

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Efecto de las Aplicaciones de un Biofertilizante a Base de *Azospirillum brasilense* y *Glomus intraradices* en el Crecimiento de un Cultivo de Acelga.

Por:

SAHARA CRISTINA NAVARRETE ANDRADE

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Efecto de las Aplicaciones de un Biofertilizante a Base de *Azospirillum brasilense* y
Glomus intraradices en el Crecimiento de un Cultivo de Acelga.

Por:


SAHARA CRISTINA NAVARRETE ANDRADE

TESIS


Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

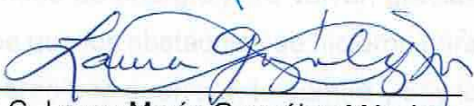
INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA


Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dra. Silvia Yudith Martínez Amador
Asesor Principal Interno


Dr. José Antonio Rodríguez de la Garza
Asesor Principal Externo


Dr. Alfonso Méndez López
Coasesor


M.C. Laura María González Méndez
Coasesor


Dr. José Antonio González Fuentes
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2019



DEDICATORIAS

A mi familia:

Esposo e hijo

José Navarro Mendoza amor mío por tu compañía, comprensión, confianza, por todo tu amor, por siempre creer en mí, por darme la mano y levantarme en tiempos difíciles, por ser esa estrella que me guiaba cuando perdía el rumbo, por brindarme tu apoyo incondicional, gracias por caminar junto a mí durante esta trayectoria y convertir cada momento inefable en algo inolvidable.

Dylan hijo mío, gracias por ser esa luz que iluminó mis días oscuros y difíciles durante esta etapa, gracias por mantener encendidas mis ganas de superación, eres mi más grande motivación.

Mis padres

A mi madre la **Sra Consuelo Andrade Aguirre** por no cortarme las alas y ayudarme a emprender el vuelo, por estar ahí cada vez que descendía y perdía el camino y con todo su amor, sabiduría y consejos me llenaba de energía para volver, gracias por guiarme por el camino correcto y enseñarme que los obstáculos se hicieron para vencer, gracias por toda tu confianza y apoyo, eres una guerrera, te admiro y soy lo que soy por ti, sin ti esto no podría ser posible mamita, te amo.

A mi padre el **Sr. Baltazar Navarrete García** por darme la vida, por ser el mejor ejemplo de amor y dedicación, por nunca dejarme caer, por darme fortaleza y brindarme tu apoyo.

Mis hermanos

Clara, Doro, Isa, Chini, Lupita, Angel, Julieta, y Paola por ayudarme y darme consejos cuando más los necesité, por apoyarme en todo momento y creer en mí, por compartir momentos increíbles.

Mis sobrinos

Sugey, Kimi, Alexander, Aldito, Mateo, David, Emiliano, Grettel, Alexa, Pau, y en especial a **Ivansito** eres un guerrero y ejemplo de superación, gracias a ti salí adelante cuando sentía que mis días se derrumbaban, y a ti **Leo** por contagiarme con tu entusiasmo y alegría, ustedes marcaron esta etapa de mi vida al iluminar mis días con su radiante energía.

Mis tías

María Elena Navarrete y Guillermina Navarrete, gracias por ser mis segundas madres y apoyarme con sus valiosos consejos, gracias por todo su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

A mi honorable y noble **UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO** por abrirme las puertas al conocimiento, sabiduría y cultura. Por ser el principal cimiento de esta meta, por acogerme y ser mi segundo hogar, estoy muy orgullosa de formar parte de la familia Buitre.

A la **Dra. Silvia Yudith Martínez Amador** por sus conocimientos y experiencias, por brindarme su apoyo profesional y moral, por su dedicación y toda su comprensión, es un honor para mí el haberme permitido llevar a cabo esta investigación.

Al **Dr. Alonso Méndez López** por sus enseñanzas, por haber compartido sus sabios conocimientos, por sus consejos, por su amistad y por haber enriquecido con sus observaciones la presente investigación.

Al **Dr. Antonio Juárez Maldonado** por compartir su conocimiento y despertar en mí el sentido de la curiosidad.

A mis maestros, **Biol. Sofía Comparán, Biol. Miguel Carranza, MC. Martha Vázquez, Dr. Jesús Valdés Reyna, MC Laura González, Dr. Ismael Cabral**, por compartir sus conocimientos en las aulas, por su grata amistad y por haberme brindado la oportunidad de conocer maravillosos lugares.

A mis amigos de generación **Fernanda Hernández, Isaí Granados, Domingo Méndez, Tomás Moreno, Erick de León, Analady Morales, Imelda Herrera, y Remedios Reséndiz** por su gran amistad y compañerismo, por su apoyo en tiempos difíciles y por haber compartido aventuras maravillosas conmigo.

A mis compañeras de internado Femenil Matamoros 136 con las que compartí demasiados momentos inolvidables, gracias por su compañía **Zuly, Lili, Sugey, Rosy, Paty** y a ti mi gran amiga **Blanqui**, gracias a todas por su amistad.

RESUMEN

El uso excesivo de fertilizantes químicos en los cultivos ha impactado negativamente tanto en el agua como en el suelo, una de las alternativas al uso de estos, son los biofertilizantes, los cuales son amigables con el medio ambiente e inclusive una opción económica. Los biofertilizantes son preparados a base de microorganismos ya sea con cepas puras o una combinación de estas (coinoculantes). El presente trabajo tiene como objetivo conocer el efecto de diferentes aplicaciones de un co-inoculante a base de *Azospirillum brasilense* y *Glomus intraradices* en el crecimiento de un cultivo de acelga (*Beta vulgaris* Var. Forhook Giant). Se establecieron seis tratamientos y se realizaron cinco muestreos. Dos tratamientos consistieron en tres aplicaciones del coinoculante (T1, T2) y otro tratamiento con cinco dosis del coinoculante (T3) en diferentes etapas del cultivo, tanto en semilla, como después del trasplante, cabe mencionar que a las plantas de los tratamientos T1, T2 y T3 también se les aplicó solución nutritiva Steiner -NP (sin nitrógeno ni fósforo). Además, se establecieron testigos como lo fue el lote de plantas a las que se les nutrió con solución Steiner completa (T4), otro lote con Steiner -NP (T5) y el lote de plantas a las cuales no se les aplicó ningún tipo de fertilización, solo riego con agua potable (T6). El análisis de comparación de medias de Tukey ($P \geq 0.05$), encontró diferencias significativas entre los tratamientos evaluados para todos los parámetros. De acuerdo a los resultados el valor medio más alto de peso fresco de raíz, lo presentaron las plantas de los tratamientos T2 y T3. En cuanto al peso seco de la raíz los valores medios más altos pertenecieron las plantas del T2 y T5. En el caso del peso fresco y peso seco de la hoja y el área foliar, en promedio el T4 fue el que presentó el valor medio más alto, pero es importante resaltar que los tratamientos con coinoculación tuvieron los valores más altos en estos parámetros en al menos tres de los cinco muestreos. Estos resultados indican que la coinoculación tiene un impacto positivo en el cultivo de acelga.

Palabras claves: coinoculación, *Azospirillum brasilense*, *Glomus intraradices*, acelga.

ABSTRACT

The excessive use of chemical fertilizers in crops has negatively impacted water and soil. An alternative to their use, are biofertilizers, which are friendly to the environment and even an economical option. Biofertilizers are prepared based on microorganisms with either pure strains or a combination of these (co-inoculants). The present work aims to know the effect of different applications of a co-inoculant based on *Azospirillum brasilense* and *Glomus intraradices* on the growth of a chard crop (*Beta vulgaris* Var. Fordhook Giant). Six treatments were established, and five samples were performed. Two treatments consisted of three applications of the co-inoculant (T1, T2) and another treatment with five doses of the co-inoculant (T3) at different stages of the crop, both in seed and after transplantation. It should be mentioned that to the plants of the T1 treatments, T2 and T3 were also subjected to a Steiner-NP nutrient solution (without nitrogen or phosphorus). In addition, controls were established, such as the batch of plants that were fed with complete Steiner solution (T4), another batch with Steiner -NP (T5) and the batch of plants to which no fertilization was applied, only irrigation with drinking water (T6). The Tukey mean comparison analysis ($P \geq 0.05$) found significant differences between the treatments evaluated for all parameters. According to the results, the highest average value of fresh root weight was presented by the T2 and T3 treatment plants. As for the root dry weight, the highest average values belonged to the T2 and T5 plants. In the case of leaf fresh and dry weight and leaf area, on average, the T4 obtained the highest value. It is worst to mentioned that the co-inoculation treatments had the highest values in these parameters in three of the five samples. These results indicate that co-inoculation has a positive impact on chard cultivation.

Keywords: co-inoculation, *Azospirillum brasilense*, *Glomus intraradices*, swiss chard

INDICE GENERAL

RESUMEN.....	vi
INDICE DE FIGURA	ix
ÍNDICE DE TABLA.....	x
ÍNDICE DE CUADRO	x
INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	2
OBJETIVO GENERAL.....	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
HIPÓTESIS	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
El cultivo de acelga	4
Biofertilizantes.....	4
Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal	5
Azospirillum brasilense	6
Casos exitosos de la aplicación de <i>Azospirillum brasilense</i> en cultivos.....	7
Hongos micorrízicos.....	8
Glomus intraradices	9
Casos exitosos de la aplicación de <i>Glomus intraradices</i> en cultivos	10
Interacción micorriza-bacteria	11
Casos exitosos de la interacción de <i>Azospirillum brasilense</i> y <i>Glomus intraradices</i> aplicados en plantas	11
MATERIALES Y MÉTODOS	13
Ubicación del experimento.....	13
Metodología de la coinoculación.....	13
Lavado y desinfección de las semillas	13
Coinoculación de las semillas de acelga con <i>Azospirillum brasilense</i> y <i>Glomus intraradices</i>	14
Preparación del sustrato, llenado de las charolas y siembra	15
Trasplante.....	16
Tratamientos	16
Inoculación en trasplante	16

Fertilización mineral Steiner –NP.....	17
Evaluación de la emergencia de semillas co-inoculas y sin inocular.....	18
Parámetros evaluados después del trasplante.....	18
Evaluación del crecimiento vegetal	18
Diseño experimental	20
Análisis estadístico.....	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
Velocidad de emergencia de la semilla	22
Peso Fresco de la Raíz	23
Peso Seco de la Raíz	24
Peso Fresco del Tallo	25
Peso Seco del Tallo	26
Peso Fresco de la Hoja	27
Peso Seco de la Hoja	28
Área Foliar	29
CONCLUSIONES.....	31
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

INDICE DE FIGURA

Figura 1. Micelio externo que se extiende desde una raíz colonizada a una partícula de suelo (Jakobsen et al., 1992).	9
figura 2.Lavado y desinfección de semillas de acelga	14
Figura 3.Coinoculación de semillas de acelga.	15
Figura 4.Llenado de charolas y siembra de semillas.....	15
Figura 5.Emergencia de las semillas y conteo de plántulas.....	18
Figura 6.Disección de la planta.....	19
Figura 7.Medición de área foliar y extensión de raíz.	20
Figura 8. Medición de peso fresco y seco del tallo.	20
figura 9.Emergencia de semillas inoculas y sin inocular.....	23

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1.Descripción y abreviaturas usadas de los tratamientos.	16
Tabla 2.Compuestos químicos para preparar 20 L de solución mineral (Steiner, 1984)....	17
Tabla 3.Compuestos químicos para preparar 20 L de solución mineral sin nitrógeno y fósforo (Steiner, 1984).....	18
Tabla 4.Calendarización y descripción de muestreos.	19

ÍNDICE DE CUADRO

Cuadro 1.Resultados obtenidos para el análisis de varianza y comparación de medias para el peso fresco de la raíz.	24
Cuadro 2.Resultados obtenidos para el análisis de varianza y comparación de medias para el peso seco de la raíz.....	25
Cuadro 3.Resultados obtenidos para el análisis de varianza y comparación de medias para el peso fresco del tallo	26
Cuadro 4.Resultados obtenidos para el análisis de varianza y comparación de medias para el peso seco del tallo	27
Cuadro 5.Resultados obtenidos para el análisis de varianza y comparación de medias para el peso fresco de la hoja.	28
Cuadro 6.Resultados obtenidos para el análisis de varianza y comparación de medias para el peso seco de la hoja.....	29
Cuadro 7.Resultados obtenidos para el análisis de varianza y comparación de medias para el área foliar.....	30

INTRODUCCIÓN

Un biofertilizante es un producto a base de microorganismos benéficos, que en general se componen de bacterias y hongos micorrízicos, los cuales viven asociados con las plantas y ayudan a su proceso natural de nutrición, además de ser regeneradores del suelo. Además, estos inoculantes microbianos han logrado aumentar el crecimiento de las plantas, promoviendo el desarrollo de las raíces secundarias que propicia el aumento del volumen explorado, actúan como protectores contra fitopatógenos y mediante la producción de metabolitos, entre los que se destacan las fitohormonas, que pueden influir directa o indirectamente sobre el crecimiento de las plantas (Morales y Pico, 2009).

Los microorganismos promotores de crecimiento vegetal se encuentran de forma natural en el suelo, sin embargo, su población es afectada por el mal manejo de suelo y uso excesivo de agroquímicos (Grageda-Cabrera *et al.*, 2012). Dentro de este grupo de microorganismos se encuentran hongos micorrízicos de los géneros: *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Sclerocystis* y *Glomus*, y especies de bacterias de géneros como *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azotobacter*, *Frankia*, *Beijerinckia* y *Azospirillum* (Pajarito-Ravelero e Ibarra-Flores, 2012).

Azospirillum ha creado numerosos progresos en los campos, dando lugar a una aplicación cada vez mayor y exitosa en varias regiones del mundo, especialmente en América del Sur y Centroamérica (Hartmann y Bashan, 2009). Los efectos positivos de *A. brasilense* en diversos cultivos se han atribuido principalmente al mejoramiento en el desarrollo de la raíz, y al incremento subsecuente en la tasa de asimilación de agua y la utilización de minerales del suelo (García *et al.*, 2007). *Azospirillum* aumentó más del 30% la producción de grano y materia seca de cultivos tales como el frijol, trigo, garbanzo, pastos, cítricos y haba (García-Olivares *et al.*, 2012). En soya el rendimiento fue del 11% (INTA, 2010), en maíz el rendimiento de grano aumentó hasta un 35% (García-Olivares *et al.*, 2007). En maíz, caña de azúcar, pastos y sorgos aporta de 30 a 50% los requerimientos de nitrógeno de dichos cultivos (García-Olivares *et al.*, 2006).

La aplicación de *Glomus* en diversos cultivos ha sido exitosa. Gou-hui *et al.* (2005), estudiaron el efecto de la inoculación de *G. intraradices* sobre el almacenamiento de nutrientes y resistencia al frío durante el crecimiento de *Diospyros lotus* L., obteniendo un incremento en el azúcar soluble en el floema de un 1%, mientras que en el xilema el azúcar y el nitrógeno se incrementaron un 5%, también con un incremento en la resistencia al frío. Por otro lado, Hernández y Salas (2009), demostraron que plantas inoculadas con la micorriza presentaron un 100% de supervivencia al momento del trasplante en comparación de plantas no inoculadas con un 30%.

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad el suelo es uno de los recursos más vulnerables debido a la sobreexplotación con el uso indiscriminado de fertilizantes químicos, lo que ha derivado en problemas ambientales, los daños se pueden ver reflejados en la pérdida y disponibilidad de nutrientes, por lo que las plantas se desarrollan con déficit de nutrientes y el agricultor se ve en la necesidad de la aplicación excesiva de estos productos. Lo anterior ha repercutido en que la agricultura se enfoque en buscar soluciones a estas problemáticas, y para ello alternativamente se han estado utilizando biofertilizantes o bioinoculantes que ayuden a suplir parcial o totalmente la necesidad de nutrientes que fertilicen el suelo de forma más natural y sin generar una alteración en el suelo y en el agua. Aún queda mucho que estudiar en cuanto a la aplicación de estos bioinoculantes como por ejemplo las dosis adecuadas para cada cultivo con el fin de tener una mayor productividad y un mejor rendimiento económico.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de diferentes aplicaciones de un co-inoculante a base de *Azospirillum brasilense* y *Glomus intraradices* en el crecimiento de un cultivo de acelga (*Beta vulgaris* Var. Forhook Giant).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Comparar el efecto de la co-inoculación de *Azospirillum brasilense*/*Glomus intraradices* en la germinación de semillas.
2. Monitorear el crecimiento de un cultivo de acelga co-inoculada con diferentes aplicaciones de un biofertilizante a base de *Azospirillum brasilense* y *Glomus intraradices*.

HIPÓTESIS

La asociación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal y hongos micorrízicos arbusculares en combinación con solución Steiner sin nitrógeno ni fosforo, aumentará el crecimiento del cultivo de acelga, debido a que los microorganismos en conjunto con la fertilización química le proporcionarán a la planta todos los nutrientes necesarios.

REVISIÓN DE LITERATURA

El cultivo de acelga

Ramírez (2006), indica que la acelga es una hortaliza originaria de Europa, su ciclo vegetativo varía entre seis y ocho meses dependiendo de la variedad y las condiciones de manejo. Pertenece a la familia de las Chenopodiaceas que comprende unas 1400 especies de plantas propias de zonas costeras o de terrenos salinos templados. La acelga es de la especie *Beta vulgaris*, aporta mayoritariamente agua y cantidades mucho menores de hidratos de carbono y proteínas, por lo que resulta poco energética (Infoagro, 2007), aunque es un alimento rico en nutrientes reguladores, como ciertas vitaminas, sales minerales y fibra, el mineral más abundante es el potasio, destacando además el contenido en magnesio, sodio, yodo, hierro y calcio, con un importante aporte de carotenoides (provitaminas A y antioxidantes) (Masias *et al.*, 2003).

La acelga es una hortaliza cuya parte comestible la constituyen las hojas y pecíolos, es considerada como una planta semiperenne y de rebrote permanente (Callisaya, 2016), además posee un gran contenido de vitaminas A y C.

Biofertilizantes

Vessey (2003), define los biofertilizantes como una sustancia que contiene microorganismos vivos que, al ser aplicada a semillas, superficies de plantas o suelo, coloniza la rizósfera o el interior de la planta y promueve su crecimiento aumentando el suministro o la disponibilidad de nutrientes primarios. Así, el término biofertilizante se refiere a un producto que contiene microorganismos del suelo aplicados a plantas para promover su crecimiento.

García *et al.* (2010), mencionan que los biofertilizantes tienen la capacidad de fijar nitrógeno, solubilizar nutrientes, producir hormonas y estimular la protección frente al ataque de plagas y patógenos, además consumen poca energía, no contaminan, incrementan la fertilidad del suelo y proporcionan protección frente a

microorganismos fitopatógenos, y aportan microorganismos benéficos que ayudan a mantener un equilibrio ecológico por medio de la liberación de nutrientes inorgánicos aumentando la fertilidad de los suelos de cultivo (Carvajal y Mera, 2010), por lo que representa una alternativa para disminuir el uso de fertilizantes químicos. Aunque esta tecnología ya se usa con éxito en diversos países, en México es poco conocida (Rodríguez, 2008).

Los microorganismos utilizados son clasificados dentro de dos grupos: el primer grupo incluye microorganismos que tienen la capacidad de sintetizar sustancias que promueven el crecimiento de la planta, solubilizan hierro y fósforo, fijan nitrógeno atmosférico y mejoran la tolerancia a salinidad, estrés hídrico, metales tóxicos y exceso de plaguicidas (Lucy *et al.*, 2004; Armenta-Bojórquez, 2010). El segundo grupo incluye microorganismos capaces de estimular la protección frente al ataque de plagas y patógenos (García *et al.*, 2010), por lo que representa una alternativa para disminuir el uso de plaguicidas químicos.

Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal

Benjumeda (2017), denomina a las bacterias promotoras de crecimiento vegetal como un conjunto de bacterias que habitan en la rizosfera de la planta y que producen en ellas una serie de beneficios, estos microorganismos son capaces de interactuar con las raíces de las plantas al ser atraídos por sustancias excretadas por ellas mismas, lo que ocasiona el movimiento de la bacteria hacia la planta y de esta forma se da inicio a una relación de beneficio mutuo (Camelo *et al.*, 2011).

Dichas bacterias pueden actuar sobre la planta de manera directa al proporcionarle compuestos sintetizados por ella misma (nitrógeno, hormonas del crecimiento y ciertos nutrientes como hierro o fósforo), y de manera indirecta al protegerlas de microorganismos fitopatógenos (Artusson *et al.*, 2006; Sarabia *et al.*, 2010). Además, los mecanismos utilizados por estos microorganismos promotores de crecimiento vegetal incluyen protección contra bacterias patógenas, la síntesis de enzimas fúngicas de la pared celular, y la competencia con microorganismos perjudiciales para sitios en las raíces de las plantas (Lucy *et al.*, 2004).

Azospirillum brasilense

Azospirillum brasilense es una bacteria promotora del crecimiento vegetal, debido a su capacidad para estimular el crecimiento de las plantas, a través de mecanismos directos e indirectos tales como la fijación de nitrógeno atmosférico, producción de fitohormonas, solubilización de minerales y nutrientes, incremento en el volumen de la raíz e inducción de resistencia a patógenos (Vital y Mendoza, 2014), además incrementa el peso seco total, concentración de nitrógeno en follaje y grano, número total de espigas, floración y aparición de espigas más temprana, tasas de germinación más altas, entre otras. Dentro de los efectos positivos más sobresalientes de la inoculación de *Azospirillum* está el desarrollo radicular (coloniza tanto la parte interna como la externa de la raíz), los cambios morfológicos que sufre el sistema radicular se observan en el incremento de la longitud y el número y longitud de raíces laterales, lo cual aumenta el volumen radicular, hay un incremento en el área de la superficie radicular, estimulación de la exudación radicular así como en la morfología externa de las raíces (Vital y Mendoza, 2014).

Camelo *et al.* (2011), mencionan que esta bacteria tiene la capacidad de producir auxinas, específicamente ácido indolacético, la cual participa en la diferenciación celular, dominios apicales y el desarrollo de órganos. Además, produce sideróforos los cuales desempeñan la función de solubilizar específicamente el hierro e incorporarlo al metabolismo celular. Se le ha atribuido también la producción de giberelinas, fitohormona que es capaz de inducir el crecimiento de los tallos, interrumpir el periodo de latencia de las semillas para germinar, la brotación de yemas y el desarrollo de los frutos.

La producción de ácido indolacético por parte de la bacteria, y la alta sensibilidad de las raíces a dicha hormona son fundamentales, en la respuesta a la inoculación, donde se observa mayor desarrollo radical que se traduce en un incremento de la superficie de absorción de nutrientes, y así, un mayor desarrollo de la parte aérea de la planta (García *et al.*, 2010).

Además de inducir cambios en la morfología de la planta, estas bacterias también afectan el contenido de proteínas y metabolitos secundarios (Cangahuala-Inocente *et al.*, 2013).

Casos exitosos de la aplicación de *Azospirillum brasilense* en cultivos

Barbaro *et al.* (2005), reportaron en pimiento pimentonero inoculado con *Azospirillum brasilense* mayor porcentaje de semillas germinadas en comparación con las no inoculadas. Por su parte, Canto-Martín *et al.* (2004), reportaron resultados similares en cuanto a la germinación en chile habanero.

Castillejo (2011), demostró el efecto positivo de *Azospirillum sp.*, sobre plantas de fresa variedad Albidón en invernadero, cuantificando que la inoculación sin adición de fertilizante incrementó el área foliar, masa fresca y seca y el rendimiento del fruto en 26, 28, 37 y 135%, respectivamente. También demostró que la inoculación de *Azospirillum sp.* más 50% de la dosis de fertilización N fue estadísticamente mayor en 46% de área foliar, 56% masa fresca y 73% masa seca en comparación con los tratamientos con 50% y 100% de fertilizante N.

García-Olivares *et al.* (2012), mencionan que el rendimiento de grano de maíz tratado con la bacteria fue 15% mayor, mientras que en fresa las plantas inoculadas mostraron un crecimiento vegetativo más vigoroso y aumentaron el rendimiento total de la fruta en un 8.5% (Salazar *et al.*, 2012).

En estudios realizados por García-Olivares *et al.* (2012), detectaron que la inoculación de *Azospirillum brasilense* incrementó el rendimiento de grano de maíz en comparación con el testigo no fertilizado ni inoculado. Resultados similares reportaron González *et al.* (2011), en el aumento del rendimiento del grano de maíz (1.47 t ha⁻¹), además determinaron una disminución de la duración del ciclo biológico del cultivo (2 días en floración masculina y madurez fisiológica).

Por su parte, Pérez y Sánchez (2017), mencionan que cepas de *Azospirillum brasilense* fueron capaz de solubilizar fósforo y producir índoles. También señalan que plántulas de *Ipomoea batatas* inoculadas con la bacteria presentaron

incrementos en longitud radicular, altura, peso seco aéreo y radicular en plántulas frente a plántulas sin inocular.

Además de los beneficios antes descritos, ha sido demostrado que la bacteria tiene resistencia a plaguicidas, pues en un estudio realizado por Aguirre-Cadena *et al.* (2014), obtuvieron en trigo que plantas inoculadas con la bacteria, con o sin tratamiento de herbicida registraron mayor biomasa en comparación con las plantas sin inocular.

Hongos micorrízicos

Los hongos micorrízicos presentan asociación simbiótica con las plantas, las cuales suministran además de un nicho ecológico, la fuente de carbono que necesita el hongo para su desarrollo, a su vez la planta se beneficia incrementando la captación de nutrimentos minerales del suelo, principalmente fósforo (Alloush *et al.*, 2000; Armenta-Bojórquez *et al.*, 2010). Más de 90% de las comunidades vegetales que se encuentran habitando el planeta, presentan la característica de formar la simbiosis micorrízica (Alarcón y Ferrera, 1999).

La importancia de los hongos micorrízicos en la agricultura radica en que por su extenso micelio extra radical, que puede extenderse más allá de 9 cm desde la raíz (Bethlenfalvay, 1992), constituye un enlace o puente (figura 1), entre la planta y el suelo debido a que al darse la asociación planta-hongo, las plantas micorrizadas presentan ventajas de las plantas no micorrizadas, como por ejemplo facilitándole a la planta la toma de nutrientes de baja disponibilidad o de poca movilidad en el suelo, evitando la acción de microorganismos patógenos en la raíz, aumentando la tolerancia de la planta a condiciones de estrés abiótico en el suelo, entre otros beneficios (Barrer, 2009). Las hifas extra radicales de los hongos micorrizicos contribuyen en la absorción de hasta 80% de fósforo, 10% de potasio, 25% de zinc, 60% de cobre y 25% de nitrógeno de la planta (Allen *et al.*, 2003).



Figura 1. Micelio externo que se extiende desde una raíz colonizada a una partícula de suelo (Jakobsen et al., 1992).

Glomus intraradices

Glomus intraradices es el miembro más estudiado del filo Glomeromycota, éstas especies son habitantes del suelo que forman la simbiosis mutualista más extendida con raíces de plantas, su función es proporcionar a las plantas nutrientes minerales a cambio de fotoasimilados.

Este hongo es considerado biotrófico obligado y, en ausencia de la planta huésped solo producen un diminuto micelio que aborta el crecimiento después de unos días, sin embargo, en presencia de un huésped compatible el hongo y la planta intercambian varias señales secretadas que inician el programa celular simbiótico (Kloppholz *et al.*, 2011).

El proceso de simbiosis comienza con la germinación de las esporas del hongo, después se forman presorios por donde penetra la hifa a la superficie radical y coloniza el espacio intercelular del córtex de la raíz, para ello se activan enzimas degradadoras de la pared celular no agresivas en el hongo, y tanto las células del hongo como de las raíces de las plantas cambian su expresión génica y su morfología, en este momento las hifas penetran a través de las paredes celulares y dentro de las células del córtex desarrolla estructuras denominadas arbuscúlos (lugar donde se lleva a cabo el intercambio de nutrientes entre planta y hongo) y finalmente se forma el micelio extra radical (Nogales, 2006).

Esta simbiosis facilita la captación de fósforo, un nutriente limitante en la mayoría de los suelos, también influye directa o indirectamente en la absorción de otros iones minerales como el N, K, Ca, Mg, Fe, Mn (Sarabia *et al.*, 2010). El modo de acción que desempeña la micorriza se fundamenta además en la bioprotección contra patógenos y enfermedades debido a la competencia directa que se da entre los microorganismos patógenos por el mismo espacio de la raíz (Fitter *et al.*, 2011), el incremento del vigor de la planta, la compensación de daños, incremento de la raíz y la activación de mecanismos de defensa a estreses abióticos de la planta (Nogales, 2006).

Casos exitosos de la aplicación de *Glomus intraradices* en cultivos

Numerosos estudios arrojan resultados interesantes acerca del efecto de la interacción de la micorriza con la planta. Nedorost y Pokluda (2012), aplicaron *Glomus intraradices* combinada con fertilización media y obtuvieron un aumento en vitamina C. Por otro lado, Salgado-Barrero *et al.* (2012), indican que *Glomus intraradices* tiene el potencial de reducir la aplicación de fertilizantes nitrogenados en el cultivo de fresa.

Ley-Rivas *et al.* (2015), reportaron en tomate inoculado con *G. intraradices* mayor eficiencia en el incremento de la biomasa de los frutos. Mientras que en maíz se ha reportado mayor rendimiento de grano por efecto de micorrizas nativas del suelo, sobre todo en suelos con baja disponibilidad de fósforo (Díaz *et al.*, 2005).

Salgado-Barreiro *et al.* (2012), demostraron que en un cultivo de fresa inoculada con *G. intraradices* hubo incremento en el peso seco de la raíz y parte aérea, lo que se traduce en la reducción de aplicaciones de fertilizantes nitrogenados en el cultivo.

Díaz-Hernández *et al.* (2013), indican que la inoculación de *Jatropha curcas* L. con *Glomus intraradices* promueve mayor número de frutos y peso de semillas.

Interacción micorriza-bacteria

Los microorganismos promotores de crecimiento vegetal han sido utilizados en la agricultura debido a las numerosas ventajas que le proporciona a la planta una vez establecida la simbiosis (Constantino *et al.*, 2010), puesto que presentan un efecto sinérgico los microorganismos sobre la micorrización (Zambrano y Díaz, 2008). Además, se ha evidenciado que las micorrizas al formar una red de micelios en el suelo crean un nicho especializado para el desarrollo de bacterias (Riera y Medina, 2005).

La principal ventaja que obtienen las plantas de esta simbiosis es la fácil absorción de P y N, los cuales presentan baja disponibilidad en el suelo, su limitación afecta considerablemente su crecimiento, desarrollo y rendimiento. Sánchez-Yañez *et al.* (2014), mencionan que una posible solución al desabasto de estos nutrientes es la utilización de bacterias promotoras de crecimiento vegetal y hongos micorrízicos arbusculares.

Bonfante y Anca (2009), comprobaron en suelos con baja disponibilidad de P que las bacterias de vida libre solubilizadoras de fosfato pueden liberar iones fosfato, y contribuir así con un incremento de fosfato en el suelo disponible para que las hifas extra radicales de los hongos micorrízicos puedan pasar a la planta.

Casos exitosos de la interacción de *Azospirillum brasilense* y *Glomus intraradices* aplicados en plantas

Velasco *et al.* (2001), detectaron un incremento en el contenido de materia seca y en el rendimiento de tomate de cáscara tratados con *Glomus intraradices* y *Azospirillum brasilense*.

Por su parte Díaz *et al.* (2005), reportaron en el Norte de Tamaulipas que la inoculación en semilla de maíz con *Glomus intraradices* y la bacteria, aumentando significativamente el grano del elote.

Riera y Medina (2005), mencionan un incremento en el rendimiento de tomate cuando es inoculado con *Glomus clarum* y *Azospirillum brasilense*.

Estudios realizados por Núñez *et al.* (2011), reportan en lechuga que la aplicación combinada de los biofertilizantes *Azospirillum* + micorrizas obtuvo el mejor rendimiento con 1.71 kg/m² el cual difiere significativamente del testigo.

Anaya *et al.* (2011) indican que las mejores características morfológicas y bioquímicas de plántulas de café, se obtuvieron con *Azospirillum* sp. o bien co-inoculada con *Glomus* y *Azotobacter* y estadísticamente fueron los mejores tratamientos.

Aguirre-Medina *et al.* (2011), encontraron que la simbiosis doble de *G. intraradices* y *A. brasilense* mejoró el desarrollo del tallo y lámina foliar en cafeto arábigo.

Orrico *et al.* (2013), obtuvieron evidencias de la capacidad que poseen hongos micorrizicos y *Pseudomonas fluorescens* en tomate de árbol, ambos microorganismos promotores de crecimiento vegetal redujeron el desarrollo de nematodos y simultáneamente estimularon el sistema radical y la biomasa aérea en las plantas infectadas. Además, Lozano-Contreras *et al.* (2013), reportaron que la combinación de estos microorganismos incrementó la producción total de biomasa en *Brachiaria brizantha*.

Aguirre-Medina *et al.* (2014), mencionan que en *Cedrela odorata* la coinoculación de *Rhizophagus intraradices* y *A. brasilense* promovió mayor crecimiento vegetal en los componentes fisiológicos y morfológicos, representando 40% más de altura máxima en relación con el testigo, además incrementó los contenidos de N y P en el tejido vegetal del cedro.

Sangoquiza *et al.* (2014), mencionan que la simbiosis de *Azospirillum* sp. y *Pseudomonas fluorescens* presentó la mayor absorción de fósforo 10.86 g por planta en comparación con el testigo.

En plantas de chile jalapeño inoculadas con *R. intraradices* y *P. fluorescens* y *A. brasilense* indujeron frutos más grandes (Aguirre y Espinoza, 2017).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento

La presente investigación se llevó a cabo en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, situada en la ciudad de Saltillo, Coahuila, en el invernadero no. 2 de la Subdirección de Operación de Proyectos en donde fue establecido el experimento y en el laboratorio de Biotecnología del Departamento de Botánica de la UAAAN donde se midieron los parámetros analizados.

Metodología de la coinoculación

Para realizar esta investigación se co-inocularon semillas de acelga de la variedad Forhook Giant con la bacteria *Azospirillum brasilense* + hongo *Glomus intraradices*, las cuales fueron sembradas posteriormente. Se siguió la metodología propuesta por García-Pérez (2016).

Lavado y desinfección de las semillas

La semilla se sometió a un proceso de lavado y desinfección previo a la inoculación, mediante el siguiente procedimiento: se contaron 400 semillas de acelga y se colocaron en un matraz Erlenmeyer con una capacidad de 500 ml, a estas semillas se le agregaron 200 ml de una solución de Tween 20 al 2%, el matraz se agitó de forma manual durante 10 minutos, posteriormente las semillas se enjuagaron 10 veces con agua destilada, después fueron sumergidas en 200 ml de etanol al 96% durante un minuto manteniéndose en agitación, pasado este tiempo se retiró el etanol y se colocaron en vaso de precipitado con 200 ml de hipoclorito de sodio y se mantuvieron en agitación durante 5 minutos, transcurrido este tiempo, las semillas se enjuagaron 5 veces con un periodo de 3 minutos cada uno en una solución estéril de tiosulfato de sodio al 2% y finalmente se enjuagaron 10 veces con agua destilada estéril, por último se dejaron secar completamente al aire libre (figura 2).



figura 2. Lavado y desinfección de semillas de acelga

Coinoculación de las semillas de acelga con *Azospirillum brasiliense* y *Glomus intraradices*

Para la inoculación de las semillas de acelga, se prepararon 50 ml de la solución de goma arábica al 1%, a esta solución se le agregó 9 ml de la solución biofertilizante (mezcla de *Azospirillum brasiliense* + *Glomus intraradices*), y se adicionó 1 ml de goma arábica, después se mezcló bien para homogenizar la solución; posteriormente se colocó 10 ml de la mezcla inoculante sobre las semillas contenidas en un frasco de cultivo para laboratorio tipo GL 45 con tapa, y se agitó el frasco vigorosamente, después se les retiro el excedente y se dejaron secar al aire libre.

Para el tratamiento testigo se realizó un procedimiento similar al antes mencionado, la diferencia fue que para estas semillas únicamente se les agregó 9 ml de agua destilada más 1 ml de solución de goma arábica al 1%, dejándose secar al aire libre (figura 3).



Figura 3. Coinoculación de semillas de acelga.

Preparación del sustrato, llenado de las charolas y siembra

Se utilizó como sustrato peat moss el cual se humedeció hasta un punto de saturación, posteriormente se realizó el llenado de las charolas de germinación de plástico de 200 cavidades (figura 4).



Figura 4. Llenado de charolas y siembra de semillas.

La siembra de las semillas previamente inoculadas y no inoculadas se hizo en las charolas de germinación que contenían la mezcla de sustrato antes descrito y señaladas para diferenciar las plántulas inoculadas y las testigos, ésta consistió en

colocar una semilla por cavidad y cubiertas con el mismo sustrato; posteriormente, las charolas se colocaron en el invernadero para la germinación a una temperatura promedio de 28°C.

Trasplante

El trasplante se realizó en macetas de plástico de una capacidad de 3 litros previamente etiquetadas, llenadas con una mezcla 1:1:1 (peat moss+perlita+suelo agrícola) y humedecidas. El trasplante se realizó 27 días después de la siembra en charolas, se colocó una plántula por maceta de acuerdo al etiquetado.

Tratamientos

En la siguiente tabla se describen los tratamientos que se plantearon para este trabajo de investigación.

Tabla 1. Descripción y abreviaturas usadas de los tratamientos.

*Tratamiento (número de tratamiento)	Descripción
S+T+10ddT (T1)	Coinoculación en semilla, en trasplante y a los diez días después del trasplante
S+T+20 ddT (T2)	Coinoculación en semilla, en trasplante y a los 20 días después del trasplante
S+T+10+20+30 ddT (T3)	Coinoculación en semilla, en trasplante, a los 10, 20 y 30 días después del trasplante.
Steiner (T4)	Steiner completa al 50%
Steiner -NP (T5)	Steiner al 50% sin añadir los elementos que le suministren nitrógeno o fósforo a las plantas
Testigo (T6)	Solo agua potable

*Abreviaturas de etiquetado

Inoculación en trasplante

Una vez trasplantadas se inocularon las plántulas de los tratamientos T1, T2, y T3, para ello se mezcló 1 ml de biofertilizante aforado a 100 ml con agua potable, posteriormente se le aplicó directamente al suelo por un lado de la plántula.

A los 10 ddT se realizó una tercera inoculación a los tratamientos T1 y T3, siguiendo el proceso y la dosis antes mencionada.

A los 20 ddT se realizó la cuarta inoculación a los tratamientos T2 y T3. Finalmente, a los 30 ddT se aplicó la quinta y última inoculación al T3.

Fertilización mineral Steiner

Para la fertilización de las plántulas del T4 se utilizó la solución Steiner al 50%, la aplicación de la solución inició desde el trasplante. Los compuestos químicos se diluyeron en 20 litros de agua para el tratamiento mineral con Steiner completa, se aplicó riego diario, suministrándole 100 ml de la solución por maceta de tratamiento (T4).

Tabla 2. Compuestos químicos para preparar 20 L de solución mineral (Steiner, 1984).

Compuesto químico	Cantidad
Nitrato de potasio (KNO_3)	0.81 g
Nitrato de calcio ($Ca(NO_3)_2$)	2.6 g
Sulfato de potasio (K_2SO_4)	2.6 g
Cloruro de potasio (KCl)	2.24 g
EDTA Fe + Micro Mix	1.6 g
Ácido fosfórico (H_3PO_4)	1.38 ml
Ácido nítrico (HNO_3)	4.0 ml
Ácido sulfúrico (H_2SO_4)	0.49 ml

Fertilización mineral Steiner –NP

La fertilización mineral Steiner sin nitrógeno y fósforo (-NP) al 50 % fue aplicada a los tratamientos T1, T2, T3, y T5. Los compuestos químicos se diluyeron en 20 litros de agua y se le suministró 100 ml diarios a cada maceta de los tratamientos antes mencionados.

Tabla 3. Compuestos químicos para preparar 20 L de solución mineral sin nitrógeno y fósforo (Steiner, 1984).

Compuesto químico	Cantidad
Sulfato de potasio (K_2SO_4)	2.6 g
Cloruro de potasio (KCl)	2.24 g
EDTA Fe + micro Mix	1.6 g
Ácido sulfúrico (H_2SO_4)	0.49 ml

En el caso del testigo absoluto (T6) cada maceta se regó con 100 ml de agua potable.

Evaluación de la emergencia de semillas co-inoculas y sin inocular

Para observar el efecto de los microorganismos promotores de crecimiento vegetal se realizó un conteo diario de la emergencia de las semillas desde el día de siembra y hasta el día del trasplante.



Figura 5. Emergencia de las semillas y conteo de plántulas.

Parámetros evaluados después del trasplante

Se evaluaron el peso fresco de la hoja, peso fresco del tallo, peso fresco de la raíz, peso seco de la hoja, peso seco del tallo, peso seco de la raíz, y área foliar.

Evaluación del crecimiento vegetal

Para observar el efecto de las diferentes aplicaciones del co-inoculante en cada uno de los tratamientos a lo largo del ciclo de la acelga, se realizaron cinco muestreos cada uno con 4 repeticiones.

Tabla 4. Calendarización y descripción de muestreos.

Número de muestreo	Fecha	Descripción
1	20 de junio del 2019	Muestreo día del trasplante, en el cual se tomarán 5 plantas de cada charola (co-inoculada y sin inocular).
2	30 de junio del 2019	Muestreo 10 días después del trasplante.
3	10 de julio del 2019	Muestreo 20 días después del trasplante.
4	20 de julio del 2019	Muestreo 30 días después del trasplante
5	30 de julio del 2019	Muestreo 40 días después del trasplante

Para evaluar el crecimiento vegetativo las plantas fueron retiradas de las macetas, con cuidado se le quitó el exceso de suelo a la raíz y se cortaron en secciones, es decir, raíz, tallo y hoja.



Figura 6. Disección de la planta.

Se midieron el número de hojas por planta, área foliar (para ello se utilizó el integrador de área foliar (Marca LI-COR Modelo LI3100C), la extensión de tallo y raíz con ayuda del vernier digital marca Gimexsa y en caso necesario con una regla de 50 cm.



Figura 7. Medición de área foliar y extensión de raíz.

Se pesaron con ayuda de una balanza Marca OHAUS Modelo TS400S la raíz, el tallo y las hojas para obtener el peso fresco, una vez tomados esos datos cada planta con sus respectivas secciones se colocaron en bolsas de papel estraza y se metieron a la estufa de secado Marca TERLAB, Modelo HS_H_A100308, por un lapso de 3 días a 65°C, transcurrido este tiempo se retiraron las muestras de la estufa y se tomaron los datos de peso seco de raíz, tallo y hoja.

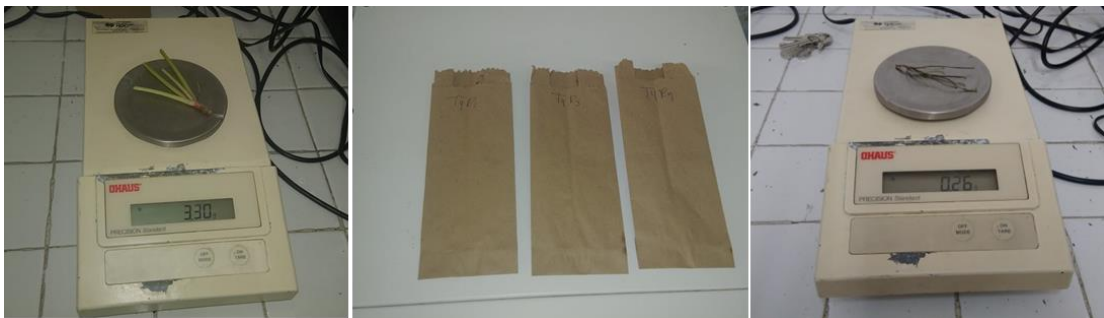


Figura 8. Medición de peso fresco y seco del tallo.

Diseño experimental

El diseño que se utilizó en el experimento fue bloques completos al azar, ya que se buscó contrastar los efectos en los tratamientos y el testigo, en condiciones experimentales distintas. Para ello se establecieron 5 tratamientos más el testigo absoluto, 20 repeticiones, con un total 120 unidades experimentales.

Análisis estadístico

A los datos obtenidos del experimento se les realizó un análisis de varianza y comparación de medias por Tukey $p \geq 0.05$, para variables estadísticas diferentes, mediante el software InfoStat 2018, creado por la Universidad Nacional de Córdoba Argentina (Di Rienzo *et al.*, 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Velocidad de emergencia de la semilla

De acuerdo a los datos obtenidos en la emergencia de semillas, se puede observar en la figura 9 que no se muestran diferencias tan marcadas en cuanto al número de semillas emergidas con y sin coinocular. Sin embargo, se destaca que en el día 3, 4 y 5 se presentó la mayor tasa de emergencia tanto en las semillas co-inoculadas (40, 86 y 104 semillas emergidas, respectivamente) como en las no inoculadas (37, 69, 102 semillas emergidas, respectivamente), siendo el día 4 cuando se presentaron 17 semillas emergidas más que en las semillas sin inoculación, mientras que en el día 5 las semillas de ambas condiciones se igualaron en número de plantas emergidas, este comportamiento se mantuvo hasta el final del experimento aunque con una variación de entre tres a cinco semillas emergidas más por día en las co-inoculadas, este comportamiento sugiere que la co-inoculación tiene efecto promotor positivo sobre la germinación de la semilla de acelga. En este sentido, Castelblanco (2013), reporta resultados similares a los obtenidos en el presente trabajo, este autor utilizó 4 cepas para la inoculación (A1, A3, A5 Y A6) de semillas de acelga y lechuga obteniendo mayor porcentaje de germinación en semillas inoculadas con microorganismos. Barbaro *et al.* (2005), reportaron en pimiento pimentonero inoculado con *Azospirillum brasilense* mayor porcentaje de semillas germinadas en comparación con las no inoculadas. Por su parte, Canto-Martín *et al.* (2004), reportaron resultados similares en cuanto a la germinación en chile habanero.

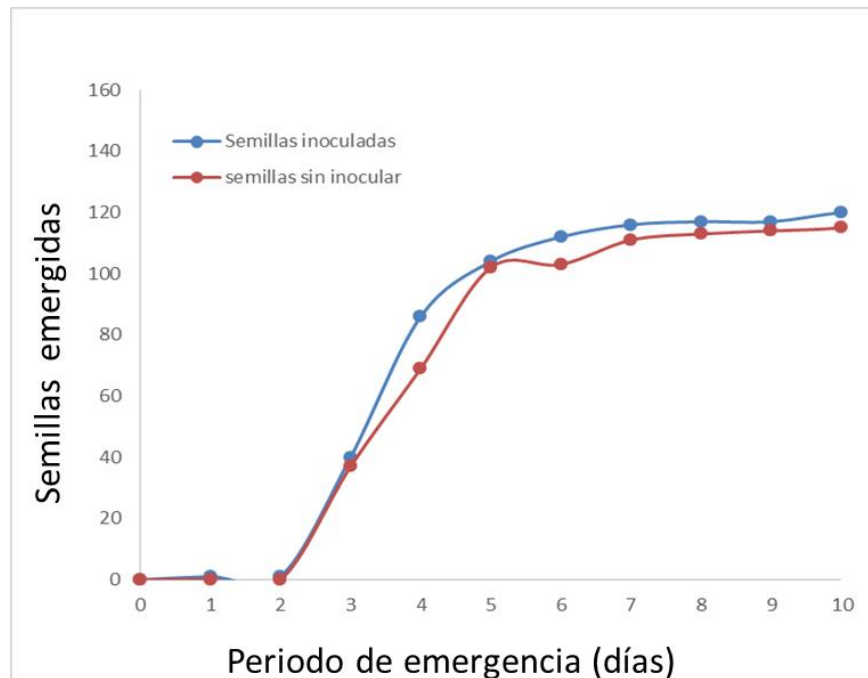


figura 9. Emergencia de semillas inoculas y sin inocular.

Peso Fresco de la Raíz

El análisis de comparación de medias de Tukey ($P \geq 0.05$), encontró diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. Los resultados de la variable peso fresco de la raíz (Cuadro 1) demuestran que en el muestreo 1 no hay diferencias significativas entre tratamientos, las medias se presentaron en un rango de 0.40 a 0.46 g; las diferencias significativas se vieron mayormente marcadas en los muestreos 2 al 5, donde el tratamiento 2 ($T_2 = S+T+20ddT$) mostró los valores medios más altos en los muestreos 2 y 3 con 1.15 g en ambos casos, en tanto que, en los muestreos 4 y 5 fue el tratamiento 3 ($T_3 = S+T+30ddT$) el que presentó los mejores valores medios (3.81 y 4.09 g, respectivamente). Cabe mencionar que en todos los muestreos realizados el tratamiento 4 ($T_4 =$ Solución Steiner) mostró los valores de peso de raíz más bajos, estos valores estuvieron en un rango de 0.40 a 2.33 g. García *et al.* (2007) indican que los efectos positivos de la aplicación de *Azospirillum brasilense* en diversos cultivos se han atribuido principalmente al mejoramiento en el desarrollo de la raíz, y al incremento subsecuente en la tasa de asimilación de agua y la utilización de minerales del suelo.

Cuadro 1. Resultados obtenidos para el análisis de varianza y comparación de medias para el peso fresco de la raíz.

Tratamientos	Peso fresco de la raíz (g)									
	No. Muestreo									
	1		2		3		4		5	
T1	0.46	A	0.90	AB	0.90	AB	2.37	BC	3.29	BC
T2	0.46	A	1.15	A	1.15	A	2.85	B	3.76	AB
T3	0.46	A	0.88	AB	0.88	AB	3.81	A	4.09	A
T4	0.40	A	0.38	B	0.38	B	2,32	BC	2.33	D
T5	0.40	A	0.63	AB	0.63	AB	2.17	C	2.62	CD
T6	0.40	A	0.60	AB	0.60	AB	2.79	B	3.96	AB

Medias con una letra común, no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). T1= S+T+10ddT, T2= S+T+20ddT, T3= S+T+10+20+30 ddT T4= Steiner, T5= Steiner -NP, T6= Testigo.

Peso Seco de la Raíz

El análisis de comparación de medias de Tukey ($P \geq 0.05$), encontró diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. Los resultados de la variable peso seco de la raíz (Cuadro 2) en los muestreos 1 y 2 no se observan diferencias significativas entre tratamientos, las medias se presentaron en un rango de 0.3 a 0.4 g. Las diferencias significativas se vieron mayormente marcadas en los muestreos 3, 4 y 5, donde los tratamiento 2 (T2=S+T+20ddT) y 5 (T5= Steiner - NP) mostraron los valores medios más altos, en el muestreo 3 con 0.06 g en ambos tratamientos, en tanto que, en el muestreo 4 fue el tratamiento 5 (T5=Steiner-NP) el que presento el mejor valor medio (0.33g), mientras que, en el muestreo 5 los tratamientos 2 (T2=S+T+20ddT) y 6 (T6= Testigo) fueron los que mostraron los valores medios más altos (0.48 g para ambos tratamientos). Es importante mencionar que en todos los muestreos realizados, el tratamiento 4 (T4= Solución Steiner) mostró los valores de peso seco de raíz más bajos, estos valores estuvieron en un rango de 0.03 a 0.37 g. Díaz-Vargas *et al.* (2001), probaron la inoculación de 11 cepas de forma individual en un cultivo de lechuga, las plantas que fueron inoculadas fueron superiores a los demás tratamientos (sin inoculación), sobresaliendo los resultados obtenidos con la aplicación de las cepas R1B de

Enterobacter cloacae, S2-AS, *B. indica*, R2P2B y *P. cepacia* P-26 con peso seco en un rango de 0.03 g a 0.085 g.

Cuadro 2. Resultados obtenidos para el análisis de varianza y comparación de medias para el peso seco de la raíz.

Tratamiento	Peso seco de la raíz (g)									
	No. Muestreo									
	1		2		3		4		5	
T1	0.04	A	0.03	A	0.05	AB	0.20	B	0.42	ABC
T2	0.04	A	0.04	A	0.06	A	0.28	AB	0.48	A
T3	0.04	A	0.03	A	0.06	AB	0.27	AB	0.46	AB
T4	0.04	A	0.03	A	0.04	B	0.22	AB	0.37	C
T5	0.04	A	0.03	A	0.06	A	0.33	A	0.41	BC
T6	0.04	A	0.03	A	0.06	AB	0.24	AB	0.48	A

Medias con una letra común, no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). T1= S+T+10ddT, T2= S+T+20ddT, T3= S+T+10+20+30 ddT, T4= Steiner, T5= Steiner -NP, T6= Testigo.

Peso Fresco del Tallo

El análisis de comparación de medias de Tukey ($P \geq 0.05$), encontró diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. Los resultados indican que en el peso fresco del tallo (Cuadro 3) en los muestreos 1 y 3 hay diferencia estadística significativa entre tratamientos, donde los tratamientos 1, 2 y 3 presentan los valores más altos medios (0.13 g para todos los tratamientos en el muestreo 1 y 0.39 g, 0.37 g, 0.38 g, respectivamente, en el muestreo 3); las diferencias significativas se vieron mayormente marcadas en los muestreos 2, 4 y 5, donde el tratamiento 4 (T4= Solución Steiner) mostró los valores medios más altos con 0.23 g, 8.58 g y 21.12 g, respectivamente. Es necesario resaltar que en todos los muestreos realizados el tratamiento 6 (T6= Testigo) mostró los valores de peso fresco de tallo más bajos, estos valores estuvieron en un rango de 0.07 a 5.59 g.

Cuadro 3. Resultados obtenidos para el análisis de varianza y comparación de medias para el peso fresco del tallo

Tratamiento	Peso fresco del tallo (g)									
	No. Muestreo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
T1	0.13	A	0.21	AB	0.39	A	3.22	C	14.95	B
T2	0.13	A	0.23	A	0.37	A	3.79	BC	9.87	C
T3	0.13	A	0.18	AB	0.38	A	4.50	BC	10.23	C
T4	0.07	B	0.23	A	0.26	B	8.58	A	21.12	A
T5	0.07	B	0.14	AB	0.23	B	5.45	B	10.23	C
T6	0.07	B	0.12	B	0.22	B	3.15	C	5.59	D

Medias con una letra común, no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). T1= S+T+10ddT, T2= S+T+20ddT, T3= S+T+10+20+30 ddT T4= Steiner, T5= Steiner –NP, T6= Testigo.

Peso Seco del Tallo

El análisis de comparación de medias de Tukey ($P \geq 0.05$), encontró diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. En el muestreo 1 (cuadro 4) no se observa diferencia estadística significativa entre tratamientos, las medias se presentaron con el mismo valor en todos los casos 0.1 g. En los muestreos 2 al 5 si se presentan diferencias, donde el tratamiento 1 (T1=S+T+10ddT), 3 (T3=S+T+30ddT), y 4 (T4=Solución Steiner) mostraron los valores medios más altos en el muestreo 2 con 0.2 g en ambos casos, en tanto que, en el muestreo 3 fueron los tratamientos 1 (T1=S+T+10ddT) y 3 (T3=T+30ddT) los que presentaron los mejores valores medios (0.06 g y 0.05 g, respectivamente), mientras que en el muestreo 4 el valor medio más alto lo presento el tratamiento 5 (T5= Steiner –NP) con 0.64 g, siendo el tratamiento 5 el que presento también el valor medio más alto junto con el tratamiento 4 (T4= Solución Steiner) en el último muestreo (1.45 g, 1.57 g, respectivamente). Es importante hacer mención que en todos los muestreos analizados el tratamiento 6 (T6= Testigo) obtuvo los valores de peso más bajos, estos valores estuvieron en un rango de 0.01 a 0.90 g, a excepción del muestro 4 donde el tratamiento 1 (T1=S+T+10ddT) presento el valor medio más bajo con 0.34 g. Aguirre-Medina *et al.* (2014), al aplicar *R. intraradices* en un cultivo de cedro, donde se detectó que el peso seco del tallo fue mayor cuando fue inoculado que cuando no.

Cuadro 4. Resultados obtenidos para el análisis de varianza y comparación de medias para el peso seco del tallo

Tratamiento	Peso seco del tallo (g)									
	N o. Muestreo									
	1		2		3		4		5	
T1	0.01	A	0.02	A	0.06	A	0.34	D	0.93	B
T2	0.01	A	0.01	B	0.05	AB	0.55	B	1.18	AB
T3	0.01	A	0.02	A	0.05	A	0.59	AB	1.24	AB
T4	0.01	A	0.02	A	0.04	AB	0.62	AB	1.57	A
T5	0.01	A	0.01	B	0.03	B	0.64	A	1.45	A
T6	0.01	A	0.01	B	0.03	B	0.47	C	0.90	B

Medias con una letra común, no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). T1= S+T+10ddT, T2= S+T+20ddT, T3= S+T+10+20+30 ddT T4= Steiner, T5= Steiner -NP, T6= Testigo.

Peso Fresco de la Hoja

El análisis de comparación de medias de Tukey ($P \geq 0.05$), encontró diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. Los resultados de la variable peso fresco de la raíz (Cuadro 5), en el muestreo 1 se muestran diferencias significativas entre tratamientos, donde los tratamientos 1, 2 y 3 presentaron los valores medios más altos (0.45 g para ambos casos); las diferencias significativas se vieron mayormente marcadas en los muestreos 3 al 5, donde los tratamientos 1 (T1=S+T+10ddT), 3 (T3= (S+T+30ddT) y 4 (T4= Solución Steiner) mostraron los valores medios más altos (8 g, 8.54 g y 8.4 g, respectivamente) en el muestreo 3, en tanto que, en los muestreos 4 y 5 fue el tratamiento 4 (T4= Solución Steiner) el que presentó los mejores valores medios (16.04 g y 25.99 g, respectivamente). Es de destacarse que en todos los muestreos realizados el tratamiento 6 (T6=Testigo) mostró los valores de peso de raíz más bajos, estos valores estuvieron en un rango de 0.27 a 9.92 g. En este sentido Vargas-Días *et al.*, 2001, reportan resultados parecidos al presente trabajo, ya que al trabajar con un cultivo de lechuga inoculada con la cepa R1B presentó el valor medio más alto con 10.26 g de peso fresco de la hoja en cultivo de lechuga.

Cuadro 5. Resultados obtenidos para el análisis de varianza y comparación de medias para el peso fresco de la hoja.

Tratamiento	Peso fresco de la hoja (g)									
	No. Muestreo									
	1		2		3		4		5	
T1	0.45	A	2.29	BC	8	A	8.97	BC	16.67	BC
T2	0.45	A	2.80	AB	7.13	AB	14.56	A	19.73	B
T3	0.45	A	2.39	BC	8.54	A	12.24	AB	16.75	BC
T4	0.27	B	3.39	AB	8.4	A	16.04	A	25.99	A
T5	0.27	B	1.53	D	7.53	AB	10.45	BC	14.95	C
T6	0.27	B	1.70	CD	4.92	B	6.82	C	9.92	D

Medias con una letra común, no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). T1= S+T+10ddT, T2= S+T+20ddT, T3= S+T+10+20+30 ddT T4= Steiner, T5= Steiner -NP, T6= Testigo.

Peso Seco de la Hoja

El análisis de comparación de medias de Tukey ($P \geq 0.05$), encontró diferencia estadística significativa entre los tratamientos evaluados en cuanto al peso fresco de la raíz (Cuadro 6). En el muestreo 3 no hay diferencia significativa entre tratamientos, las medias se presentaron en un rango de 0.43 a 0.45 g. En los muestreos 1, 2, 4 y 5 si se presentó diferencia estadística, los tratamientos 1 (T1=S+T+10ddT), 2 (T2=S+T+20ddT) y 3 (T3= S+T+30ddT) mostraron los valores medios más altos en el muestreo 1 con 0.4 g en ambos casos, en tanto que, en los muestreos 2, 4 y 5 fue el tratamiento 4 (T4= Solución Steiner) el que presentó los mejores valores medios (0.19 g, 1.86 g, 2.63 g, respectivamente). Vargas-Días *et al.*, 2001, al inocular un cultivo de lechuga con la cepa R1B, observaron que el lote inoculado obtuvo el valor medio más alto con 0.66 g de peso seco de la hoja superando a las plantas fertilizadas químicamente.

Cuadro 6. Resultados obtenidos para el análisis de varianza y comparación de medias para el peso seco de la hoja

Tratamiento	Peso seco de la hoja (g)									
	No. Muestreo									
	1		2		3		4		5	
T1	0.04	A	0.12	AB	0.56	A	0.79	BC	1.52	C
T2	0.04	A	0.15	AB	0.57	A	0.73	C	1.85	BC
T3	0.04	A	0.14	AB	0.49	A	1.04	B	1.94	B
T4	0.03	B	0.19	A	0.64	A	1.86	A	2.63	A
T5	0.03	B	0.09	B	0.48	A	1.03	B	1.64	BC
T6	0.03	B	0.13	AB	0.43	A	0.58	C	1.01	D

Medias con una letra común, no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). T1= S+T+10ddT, T2= S+T+20ddT, T3= S+T+10+20+30 ddT T4= Steiner, T5= Steiner -NP, T6= Testigo.

Área Foliar

El análisis de comparación de medias de Tukey ($P \geq 0.05$), encontró diferencias significativas entre los tratamientos evaluados en cuanto al área foliar (Cuadro 7). En el muestreo 3 no se observa diferencia estadística significativa entre tratamientos, las medias se presentaron en un rango de 143.57 mm² a 156.92 mm². En el muestreo 1 los valores de medias más altos se presentaron en los tratamientos 1 (T1=S+T+10ddT), 2 (T2=S+T+20ddT) y 3 (T3=S+T+30ddT) con un valor de 15.20 mm² en ambos casos. La diferencia significativa se vio mayormente marcada en los muestreos 2, 4 y 5, donde el tratamiento 4 (T4= Solución Steiner) mostró los valores medios más altos en los muestreos 2 y 5 con 78.05 mm² y 631.4 mm², respectivamente; en tanto que, en el muestreo 4 fueron los tratamientos 2 (T2= S+T+20 ddT) y 4 (T4= Solución Steiner) quienes presentaron los mejores valores medios (349.09 mm² y 402.54 mm², respectivamente). Es importante mencionar que en la mayoría de los muestreos realizados el tratamiento 4 (T4= Solución Steiner) fue el que promovió una mayor formación del área foliar y el tratamiento 6 (T6= Testigo) mostró los valores más bajos en un rango de 10.45 mm² a 249.71 mm². Sotelo *et al.* (2012), indican que la fertilización química genera los mejores resultados debido a que brinda nitrógeno inorgánico, el cual es de fácil disponibilidad para la planta, mientras que el nitrógeno orgánico fijado por los microorganismos

debe ser mineralizado en un proceso de amonificación para ser asimilado por la planta. Uribe y Dzib (2006), reportaron que la coinoculación de micorrizas con *Azospirillum* en un cultivo de maíz aumentaron el área foliar hasta 400 mm², resultados que fueron superiores al testigo, aunque el tratamiento perteneciente a la solución mineral Steiner superó a los demás tratamientos en los últimos dos muestreos. Lira-Saldivar *et al.*, 2013, encontraron valores similares en pepino, donde las plantas inoculadas tuvieron valores menores a las plantas con fertilización inorgánico.

Todas las interacciones sinérgicas que se dieron en el presente trabajo, repercuten en un aumento en el crecimiento y desarrollo de las plantas de acelga, debido a los mecanismos de promoción de crecimiento utilizados por los microorganismos tales como la producción de sustancias reguladoras de crecimiento, supresión de patógenos, fijación de nitrógeno y solubilización de fósforo (Nadeem *et al.*, 2013; Pérez-Moncada *et al.*, 2015).

Cuadro 7. Resultados obtenidos para el análisis de varianza y comparación de medias para el área foliar.

Tratamiento	Área Foliar (mm ²)									
	No. Muestreo									
	1		2		3		4		5	
T1	15.20	A	55.78	B	156.92	A	212.80	BC	445.43	B
T2	15.20	A	60.73	B	135.77	A	349.09	A	428.45	B
T3	15.20	A	46.06	C	143.96	A	312.16	AB	440.19	B
T4	10.54	B	78.05	A	150.57	A	402.54	A	631.4	A
T5	10.54	B	43.37	C	149.29	A	214.52	BC	368.67	B
T6	10.54	B	34.26	D	143.57	A	206.11	C	249.71	C

Medias con una letra común, no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). T1= S+T+10ddT, T2= S+T+20ddT, T3= S+T+10+20+30 ddT T4= Steiner, T5= Steiner -NP, T6= Testigo.

CONCLUSIONES

La asociación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal y hongos micorrízicos arbusculares (tratamientos de coinoculación) en combinación con solución Steiner sin nitrógeno ni fosforo, aumentó el peso seco y fresco de raíz y tallo del cultivo de acelga evaluado en esta investigación, adicionalmente en tres de los cinco muestreos estos tratamientos impactaron positivamente en el peso fresco y seco de la hoja, así como en el área foliar, aunque en promedio la fertilización Steiner completa tuvo mayor efecto positivo en las hojas, pero no en raíz ni tallo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre-Cadena, J.F., Téllez, S.R., Cuautle, M., & Aguirre-Medina, J.F. 2014. Sobrevivencia de *Azospirillum brasilense* después de aplicar herbicidas en *Triticum aestivum* L. Var. Altiplano. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. 5(8): 1549-1555.
- Aguirre-Medina, J. F., Mina-Briones, F. O., Cadena-Iñiguez, J., Dardón-Zunun, J. D., & Hernández-Sedas, D. A. 2014. Crecimiento de *Cedrela odorata* L. biofertilizada con *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum brasilense* en vivero. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 20(3), 177-183.
- Aguirre-Medina, J.F., Mina, B.F.O., Cadena, I.J., Dardón, Z.J., & Hernández, S.D., 2014. Crecimiento de *Cedrela odorata* L. Biofertilizada con *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum brasilense* en vivero. *Revista Chapingo Series Ciencias Forestales y del Ambiente*. 20(3):179-186.
- 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* en vivero. *agronomía mesoamericana*. 22(1): 71-80.
- Aguirre, M.J., & Espinosa, M.J. (2017). Crecimiento y rendimiento de *Capsicum annum* L. inoculado con endomicorriza y rizobacterias. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*. 7(7): 1539-1550.
- Alarcón, A., & Ferrera Cerrato, R. 1999. Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. *Terra Latinoamericana*. 17 (3): 179-191.
- Allen, M.F., Swenson, W., Querejeta, J.I., Egerton-Warburton, L.M., & Treseder, K.K. 2003. Ecology of mycorrhizae: a conceptual framework for complex interactions among plant and fungi. *Phytopathology*. 41(1): 271-303.
- Alloush, G.A., Zeto, S. K., Clark, N.2000. Phosphorus source, organic matter, and arbuscular mycorrhizal effects on growth and mineral acquisition of chickpea grown in acidic soil. *Journal of Plant Nutrition*. 23(9):1351-1369.

- Anaya, A.M., Jarquín, G.R., Hernández, R.C., Figueroa, M.S., & Monreal, V.C.T. 2011. Biofertilización de café orgánico en etapa de vivero en Chiapas, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. 2(3), 417-431.
- Armenta-Bojórquez, A.D., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J., Apodaca-Sánchez, M.A., Gerardo-Montoya, L & Nava-Pérez, E. 2010. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Revista Ximhai*. 6(1): 51-56.
- Artursson, V., Finlay, R.D., & Jansson, J.K. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology*. 8(1): 1-10.
- Barbaro, G., Pernasetti, S., & Stegmayer, A. 2005. Evaluación del efecto de *Azospirillum brasilense* en la germinación y emergencia del pimiento pimentonero (*Capsicum annum* L. var trompa de elefante). *Revista del Cizas*. 6(12):74-85.
- Barrer, S.E. 2009. El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. Universidad Industrial de Santander. Facultad de ciencias agropecuarias. 7(1):124-132.
- Benjumeda, M.D. 2017. Bacterias promotoras del crecimiento vegetal: mecanismos y aplicaciones. Universidad de Sevilla. <https://idus.us.es/xmlui/bitstream/handle/11441/65140/BENJUMEA%20MU%C3%91OZ%2C%20DANIEL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Bethlenfalvay, G.J.1992. Mycorrhizae in the agricultural plant-soil system. *Symbiosis*. 14(1):413-425.
- Bonfante, P., & Anca, I.A. 2009. Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions. *Annual Review Microbiology*. 63(1): 363–383.
- Callisaya, P.C. 2016. Evaluación de dos variedades de acelga (*Beta vulgaris* var. *cicla I.*), bajo tres niveles de fertilizante foliar orgánico en sistema hidropónico NFT, en cota cota. Tesis licenciatura. Bolivia. Disponible en : <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/10343>.
- Camelo, R.M., Vera, P.V., & Bonilla, R.B. 2011. Mecanismos de acción de las rizobacterias de crecimiento vegetal. *Ciencia y tecnología agropecuaria*. 12(2): 159-166.

- Cangahuala-Inocente, C.G., Pucani, A.F., Faleiro, A.C., Huergo, L.F., & Maisonave, F.C. 2013. Identificación de seis proteínas acumuladas diferencialmente de plántulas de *Zea mays* (variedad DKB240) inoculadas con la cepa FP2 de *Azospirillum brasilense*. *Revista Europea de Biología del Suelo*. 48(1): 45-50.
- Canto-Martín, J.C., Medina-Peralta, S., & Morales-Avelino, D. 2004. Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp. en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacquin). *Tropical and subtropical Agroecosystems*, 4(1): 21-27.
- Carvajal-Muñoz, J.S. & Mera-Benavides, A.C. 2010. Fertilización biológica: Técnicas de vanguardia para el desarrollo agrícola sostenible. *Review. Producción y Limpia*. 5(2): 77-96.
- Castillejo, A. 2011. Aplicación de *Azospirillum* y su efecto en la calidad y rendimiento de fresa (*Fragaria x ananassa*) var. albión cultivada en invernadero. Tesis Profesional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Jiquilpan, Michoacán, México.
- Constantino, M., Álvarez, R.G., Álvarez-Solís, J.D., Pat-Fernández, J., & Espín, G. 2010. Efecto de la biofertilización y los biorreguladores en la germinación y el crecimiento de *Carica papaya* L. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 12(2): 103-115.
- Díaz-Hernández, B.G., Aguirre-Medina, J.F., & Díaz-Fuentes, V.H. 2013. Rendimiento de *Jatrofa curcas* L. inoculadas con micorriza y aplicación de composta de caña. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 4(4): 599-610.
- Díaz-Vargas, P., Ferrera-Cerrato, R., Almaraz-Suárez, J. J., Alcántar -González, G. 2001. Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. *Terra Latinoamericana*. 19(4) 327-335
- Díaz, F.A., Alvarado, C.M., Cantú, A.M., & Garza, C.I. 2005. Fertilización biológica y producción de maíz en la región semiárida del Norte de Tamaulipas, México. *Agricultura técnica en México*. 31(2): 153-163.
- Fitter, A.H., Helgason, T., Hodge, A. 2011. Nutritional exchanges in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: implications for sustainable agriculture. *Fungal biology reviews*. 25(1): 68-72.

- García-Olivares, J., Moreno, M.V., Rodríguez, L.I., Mendoza, H.A., & Mayek Pérez, N. (2007). Efecto de cepas de *Azospirillum brasilense* en el crecimiento y rendimiento de grano del maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 30 (3): 305-310.
- García-Olivares, J.G, Mendoza, H.A., Mayek-Pérez, N. 2012. Efecto de *Azospirillum brasilense* en el rendimiento del maíz en el Norte de Tamaulipas, México. Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional. 28(1): 79-84.
- García-Olivares, J.G., Mendoza-Herrera, A., & Mayek-Pérez, N. 2012. Efecto de *Azospirillum brasilense* en el rendimiento del maíz en el norte de Tamaulipas, México. *Universidad y ciencia*. 28(1): 79-84.
- García-Olivares, J.G., Moreno-Medina, V.R., Rodríguez-Luna, I.C., Mendoza-Herrera, A. & Mayek-Pérez, N. 2006. Biofertilización con *Azospirillum brasilense* en Sorgo, en el Norte de México. *Agricultura Técnica en México*. 32(2):135-141
- García-Olivarez, J.G., Mendoza-Herrera, A., & Mayek-Pérez, N. 2012.Efecto de *Azospirillum brasilense* en el rendimiento de maíz en el norte de Tamaulipas, Mexico. *Revista Universidad y Ciencia*. 28(1): 79-84.
- García, F., Muñoz, H., Carreño, C y Mendoza, G. 2010. Caracterización de cepas nativas de *Azospirillum* spp. y su efecto en el desarrollo de *Oryza sativa* L. *Scientia Agropecuaria* .1(2010): 107-116.
- García, F., Muñoz, H., Carreño, C., & Mendoza, G. 2010. Caracterización de cepas nativas de *Azospirillum* sp. Y su efecto en el desarrollo de *Oryza sativa* L. "Arroz" en Lambayeque. *Scientia agropecuaria*. 1(1):107-116.
- González, H.A., Pérez, L.D., Franco, M.O., Balbuena, M.A., Gutierrez, R.F., & Romero, S.H. 2011. Respuesta de tres cultivares de maíz a la inoculación con *Azospirillum brasilense* bajo cuatro diferentes dosis de nitrógeno. *Ciencia ergo-sum. Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*. 18 (1): 51-58.
- Grageda-Cabrera, O.A., Díaz-Franco, A., Peña-Cabriales, J.J., y Vera-Núñez J.A. 2012. Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 3(6):1261-1274.

- Guo-Hui, Q., Wen –Li, Y., Lin-ping, Z., Xian-tao, L., Gaosu-na. 2005. Effects of arbuscular micorrizhal fungi on storage nutrient and cold resistance of *Diospiros lotus* L. *Journal of Agricultural University of Hebei. China.* 28(1): 62-64.
- Hartmann, A. & Bashan, Y. 2009. Ecology and application of *Azospirillum* and other plant growth-promoting bacteria (PGPB) Special issue. *European Journal of Soil Biology.* 45 (1) :1-2.
- Hernández, W., & Salas, E. 2009. La inoculación con *Glomus fasciculatum* en el crecimiento de cuatro especies forestales en vivero y campo. *Agronomía costarricense.* 33(1): 17-30.
- Infoagro (2007). www.infoagro.com. El cultivo de acelga.
- Kloppholz, S., Kuhn, H., & Requena, N. 2011. A secreted fungal effector of *Glomus intraradices* promotes symbiotic biotrophy. *Current Biology.* 21(14): 1204-1209.
- Ley-Rivas, J., Sánchez, J., Ricardo, N., & Collazo, E. 2015. Efecto de cuatro especies de hongos micorrizógenos arbusculares en la producción de frutos de tomate. *Agronomía Costarricense.* 39 (1): 47-59.
- Lira-Saldivar, R., Vazquez-Santiago, E., Cárdenas-Flores, A., Ibarra-Jiménez, L., Valdez-Aguilar, L.A., Hernandez-Suares, M. 2013. Producción orgánica de pepino (*Cucumis sativus* L.) en casahuate con biofertilizantes y acolchado plástico. 806-808.
- Lozano-Contreras, M.G., Rivas-Pantoja, F., & Castillo-Huchim, J.E. 2013. Crecimiento de plántulas de *Brachiaria brizantha* en respuesta a la aplicación de hongos micorrizógenos y bacterias diazotróficas. *Pastos y forrajes.* 36(2): 227-232.
- Lucy, M., Reed & Bernard, R. 2004. Applications of free-living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek.* 86(1): 1–25.
- Masias, C. S., Montenegro, M., Arregui, T., Pinto, M., Nazareno, M., & López, M. B. (2003). Caracterización de acelga fresca de Santiago del Estero (Argentina). Comparación del contenido de nutrientes en hoja y tallo. Evaluación de los carotenoides presentes. *Ciencia y Tecnología de Alimentos.* 23(1): 33-37.

- Morales, P.G., Pico, D.L. 2009. Microempresa para la producción de biofertilizantes a partir de residuos orgánicos. Tesis. Instituto Politécnico Nacional. <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/23647> .
- Nadeem, S. M, Ahmad M, Zahir, A. Z., Javaid A., Ashraf, M. 2013. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotech Adv.* 32(2):429-448
- Nedorost, L., & Pokluda, R. 2012. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on tomato yield and nutrient uptake under different fertilization levels. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis.* 60(1): 181-186.
- Nogales, A.M. 2006. Estudio de la interacción entre hongo formador de micorrizas arbusculares *Glomus intraradices Schenck y Smith* y el hongo patógeno *Armillaria mellea (Vahl: fr) P. Kuhn* en vid. Memoria doctoral. Universidad de Barcelona. Disponible en: https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/953/AMNG_TESIS.pdf?..
- Núñez, S.D.B., González, R.L., Álvarez, R.L., Bauza, Y.W., & Angulo, Y.C. 2013. Resultado de la aplicación de biofertilizantes a base de *Azospirillum* y micorrizas en asociaciones de cultivos hortícolas en condiciones de semiprotegido. *Centro Agrícola.* 40(1): 23-28.
- Orrico, G.D., Ullo, S.M., & Medina, M.E. 2013. Efecto de los hongos micorrizicos arbusculares y *Pseudomonas fluorescentes* en el control de *Meloidogyne* spp. en plantas de tomate de árbol (*Solanum betaceum*). *Revista Ciencia.* 15(1): 1-10.
- Pajarito-Ravelero, A., Ibarra-Flores, J.M. 2012. Uso de biofertilizantes en la producción de grano y forraje de maíz en Durango. Libro técnico Núm. 7. Campo Experimental Valle del Guadiana. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, INIFAP. México.
- Pérez-Moncada, U. A., Ramírez-Gómez, M. M., Zapata-Narváez, Y. A., Córdoba-Sánchez, J. M. 2015. Efecto de la inoculación simple y combinada con Hongos Formadores de Micorriza Arbuscular (HFMA) y Rizobacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (BPCV) en plántulas micropropagadas

de mora (*Rubus glaucus* L.). Corpoico de ciencia tecnológica agropecuaria. 16(1), 95-103.

- Pérez, P.V.J., & Sánchez, L.D.B. 2017. Caracterización y efecto de *Azotobacter*, *Azospirillum* y *Pseudomonas* asociadas a *Ipomoea Batatas* del Caribe Colombiano. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 19(2): 35-46.
- Ramírez, F. 2006. Seguridad alimentaria cultivando hortalizas. Colombia. Editor Grupo Latino Editores S.A.S. 480-494.
- Riera, M., & Medina, N. 2005. Influencia de las micorrizas sobre las poblaciones bacterianas y su efecto sobre los rendimientos en secuencias de cultivos. *Cultivos Tropicales*. 26(4): 21-27.
- Rodríguez-Chávez. 2008. Estudios de variabilidad para la instalación de una empresa productora de inoculantes bacterianos. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Pp. 5-8. Disponible en <http://www.ptolomeo.unam.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/132.248.52.100/2545/rodriguezchavez.pdf?sequence=1>.
- Salazar, S. M., Lovaisa, N. C., Guerrero-Molina, M. F., Ragout, A. L., Kirschbaum, D. S., Diaz Ricci, J.C., & Pedraza, R. O. 2012. Fruit yield of strawberry plants inoculated with *Azospirillum brasilense* RLC1 and REC3 under field conditions. *Revista Agronómica del Noroeste Argentino*. 32(1-2): 63-66.
- Salgado-Barreiro, C., Bravo-Patiño, A., Wang, E., & Cárdenas-Navarro, R. 2012. Efecto de la inoculación con *Glomus intraradices* y de la fertilización nitrogenada en el crecimiento de plantas de fresa. *Scientia Agropecuaria*. 3 (2):171-179.
- Salgado-Barreiro, C.S., Bravo-Patiño, A., & Cárdenas-Navarro, R. 2012. Efecto de la inoculación con *Glomus intraradices* y de la fertilización nitrogenada en el crecimiento de plantas de fresa. *Scientia Agropecuaria*. 2(1):171-179.
- Sanchez-Yañez, J., Barrientos-Rodríguez, M., Balderas-León, I., & Dasgupta-Schuber, N., & Márquez-Benavides, L. 2014. Respuesta de frijol al Endospor 33® a dosis 50% de fertilizante nitrogenado/fosfatado en agricultura protegida. *Scientia Agropecuaria*. 5 (2): 77-83.

- Sangoquiza, C.C.A., Yanez, G.C.F., & Borges, G.M. 2014. Respuesta de la absorción de nitrógeno y fósforo de una variedad de maíz al inocular *Azospirillum* sp. y *Pseudomonas fluorescens*. *Revista Científica Multidisciplinaria*. 11(1).
- Sarabia, O.M., Madrigal, P.R., Martínez, T.M., & Carreón, A.Y. 2010. Plantas, hongos micorrizicos y bacterias: su compleja red de interacciones. *Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias*. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 12(1): 65-71.
- Sotelo, L.I., Jiménez, J.A., Tarsicio, A., & Cueto, M.C. 2012. Efecto de inoculación de microorganismos en crecimiento de rábano. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*. 10(1). 21-31.
- Torriente, D. 2010. Aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de la caña de azúcar. Perspectivas de su uso en Cuba. *Cultivos Tropicales*. 31(1): 19-26.
- Velasco, V.J., Ferrera, C.R., & Almaraz, S.J.J. 2001. Vermicomposta, micorroza arbuscular y *Azospirillum brasilense* en tomate de cascara. *Terra*. 19(3):241-248.
- Veresoglou, S., & Menexes, G. 2010. Impact of inoculation with *Azospirillum* sp. on growth properties and seed yield of wheat: A meta-analysis of studies in the ISI Web of Science from 1981 to 2008. *Plant and Soil*. 337(1): 469-480.
- Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria. *Plant and soil*. 255(2): 571-586.
- Vital- López, L & Mendoza-Herrera, A. 2014. *Azospirillum*: habitante de las gramíneas. *Revista de divulgación científica y tecnológica de la universidad veracruzana*. 27(2).
- Zambrano, J.A., & Díaz, A.L. 2008. Efecto de la inoculación de *Azospirillum brasilense* y *Glomus* sp. En *Gmelina arborea* durante su germinación y manejo en vivero. *Universitas Scientiarum*.13(2):162-170.