmán, A. 2010. Respuestas fisiológicas y rendimiento del tomate cherry (*Solanum lycopersicum* L CV. CAMELIA, producido orgánicamente en condiciones de casa sombra. Tesis licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

- Curtis, H., Barnes, S., Schnek, A. 2008. Biología, séptima edición. Ed. Médica Panamericana, 1160 pp.
- Di-Barbaro, G., Pernasetti, S. y Stegmayer A. 2005. Evaluación del efecto de *Azospirillum brasilensis* en la germinación y emergencia del pimiento pimentonero (*Capsicum annum* var. trompa de elefante). Revista del CIZAS. 6 (1 ,2): 74-85.
- Doijode, S. D. 2001. Seed Storage of Horticultural Crops. Food Products Press. 345 pp.
- Egamberdieva, D., Kucharova, Z., Davranov, K., Berg, G., Makarova, N., Azarova, T., Chebotar, V., Tikhonovich, I., Kamilova, F., Validov, S., Lugtenberg, B. 2011. Bacteria able to control foot and root rot and to promote growth of cucumber in salinated soils. Biol Fertil Soils 47:197–205
- Espín, E., Medina, M.E., Jadán, M. y Proaño, K. 2010. Utilización de hongos micorrícico-arbusculares en plántulas de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) cultivadas in vitro: efectos durante la fase de aclimatación. Revista Ciencia, 13 (1): 87-93.
- FAO. 2009. Organic Agriculture Glossary. Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/templates/organicag/files/Glossary_on_Organic_Agriculture.pdf. Fecha de consulta: 16 de mayo del 2012.
- FAOSTAT. 2011. Producción de pepino y pepinillos. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>. Consultada el 17 de abril del 2012.

- Flores-Velazquez, y Montero, J.I. 2008. COMPUTATIONAL FLUID DYNAMICS (CFD) STUDY OF LARGE SCALE GREENHOUSES. International Society for Horticultural Science
- García-González, M.M., Farías-Rodríguez, R.; Peña-Cabriales, J.J. y Sánchez-Yáñez, J.M. 2005. Inoculación del trigo var. Pavón con *Azospirillum spp.* y *Azotobacter beijerinckii*. Rev.Terra Latinoamericana 23:65-72
- Gómez-Cruz, M. A., Schwentesius-Rindermann, R., Gómez-Tovar, L. J., Ortigoza-Rufino, J. and Erin N. in the World of Organic Agriculture. FiBL and IFOAM 2011
- Hartman, A., Bashán, Y. 2009. Ecology and application of *Azospirillum* and other plant growth promotin bacteria (PGPB) special issue. Eur. J. Soil Biol. 45 (1): 1-2
- Hernandez-Rodriguez, A., Heydrich-Perez, M., Velásquez-del valle, M.G. Y Hernandez-Lauzardo, A. N. 2006. Perspectivas del empleo de las rizobacterias como agentes de control biológico en cultivos de importancia económica. Revista Mexicana de Fitopatología 24:42-49.
- Holguin, G., Bashan, Y., Puente, E., Carrillo, Á., Bethlenfalvay-Gabor, A., Rojas, A., Vázquez, P., Toledo, G., Jiménez, M. B., Glick, B. R., González-de Bashan L., Lebsky, V., Moreno, M. y Hernández, J. P. 2003. Promoción del Crecimiento en Plantas por Bacterias de la Rizosfera. Agricultura Técnica en México, 29 (2):201-211.

- Ibarra-Jiménez, L., Lira-Saldivar, R. H., Valdez-Aguilar, L. A. and Lozano-Del Río, J. 2011. Colored plastic mulches affect soil temperature and tuber production of potato. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Plant Soil Science*. 1:1-7
- Institute, Inc. 2002. SAS/STAT software changes and enhancements through release 9.1.3. SAS Institute, Cary NC .
- Johansson, J. F., Paul, L. R., Finlay, R. D. 2004. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *Microbiology Ecology* 48,1–13.
- Jouet, J. P. 2006. Situation da la plasticulture dans le monde. Congreso Internacional de Plasticos para la Agricultura. Buenos Aires Argentina, XVII.
- Karandashov, V., Bucher, M. 2005. Symbiotic phosphate transport in arbuscular mycorrhizas. *Trends Plant Sci*. Jan:10(1):22-9.
- Kidoglu, F., Gül, A., Ozaktan, H. and Tüzel, Y. 2008. Effect of rhizobacteria on plant growth of different vegetables. *Acta Hort. (ISHS)* 801:1471-1478 http://www.actahort.org/books/801/801_181.htm
- Lerner, A., Herschkovitz, Y., Baudoin, E., Nazaret, S., Moenne-Loccoz, Y., Okon, Y. and Jurkevitch E. 2006. Effect of *Azospirillum brasilense* inoculation on rhizobacterial communities analyzed by denaturing gradient gel electrophoresis and automated ribosomal intergenic spacer analysis. *Soil Biology & Biochemistry*. 38: 1212–1218.

- Lioussanne, L. 2010. The role of the arbuscular mycorrhiza-associated rhizobacteria in the biocontrol of soilborne phytopathogens. Spanish Journal of Agricultural Research, 8(1):51-61.
- López-Moctezuma, H. 2003. Influencia de los hongos micorrizicos arbusculares, *Bacillus sp* y vermicomposta en el crecimiento y floración de plantas de papayo. Tesis doctoral. Universidad de Colima. Tecomán, Colima
- López-Zamora, C. 2003. Cultivo de pepino. Guía técnica No.17. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. El Salvador. 45 pp
- Ludwig, E. M. 2000. Manual de Laboratorio de Morfología Vegetal, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) Turrialba Costa Rica.259 pp.
- Maleki, M., Mokhtarnejad, L. and Mostafae, S. 2011. Screening of Rhizobacteria for Biological Control of Cucumber Root and Crown Rot Caused by *Phytophthora drechsleri* in Plant Pathology. Journal. 27(1): 78-84.
- Meenakshisundaram, M., Santhaguru, K. And Rajenderan. K. 2011. Effects of Bioinoculants on Quality Seedlings Production of *Delonix Regia* en Tropical Nursery Conditions. Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research Issue 1 (1:98-107)
- Melgares-de Aguilar, J., González-Martínez, D., Gutiérrez, A., Honrubia, M., Morte, A. 2004. Efectos del hongo endomicorrizico *Glomus*

- intraradices* en el cultivo ecológico de lechuga tipo Iceberg . España. Comunicaciones al VI Congreso de la SEAE. pp. 1589-1596.
- Molina-Montenegro, M.A. 2008. Variación de la pubescencia foliar en plantas y sus implicaciones funcionales a lo largo de gradientes altitudinales. *Ecosistemas* 17 (1): 146-154
- Moreno, M. E. 1984. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 383 pp.
- Munguía-López, J., Quezada, M. R., Luis-Ibarra, J. L., Flores-Velásquez, J., Cedeño, R. B, y Hernández, C. F. 2003. V Congreso Nacional de Fitopatología. V Congreso Iberoamericano de Agroplasticultura. IV Congreso Nacional de Suelos. San José, Costa Rica. 17 al 19 de Noviembre, 2003. Alianza Tecnológica para la Agricultura con Calidad. 9 pp. (Memorias).
- Mutwiwa, U.N. and Tantau, H.J. 2009. Insect screens for integrated plant protection in greenhouses. *Acta Hort. (ISHS)* 807:85-90.
- Ngouajio, M., Goldy, R., Zandstra, B. and Warncke, D. (2007). *Plasticulture For Michigan Vegetable Production. Extension Bulletin E-2980. Michigan State University.*
- Noda, Y. 2009. Las Micorrizas: Una alternativa de fertilización ecológica en los pastos. *Pastos y Forrajes*. 32(2):1-1.
- Ortas, I. 2010. Effect of mycorrhiza application on plant growth and nutrient uptake in cucumber production under field conditions. *Spanish Journal*

of Agricultural Research 2010, 8(1), 116-122. Disponible en:
www.inia.es/sjar ISSN: 1695-971-X

Pereira, G., Sanchez, M., Rios, D., Herrera, M. A. 2001. Micorrizas vesículo arbusculares y su incidencia en el crecimiento de plántulas de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. BOSQUE 22(2): 39-44

Rabie, G. H., Aboul-Nasr, M. B. and Al-Humiany, A. 2005. Increased Salinity Tolerance of Cowpea Plants by Dual Inoculation of an Arbuscular Mycorrhizal Fungus *Glomus clarum* and a Nitrogen-fixer *Azospirillum brasilense*. Mycobiology 33(1): 51-60.

Sanjuán-Pinilla, J. y Moreno-Sarmiento, N. 2010. Aplicación de insumos biológicos: oportunidad para la agricultura sostenible y amigable con el medioambiente. Revista Colombiana de Biotecnología, 12: 4-7.

SIAP 2010. Cierre de producción agrícola por cultivo. Disponible en línea en http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350. Fecha de consulta: 16 de abril del 2011.

Tanny, J., Cohen, S., Grava, A., Naor, A. and Lukyanov, V. 2009. The effect of shading screens on microclimate of apple orchards. Acta Hort. (ISHS) 807:103-108.

Terry-Alfonso, E. y Leyva-Galán, A. 2006. Evaluación agrobiológica de la coinoculación micorrizas-rizobacterias en tomate. Revista Agronomía Costarricense, 30(1): 65-73.

Vessey-Kevin, J. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil, 255: 571–586.

- Warham, E.J., Butler, L.D., Sutton, B.C. 1994. Ensayos para la semilla de maíz y de trigo: Manual de laboratorio. CIMMYT. 182 p.
- Willer, H. and Kilcher, L. (Eds.) (2011): The World of Organic Agriculture. Statistics and Emerging Trends 2011. IFOAM, Bonn, & FiBL, Frick.
- Yan-ning Xiao, Richard A. Sikora, Jing-wu Zheng.. Potential use of cucumber (*Cucumis sativus* L.) endophytic fungi as seed treatment agents against root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology) 2011 12(3):219-225.
- Zeiger, E. y Taz, L. 2006. Fisiología vegetal vol. 2. Publicaciones de la universidad Jaume I.

APÉNDICE

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de pepino.

FV	GL	PC (%)	PN (%)	PA (%)	LR (cm)	LP (cm)
Tratamiento	5	68.391 NS	114.887 NS	112.949 NS	0.484NS	0.486 NS
Error	12	65.745	39.898	39.269	0.732	0.735
C.V %		15.076	7.556	98.910	5.110	8.499

GL= Grados de libertad, PC= Primer conteo, PN= Plántulas normales, PN= Plántulas anormales LR=Longitud de la radícula, LP=Longitud de la plúmula, C.V. =coeficiente de variación

Cuadro 2. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en el ensayo de germinación de semillas de pepino.

FV	GL	PSR (mg/plántula)	PSP (mg/plántula)
Tratamiento	5	0.000 NS	.000 NS
Error	12	.000	.000
C.V %		13.279	5.680

PSR=peso seco de la radícula, PSP= peso seco de la plúmula, C.V. =coeficiente de variación