

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Respuesta Fisiológica de la Semilla de Chile Habanero al Aplicar Biofertilizantes Comerciales

Por:

SERGIO IVÁN CHI CAN

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Marzo 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Respuesta Fisiológica de la Semilla de Chile Habanero al Aplicar Biofertilizantes Comerciales

Por:

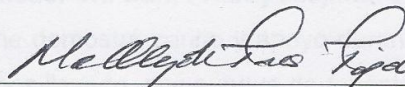
SERGIO IVÁN CHI CAN

TESIS

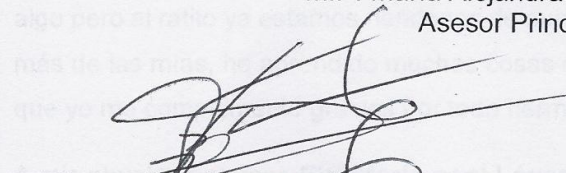
Presenta como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN


Aprobada por el Comité de Asesoría:



M.P. María Alejandra Torres Tapia
Asesor Principal



Dr. Víctor Manuel Zamora Villa
Coasesor



M.C. Leticia Escobedo Bocado
Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.
Marzo 2016

DEDICATORIAS

A mis padres **Eduardo Chi Pool y Marcelina Can Cohuo** que fueron mi sostén en todo este tiempo tanto económicamente como emocionalmente, esas personas tan maravillosas que pusieron todo a mi disposición para poder ser un profesionalista; a pesar de los errores que he cometido en el transcurso de mi vida, sin embargo nunca me dieron la espalda, siempre me alentaron a seguir adelante y a luchar con coraje por mis sueños, sin ellos nada de esto hubiera sido posible muchas gracias por todo; mama, papá los amo y quiero que sepan que son mis más grandes ídolos.

A mis hermanos **Wilson Misael Chi Can, Freddy Alejandro Chi Can, Julio Cesar Chi Can**; que cada uno me demostró cariño y apoyo durante toda mi vida, todos saben lo bien que nos hemos llevado, que aunque de repente nos disgustamos por algo pero al ratito ya estamos riéndonos de nuevo con nuestras ocurrencias, bueno más de las mías, he aprendido muchas cosas de cada uno de ustedes, que hacen que yo me complemente gracias por todo hermanos, los quiero mucho.

A mis abuelos paternos **Elsi María pool López y Donaciano Chi Chable** que son como mis segundos padres por estar siempre al pendiente de nosotros y por querernos tanto como yo a ellos, por las palabras de ánimo y por la atención que siempre se nos fue brindada, muchas gracias abuelitos los quiero mucho.

A mis tíos en especial a **Jorge Valdemar Chi Pool**, a **Isela Noemí Chi Pool**, y a **Miriam Guadalupe Chi Pool** por estar siempre apoyando y alentando a salir adelante, gracias por todo su cariño, los quiero mucho.

A mis amigos y compañeros que conocí durante mis estancia en la UAAAN, pero en especial a aquellos que me marcaron la vida que más que amigos son hermanos, a **Antonio** (el oso), a **Francisco** (La pera) a **Ronay** (Roy), a **Carlos** (Charls), **Humberto** (El primo), a **Neftalí** (Nef), **Iván** (Bonilla) a **Juan** (Texas) **Cristian** (Jasso), **Néstor** (Poni), **Jorge** (Dimas), **Alejandro y Antonio** (Los gemelos), **Eli** (joven), **Karen, Liz, Meli** y otros más, por tantas locuras que hicimos dentro y fuera de la escuela, que de seguro que hicimos historia, siempre los llevare en el corazón y sé que siempre podemos contar los unos con los otros, y algún día nos volveremos a ver, arrieros somos (ingenieros) y en el camino andamos.

A **Jessica Patricia Mex Tun**, Por hacer mis días mejores desde que la conocí y a pesar que físicamente nos encontramos lejos, siempre estamos pendientes uno del otro, por hacer que mi estancia en la universidad fuera menos pesada, por platicar de cualquier cosa, por cada locura, cada sonrisa; todos necesitamos a alguien en quien confiar completamente, a quien se le pueda contar todo y para mi tu eres esa persona, hiciste varios cambios en mí, que inconscientemente me fuiste inculcando. Fuiste una sorpresa grata al llegar a mi vida y doy gracias por ello, sabes que te quiero mucho corazón, más de lo que te imaginas, siempre eh deseado lo mejor para ti; no sé si el día de mañana aún estemos “juntos”, eso el tiempo lo dirá; pero pase lo que pase, sé que nunca voy a olvidarte y siempre serás mi chaparrita bonita, gracias por todo, te quiero mucho Jess.

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por haberme brindado la oportunidad de formarme para ser un profesionalista durante esta etapa de mi vida, al contribuir con las innumerables anécdotas vividas, así como la oportunidad de conocer amigos y profesores que me ayudaron al cumplimiento de esta meta.

A la **M. P. María Alejandra Torres Tapia** mis más sincero y profundo agradecimiento por todo el tiempo, apoyo, paciencia y sobre todo por compartir sus conocimientos y por supuesto al ayudar y contribuir a este trabajo de tesis, con todas las observaciones y correcciones que me hizo para que todo quedara listo, gracias Maestra.

Al **Dr. Víctor Manuel Zamora Villa**, por su valiosa colaboración en el análisis estadístico, al igual por todo el apoyo durante la elaboración y revisión del presente trabajo.

A la **M.C. Leticia Escobedo Bocado** por haber contribuido en la revisión y elaboración del presente trabajo.

A todos aquellos profesores que fueron pieza clave para mi formación profesional y quienes compartieron sus conocimientos conmigo durante toda la estancia en la universidad.

¡Mis más sinceros agradecimientos a todos ustedes!

**“No permitas que las mentes pequeñas te
convenzan que tus sueños son demasiados
grandes”**

David Gilmour

RESUMEN

A nivel mundial el chile habanero ha incrementado su importancia económica, esto se debe a la demanda de este producto en todas sus presentaciones (fresco, seco y procesado), al igual a la gran cantidad de capseisina que aporta, siendo muy atractivo para los consumidores, en las últimas décadas ha aumentado su producción debido al número de agricultores que se han dedicado al manejo de este cultivo, es por ello que se ha buscado un sistema sustentable, en donde se pueden reducir las aplicaciones de los fertilizantes, por tal motivo se planteó determinar la respuesta fisiológica de la semilla de chile habanero al aplicar biofertilizantes comerciales (Rhizofer, Micorrizafer, Serenade ASO), partiendo de semillas obtenidas de fruto de color rojo, aplicando 3 tratamientos (aplicando los productos comerciales con los ingredientes activos a base de *Bacillus subtilis*, tratamiento con *Micorrizas*, tratamiento con *Rhizobium*) y un testigo con agua, 3 dosis (alta, baja, recomendada) y 3 repeticiones, haciendo una combinación con AG a 500 ppm, se determinó la capacidad de germinación y vigor en ambas condiciones y el contenido de auxinas en la condición sobre papel, los datos resultantes se analizaron a través de un diseño completamente al azar con anidamiento de las dosis entre los tratamientos; no se encontraron diferencias en la respuesta fisiológica de semilla de chile habanero al aplicar diferentes dosis de biofertilizantes más ácido giberélico mediante pruebas de laboratorio en una condición de sustrato. En condiciones de papel se encontraron diferencias entre los tratamientos y dosis evaluadas, obteniendo mejores valores en la capacidad de germinación, ya que se obtuvieron diferencias significativas entre PN, el tratamiento que mostró mejores resultados fue el tratamiento con *Micorrizas*(3) con valores de 9.22 %; y para el vigor se obtuvieron diferencias altamente significativas entre los tratamientos para la variable LMH, teniendo como mejor valor al tratamiento con *Rhizobium* (4) con 7.44 cm; para la variable Aux se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos y diferencias significativas entre las dosis, siendo el mejor tratamiento con *Rhizobium*(4) con la dosis recomendada (2) 0.40 ppm, así mismo la aplicación de ácido giberélico a las semillas de chile habanero (*Capsicum chinense* L.) no mostro una disminución de latencia en ambas condiciones.

Palabras clave: *Capsicum chinense* L., *Rhizobium*, *Micorrizas*, *Bacillus subtilis*, ácido giberélico, germinación, vigor, semilla.

Correo electrónico; Sergio Ivan Chi Can, Sergio_chican@hotmail.com

INDICE DE CONTENIDO

	Página
RESUMEN.....	VI
INDICE DE CUADROS	X
INDICE DE FIGURAS	XII
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO GENERAL	3
<i>Objetivos específicos.....</i>	3
HIPÓTESIS	4
REVISIÓN DE LITERATURA	5
GENERALIDADES DEL CULTIVO	5
<i>Origen.....</i>	5
<i>Usos.....</i>	6
<i>Importancia económica.....</i>	7
<i>Producción a nivel mundial.....</i>	7
<i>Producción a nivel nacional.....</i>	9
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	11
CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS	11
<i>Semillas</i>	11
<i>Raíz</i>	12
<i>Tallo.....</i>	12
<i>Hojas.....</i>	12
<i>Frutos.....</i>	12
REQUERIMIENTOS PARA SU PRODUCCIÓN	13
<i>Clima.....</i>	13
<i>Edafológicos</i>	14
<i>Fertilización.....</i>	15
<i>Plagas y enfermedades</i>	15
<i>Cosecha.....</i>	17
MICROORGANISMOS BENÉFICOS EN EL SUELO	17
BIOFERTILIZANTES	19
<i>Micorrizas</i>	21
Factores influyentes en la micorrización.....	24
Fortalecimiento de la colonización.....	25
<i>Bacteria Bacillus subtilis</i>	26
Efectos antagonicos a otros patógenos.....	27

Promoción de crecimiento de plantas.....	28
<i>Rhizobium</i>	28
Fijación biológica de nitrógeno	30
GERMINACIÓN Y VIGOR DE SEMILLAS	32
<i>Germinación</i>	32
<i>Vigor</i>	34
BIORREGULADORES.....	34
<i>Reguladores de crecimiento en las semillas</i>	35
<i>Hormonas de crecimiento</i>	36
Auxinas.....	37
Giberelinas	38
Citoquininas.....	39
Ácido abscísico.....	40
<i>Aplicaciones de hormonas en la germinación de semillas</i>	40
MATERIALES Y METODOS.....	43
UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO	43
MATERIAL GENÉTICO.....	44
TRATAMIENTOS	44
METODOLOGÍA	45
VARIABLES EVALUADAS	49
DISEÑO EXPERIMENTAL	55
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
EXPERIMENTO 1: CONDICIÓN EN SUSTRATO.....	56
<i>Capacidad de germinación</i>	56
<i>Vigor</i>	57
EXPERIMENTO 2: CONDICIÓN EN PAPEL	62
<i>Capacidad de germinación</i>	62
<i>Vigor</i>	64
PESO FRESCO	65
<i>Discusión</i>	72
CONCLUSIONES	74
LITERATURA CITADA.....	75

INDICE DE CUADROS

No. De Cuadro		Página
2.1	CLASIFICACIÓN DE FRUTO DE CHILE HABANERO. SARH-INIA,1984.....	7
2.2	PRODUCCIÓN A NIVEL MUNDIAL DE CHILE FRESCO (FUENTE: FAOSTAT 2013)	8
2.3	EXPORTACIÓN DE CHILE FRESCO A NIVEL MUNDIAL (FUENTE: FAOSTAT 2013)	8
2.4	IMPORTACIÓN DE CHILE FRESCO ANIVEL MUNDIAL (FUENTE. FAOSTAT 2013).....	9
2.5	PRODUCCIÓN A NIVEL NACIONAL DEL CULTIVO EN CONDICIONES DE RIEGO (FUENTE SIAP 2014).....	10
2.6	PRODUCCIÓN A NIVEL NACIONAL DEL CULTIVO EN CONDICIONES DE TEMPORAL (FUENTE SIAP 2014).....	10
2.7	DIFERENCIAS ENTRE UN FERTILIZANTE QUIMICO Y UN BIOFERTILIZANTE	20
3.1	IDENTIFICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS APLICANDO BACILLUS SUBTILLUS, MICORRIZA, RHIZOBIUM Y AG3 EN DOS CONDICIONES (SUSTRATO Y PAPEL).....	45
4.1	CUADRADOS MEDIOS Y NIVEL DE SIGNIFICANCIA EN LA PRUEBA DE CAPACIDAD DE GERMINACIÓN EN SEMILLAS DE CHILE HABANERO APLICANDO DIFERENTES TIPOS DE PRODUCTOS COMERCIALES EN CONDICIÓN SUSTRATO (EXPERIMENTO 1).....	57
4.2	CUADRADOS MEDIOS Y NIVEL DE SIGNIFICANCIA EN LA PRUEBA DE VIGOR EN SEMILLAS DE CHILE HABANERO APLICANDO DIFERENTES TIPOS DE PRODUCTOS COMERCIALES EN CONDICIÓN SUSTRATO (EXPERIMENTO 1).....	58
4.3	CUADRADOS MEDIOS Y NIVEL DE SIGNIFICANCIA PARA PESO SECO Y PESO FRESCO EN SEMILLAS DE CHILE HABANERO APLICANDO DIFERENTES TIPOS DE	

	PRODUCTOS COMERCIALES EN CONDICIÓN SUSTRATO (EXPERIMENTO 1).....	58
4.4	CUADRADOS MEDIOS, NIVEL DE SIGNIFICANCIA Y PRUEBA DE COMPARACIÓN DE MEDIAS EN LA PRUEBA DE CAPACIDAD DE GERMINACIÓN EN SEMILLAS DE CHILE HABANERO APLICANDO DIFERENTES TIPOS DE PRODUCTOS COMERCIALES EN CONDICIÓN SOBRE PAPEL (EXPERIMENTO 2).....	63
4.5	CUADRADOS MEDIOS Y NIVEL DE SIGNIFICANCIA EN LA PRUEBA DE VIGOR EN SEMILLAS DE CHILE HABANERO APLICANDO DIFERENTES TIPOS DE PRODUCTOS COMERCIALES EN CONDICIÓN SOBRE PAPEL (EXPERIMENTO 2).....	64
4.6	CUADRADOS MEDIOS Y NIVEL DE SIGNIFICANCIA PARA PESO FRESCO Y AUXINAS EN SEMILLAS DE CHILE HABANERO APLICANDO DIFERENTES TIPOS DE PRODUCTOS COMERCIALES EN CONDICIÓN SOBRE PAPEL (EXPERIMENTO 2).....	65

INDICE DE FIGURAS

No. De Figuras		Página
2.1	REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA QUE ILUSTR A LA SECUENCIA DE EVENTOS QUE CONDUCEN A LA FORMACIÓN DE MICORRIZAS ARBUSCULARES (MA).....	23
3.1	EXTRACCIÓN DE LAS SEMILLAS DE CHILE HABANERO (<i>CAPSICUM CHÍNSENSE</i>)	46
3.2	ACONDICIONAMIENTO DE LA SEMILLA POR SEPARACIÓN POR PESO MEDIANTE UN SOPLADOR “SOUTH DAKOTA”	47
3.3	OSMOACONDICIONAMIENTO APLICANDO ÁCIDO GIBERÉLICO A 500 PPM DURANTE 24 HORAS	47
3.4	SIEMBRA DE SEMILLAS DE CHILE HABANERO EN SUSTRATO PEAT MOSS CON TRES TRATAMIENTOS (PRODUCTOS COMERCIALES) Y UN TESTIGO (EXPERIMENTO 1).....	48
3.5	SIEMBRA DE SEMILLAS DE CHILE HABANERO SOBRE PAPEL FILTRO WHATMAN NO. 1 CON TRES TRATAMIENTOS (PRODUCTOS COMERCIALES) Y UN TESTIGO (EXPERIMENTO 2)	49
3.6	CLASIFICACIÓN DE PLÁNTULAS NORMALES, ANORMALES Y SEMILLAS SIN GERMINAR EN EL EXPERIMENTO 1 Y EXPERIMENTO 2.....	51
3.7	EVALUACIÓN DE VIGOR MEDIANTE LONGITUD MEDIA DE HIPOCOTILO Y RADÍCULA EN EXPERIMENTO 1 Y 2, CONDICIONES DE LABORATORIO.	52
3.8	DETERMINACIÓN DEL PESO FRESCO DE LA PLÁNTULA (VIGOR DE SEMILLA) EN EXPERIMENTO 1 Y 2 MEDIANTE UNA BALANZA ANALÍTICA EN CONDICIONES DE LABORATORIO.....	53

3.9	DETERMINACIÓN DEL PESO SECO DE LA PLÁNTULA (TASA DE CRECIMIENTO DE PLÁNTULA, VIGOR DE SEMILLA) EN EXPERIMENTO 1 Y 2 MEDIANTE UNA BALANZA ANALÍTICA EN CONDICIONES DE LABORATORIO.....	54
3.10	CUANTIFICACIÓN DE AUXINAS DE LA PLÁNTULAS NORMALES DE CHILE HABANERO, A) UNA REPETICIÓN, TRATAMIENTO POR TUBO Y B) LECTURA EN EL ESPECTOFOTOMETRO SERIE BIOMATE 3.....	55
4.1	RESPUESTA EN LA INTERACCIÓN TRATAMIENTOS Y DOSIS EN LA PRUEBA DE CAPACIDAD DE GERMINACIÓN EN SEMILLAS DE CHILE HABANERO APLICANDO DIFERENTES TIPOS DE PRODUCTOS COMERCIALES EN CONDICIÓN SUSTRATO (EXPERIMENTO 1).....	60
4.2	RESPUESTA EN LA INTERACCIÓN TRATAMIENTOS Y DOSIS EN LA PRUEBA DE ÍNDICE DE VELOCIDAD DE EMERGENCIA EN SEMILLAS DE CHILE HABANERO APLICANDO DIFERENTES TIPOS DE PRODUCTOS COMERCIALES EN CONDICIÓN SUSTRATO (EXPERIMENTO 1).....	60
4.3	RESPUESTA EN LA INTERACCIÓN TRATAMIENTOS Y DOSIS EN LA LONGITUD MEDIAS DE RADÍCULA Y LONGITUD MEDIA DE HIPOCOTILO EN SEMILLAS DE CHILE HABANERO APLICANDO DIFERENTES TIPOS DE PRODUCTOS COMERCIALES EN CONDICIÓN SUSTRATO (EXPERIMENTO 1).....	61
4.4	RESPUESTA EN LA INTERACCIÓN TRATAMIENTOS Y DOSIS EN EL PESO SECO Y PESO FRESCO DE HIPOCOTILO EN SEMILLAS DE CHILE HABANERO APLICANDO DIFERENTES TIPOS DE PRODUCTOS COMERCIALES EN CONDICIÓN SUSTRATO (EXPERIMENTO 1).....	62
4.5	RESPUESTA EN LA INTERACCIÓN TRATAMIENTOS Y DOSIS EN LA PRUEBA DE CAPACIDAD DE GERMINACIÓN EN SEMILLAS DE CHILE HABANERO APLICANDO DIFERENTES TIPOS DE PRODUCTOS COMERCIALES EN CONDICIÓN SOBRE PAPEL (EXPERIMENTO 2).....	67

4.6	RESPUESTA EN LA INTERACCIÓN TRATAMIENTOS Y DOSIS EN LA PRUEBA DE ÍNDICE DE VELOCIDAD DE EMERGENCIA EN SEMILLAS DE CHILE HABANERO APLICANDO DIFERENTES TIPOS DE PRODUCTOS COMERCIALES EN CONDICIÓN SOBRE PAPEL (EXPERIMENTO 2).....	68
4.7	RESPUESTA EN LA INTERACCIÓN TRATAMIENTOS Y DOSIS EN LA LONGITUD MEDIA DE RADÍCULA Y LONGITUD MEDIA DE HIPOCOTILO EN SEMILLAS DE CHILE HABANERO APLICANDO DIFERENTES TIPOS DE PRODUCTOS COMERCIALES EN CONDICIÓN SOBRE PAPEL (EXPERIMENTO 2).....	69
4.8	RESPUESTA EN LA INTERACCIÓN TRATAMIENTOS Y DOSIS EN EL PESO FRESCO EN SEMILLAS DE CHILE HABANERO APLICANDO DIFERENTES TIPOS DE PRODUCTOS COMERCIALES EN CONDICIÓN SOBRE PAPEL (EXPERIMENTO 2).....	70
4.9	RESPUESTA EN LA INTERACCIÓN TRATAMIENTOS Y LA CONCENTRACIÓN DE AUXINAS EN SEMILLAS DE CHILE HABANERO APLICANDO DIFERENTES TIPOS DE PRODUCTOS COMERCIALES EN CONDICIÓN SOBRE PAPEL (EXPERIMENTO 2).....	71

INTRODUCCIÓN

La producción mundial de chiles ha tomado mucho auge en las últimas décadas, esto se debe principalmente a la demanda de este producto en todas sus presentaciones (fresco, seco y procesado), al igual a la gran cantidad de capsicina que aporta, siendo muy atractivo para los consumidores (FAOSTAT, 2007; Ramírez,2007).

En México, la producción de chile ocupa el segundo lugar a nivel mundial, siendo China el mayor productor seguido por Turquía, Indonesia, España, E.U.A, Egipto, Nigeria, entre otros; en las exportaciones de chile México ocupa el tercer de lugar a nivel mundial (FAO, 2013). Teniendo una gran diversificación de tipos de chile destacando entre ellos el chile jalapeño, poblano, habanero, morrón y el chile serrano en los estados de Aguascalientes, Baja California Sur, Campeche y Chiapas de la Republica Mexicana, con mayores rendimientos principalmente debido al uso de alta tecnología de producción como avanzados sistemas de riego y producción en invernaderos, así como el uso de cultivares mejorados e híbridos (SIAP 2013).

Las especies que se producen en mayor cantidad son: *Capsicum annuum* L. (jalapeño, serrano, pasilla, guajillo, anchos, mulatos, pimientos, morrones y chile bell), *Capsicum frutescens* L. (chile manzano) y *Capsicum chinense* (chile habanero); donde esta última especie a generado un gran auge como producto de exportación, debido a que es considerado uno de los de mayor pungencia en el mercado, además de tener otras formas de emplearlo fuera del ámbito gastronomico (Dewitt, 2000).

En el país, son varios los estados productores que actualmente producen chile habanero Yucatán, Campeche, Quintana Roo, donde se produce el 90% de la superficie de este cultivo es en la Península de Yucatán siembran entre las 750 y

las 900 hectáreas (Trujillo y Pérez, 2004), además de Tabasco, Jalisco, Veracruz, Baja California Sur, San Luis Potosí, Chiapas, Sonora, Michoacán, Nayarit, Sinaloa, Chihuahua y Colima. Sin embargo Yucatán ocupa el primer lugar como productor nacional de chile habanero, con más del 50 % de la producción destinada a los mercados nacional e internacional (Macías *et al* 2013., Carballo-Bautista *et al*; 2010. Trujillo y Pérez, 2004. Piña 1982, CONAPROCH 2010).

Los principales factores que limitan la producción, desarrollo y rendimiento del cultivo de chile habanero, son la precipitación, la temperatura y el suelo, siendo la primera la más determinante, pero esto es fácil de resolver con la aplicación de riego; sin embargo, en la Península de Yucatán los suelos son pocos profundos e infértiles causando baja producción en una producción de temporal.

Además, el uso indiscriminado de los agroquímicos en la agricultura, como son los insecticidas, herbicidas y fertilizantes trae consecuencias sobre el terreno, en el aire y con mayor perjuicio se instalan en el agua, contaminando las aguas subterráneas, ríos, lagos, provocando la disminución de la biodiversidad, además de la contaminación del agua, suelo y aire, convirtiéndose así en agentes causantes del desequilibrio en el ecosistema provocando la destrucción de plantas alimenticias y silvestres, muerte de animales y graves problemas de salud en seres humanos (Avalos, C. 2009).

Una alternativa emergente es la agricultura biológica, también llamada ecológica u orgánica, es una técnica de explotación agrícola que procura producir alimentos utilizando los medios menos dañinos para el medio, no se emplean productos para abonar, ni para eliminar las plagas, ni químicos y sintéticos, ni organismos genéticamente modificados (OGMS), buscando siempre el equilibrio entre sostenibilidad y producción.

Una de las propuestas de solución al problema del uso excesivo de agroquímicos, es la utilización de microorganismos en la agricultura, tal es el caso de aquellas que actúan como biofertilizantes que son insumos formulados con uno o varios microorganismos, los cuales, de una forma u otra, proveen o mejoran la disponibilidad de nutrientes cuando se aplican a los cultivos. y biopesticidas, que son utilizados en el control de plagas principalmente de la agricultura cuyo origen es procedente de algún organismo vivo.

Es por ello que el presente trabajo consistió en obtener información acerca de la respuesta fisiológica en la generación de plantulas de chile habanero a partir de semilla utilizando biofertilizantes como *Micorrizas*, *Bacillus subtilis*, *Rhizobium* en diferentes condiciones adicionando además un compuesto considerado promotor de germinación como es el ácido giberélico, planteando los objetivos general y específicos así como el planteamiento de la siguiente hipótesis:

Objetivo general

- Evaluar la respuesta fisiológica y bioquímica en el desarrollo de plántula de chile habanero a partir de semilla aplicando biofertilizantes más ácido giberélico en diferentes condiciones.

Objetivos específicos

- Evaluar la respuesta fisiológica de semilla de chile habanero al aplicar diferentes dosis de biofertilizantes (*Bacillus subtilis*, *Rizhobium*, y *Micorrizas*) más ácido giberélico mediante pruebas de laboratorio en una condición de sustrato.
- Evaluar la respuesta fisiológica y bioquímica de plántulas de chile habanero a partir de semilla aplicando diferentes dosis de biofertilizantes (*Bacillus subtilis*, *Rizhobium*, y *Micorrizas*) más ácido giberelico mediante pruebas de laboratorio en una condición sobre papel.

Hipótesis

- La aplicación de biofertilizantes más ácido giberélico tiene efectos positivos en la respuesta fisiológica y bioquímica de las plántulas de chile habanero a partir de semilla.
- Al menos alguno de los biofertilizantes y una dosis aplicada mostrará mayor efecto en la germinación y vigor de la semilla de chile habanero en una condición de sustrato.
- Al menos alguno de los biofertilizantes y una dosis aplicada mostrará mayor efecto en la fisiología y bioquímica de la plántula de la semilla de chile habanero en una condición sobre papel.

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades del cultivo

El chile se distingue por ser picante al paladar, debido a que contiene un grupo de compuestos químicos denominados capsaicinoides, tiene mucha vitamina c, que es preventiva de enfermedades respiratorias y cuya ausencia provoca escorbuto, también es rico en vitamina A, con efectos benéficos para la piel y los ojos. Presenta diversidad de formas, tamaños, colores y niveles de picor. Las principales características de calidad del chile habanero son el picor, color, la firmeza, el aroma característico y su contenido de vitamina C. Para su consumo en fresco se utilizan frutos de color verde o anaranjado, según las características propias de los mercados Debido a su importancia, se realizan investigaciones en diversos aspectos del cultivo para incrementar los rendimiento y calidad de la cosecha.

Origen

El centro de origen y/o domesticación de chile (*Capsicum* spp.) se encuentra en las regiones tropicales y subtropicales de América, tiene una gran variabilidad genética aun no explorada, el genero capsicum es de la familia de la solanaceae, incluye en promedio 25 especies, de ellas *C. annum* es la especie de mayor importancia en México y en el mundo (Ibar y Jusacafresa, 1997; Long, 1986; Pickersgill, 1971). Siendo uno de los primero cultivos domesticados en mesoamérica es por ello que ahora se ha convertido en un ingrediente básico en la comida mexicana (Barreiro, 1998; Maroto, 1986).

En México se cultivan cuatro de las cinco especies domesticadas de *Capsicum* (*C. annum*, *C. frutescens*, *C. chinense* y *C. pubescens*) dos de ellas (*C. annum* y *C. frutescens*) también crecen de manera silvestre en nuestro país, al igual que

dos de las 25 especies no domesticadas (*C. ciliatum* y *C. lanceolatum*). Entre la gran diversidad del género *Capsicum*, el chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) se ha convertido en un símbolo y ejemplo en pungencia, debido a su más alto contenido de capsaicina encontrado en el fruto (Laborde y Pozo, 1984 Muñoz y Pinto, 1966, CONAPROCH2014).

El chile habanero (*Capsicum chinense*) es del género *Capsicum* de la familia Solanaceae, incluye en promedio 25 especies, es originario de América Central y sur de Guatemala (Long, 1986; Laborde, 1982; Escobar, 1994; Smith y Heiser, 1957).

Laborde en el 1982, indica que es probable que sea originario del sur, de donde fue introducido a Cuba, aunque en la isla no se siembra ni se consume, se cree que de ahí fue introducido a la península de Yucatán, puesto que es el único chile que no tiene nombre maya (Pozo, 1984). Sin embargo; El Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI) el 4 de junio de 2010 publicó en el Diario Oficial de la Federación la Declaratoria correspondiente con el señalamiento de la denominación de origen: "Chile habanero de la península de Yucatán".

Usos

La utilización del chile habanero hasta ahora ha sido muy amplia ya que se puede consumir en fresco en forma directa, otro de los usos es la elaboración de salsas y guisos tradicionales en la comida mexicana. Además de extraer pigmentos que se utilizan para dar color a salsas, aderezos, quesos, gelatinas entre otros alimentos procesados; para la industria farmacéutica se utiliza en la elaboración de shampoos, pastas dentales, cremas y productos a base de extractos para el alivio de dolores musculares, hasta la extracción de compuestos secundarios para generar productos de auto defensa (Torres *et al.*, 2005).

El sabor picante o pungente que el chile se ha usado como esencia. El sabor picante se debe a la presencia en los frutos de una serie de compuestos

alcaloides conocidos como capsaicinoides de los cuales la capsaicina es el más abundante (Ochoa y Gómez,1993).

Importancia económica

El chile habanero tiene un ciclo de 170 días aproximadamente después del trasplante, la primera cosecha se realiza cuando los frutos presentan color verde brillante y sean duros al tacto, el primer corte se debe realizar a los primeros 90 días aproximadamente, posteriormente los cortes se realizan semanalmente, si este tiempo se pasa, el fruto se colorea y pierde su valor comercial, las cosechas se hacen manualmente cortando los frutos con todo y pedúnculo, el número de cortes varía ya que el habanero es una planta semiperenne, por lo tanto si su sistema radicular está sano, pueden podarse las ramas viejas para promover brotes nuevos, generalmente se realizan 12 cortes en promedio (Medina, 1984; Valadez, 1998; Soria, 1993; SARH-INIA, 1984), en el Cuadro 2.1 se menciona la clasificación de los frutos según SARH-INIA.

Cuadro 2.1 Clasificación de fruto de chile habanero. SARH-INIA, 1984.

Categoría y tamaño de los frutos	Largo (cm)	Ancho (cm)	Peso unitario (gr)
Primeras (grandes)	5.5	3.5	Mayor de 10
Segunda (medianos)	4.5	3.0	7.5 - 10
Tercera (chicos)	4.0	2.0	5.0 – 7.5
Rezaga	Menor de 4.0	Menor de 2.0	Menor de 5.0

Producción a nivel mundial

México ocupó el lugar numero dos en la producción de chiles frescos a nivel mundial en el año 2013 despues de china que ocupa el lugar numero uno (Cuadro 2.2) en la exportación de chiles frescos México ocupa la posición numero uno por las toneladas exportadas (Cuadro 2.3)

Cuadro2.2 Producción a nivel mundial de chile fresco (fuente: FAOSTAT 2013)

Posición	País	Toneladas
1	China, Continental	15800000
2	México	2294400
3	Turquía	2159348
4	Indonesia	1726382
5	España	999600
6	Estados Unidos de América	889269
7	Egipto	655442

Cuadro2.3 Exportación de chile fresco a nivel mundial (Fuente: FAOSTAT 2013)

Posición	País	Toneladas
1º	México	767860
2º	España	531448
3º	Países Bajos	462554
4º	Israel	115169
5º	Estados Unidos de América	109373
6º	Canadá	107518

En la importación de chiles frescos Estados Unidos de América ocupa el primer lugar a nivel mundial (Cuadro 2.4) México no ocupa ninguno de los primeros lugares, esto se debe a que no tiene neccsidad de importar chiles por ser uno de los mayores productores a nivel mundial, y con su producción le alcanza para ser autosuficiente y para poder exportar a otros países.

Cuadro 2.4 Importación de chile fresco a nivel mundial (Fuente. FAOSTAT 2013)

Posición	País	Toneladas
1	Estados Unidos de América	896146
2	Alemania	362288
3	Reino Unido	169620
4	Francia	147887
5	Federación de Rusia	142757
6	Países Bajos	135391

Producción a nivel nacional

México cuenta con una amplia variedad de chiles, siendo el chile habanero uno de ellos, este es uno de los chiles más picante del mundo con una pungencia de 150 mil unidades Scoville (SHU), alcanzando niveles de hasta 350 mil SHU, característica generada tanto por factores genéticos como por el ambiente (INIFAP, 2012)

La producción de chile en México se lleva a cabo bajo dos sistemas de producción: El sistema de producción de riego por goteo y el sistema de producción de temporal; el primero es el más utilizado ya que se puede producir todo el año.

Las plantaciones en condiciones de temporal en el país generalmente reportan bajos rendimientos debido a que la lluvia no se distribuye de acuerdo a las necesidades del cultivo.

Entre las entidades reportadas como productoras de chile habanero se encuentran Baja California Sur, San Luis Potosí, Chiapas, Sonora y Veracruz, pero más del 50% que abastece los mercados nacional e internacional lo cubren Yucatán, Campeche y Quintana Roo (Muñoz, 2005 y Ramírez *et al.*, 2006)

Para el año 2014, se observo una mayor producción por el estado de yucatan en condiciones de riego (Cuadro 2.5); sin embargo el estado que tuvo un mayor rendimiento fue Nuevo León.

En el Cuadro 2.6 se observa la producción de chile habanero en 2014 en condiciones de temporal, siendo Tabasco el estado que más produjo, sin embargo el estado que tuvo un mayor rendimiento fue Campeche.

Cuadro 2.5 Producción a nivel nacional del cultivo en condiciones de riego (fuente SIAP 2014)

Ubicación	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	PMR (\$/Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
Yucatán	167.22	165.72	1,786.56	10.78	15,027.17	26,846.94
Tamaulipas	52	52	1,099.25	21.14	21,467.43	23,598.07
Nuevo León	37	37	876	23.68	20,071.92	17,583.00
Campeche	58	57	556.95	9.77	24,544.03	13,669.80
Quintana Roo	49.92	48.92	520.2	10.63	16,351.02	8,505.80

Cuadro 2.6 Producción a nivel nacional del cultivo en condiciones de temporal (fuente SIAP 2014)

Ubicación	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	PMR (\$/Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
Tabasco	288	276	2,006.80	7.27	14,185.84	28,468.15
Campeche	7	5	152	30.4	20,250.00	3,078.00
Yucatán	14.2	14.2	92.95	6.55	10,852.07	1,008.70
Quintana Roo	3.25	3.25	29.25	9	20,000.00	585
Chiapas	2.5	2.5	28	11.2	9,985.71	279.6
Michoacán	3	3	19.5	6.5	13,923.08	271.5

Clasificación taxonómica

La clasificación del chile habanero es como se presenta a continuación (Tun 2001; Ramírez ,1989; Izco, 2004):

Reino	Vegetal
Subreino	Embriophyta
División	Angiospermae
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Ranunculidae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	Capsicum
Especie	chinense
Nombre común	Chile habanero

Características botánicas

Semillas

Las semillas del chile habanero son de color amarillo paja, estas son lisas, ovaladas y pequeñas (3.5 a 4 mm) tienen testa de color café claro a café oscuro; mil semillas pesan de 6 a 8 g aproximadamente, el número de semillas por fruto varía entre 20 y 50, este factor está relacionado directamente con las condiciones ambientales en que se desarrolla el cultivo, su período de germinación varía entre 8 y 15 días; el sabor picante de este chile se debe a la presencia de Capsicina, sustancia muy irritante en estado puro y cuya mayor concentración se encuentra en la placenta de las semillas (Ramírez, 1989; Trujillo, 2005; Tun 2001).

Raíz

La raíz es pivotante y tiene un sistema radicular bien desarrollado con ramificaciones secundarias, cuyo tamaño depende de la planta, de las características del suelo, las prácticas de manejo que se le proporcionen, puede alcanzar longitudes mayores a los 2 m (Tun, 2001).

Tallo

El tallo principal esta bien diferenciado, es erecto, grueso, glabro, robusto, ramificado, subleñoso y cilíndrico, tiene un hábito de crecimiento indeterminado, se comporta como planta perenne, con variación al tipo de ramificación la cual generalmente es erecta y produce de 3 a 5 ramas y de 9 a 13 ramas secundarias, la planta presenta un altura de 1.30 m, su diámetro oscila entre 0.9 y 3.1 cm, los tallos y las hojas carecen de pubescencia, aunque ocasionalmente se observan plantas con pelos cortos (Ramírez, 1975; Laborde, 1984; Tun 2001; Trujillo 2001).

Hojas

Las hojas de este cultivo son simples, lisas, alternas elípticas y de forma lanceolada, de tamaño variables lo mismo que su color, el cual presente diferentes tonalidades de verde dependiendo de la variedad, pueden ser glabras o pubescente; el grado de pubescencia igual depende de la variedad, tienen un peciolo largo pubescente peninervadas. Con una nutrición adecuada se pueden alcanzar hojas con un tamaño superior a los 15 cm de longitud y 4.8 cm de ancho (Tun 2001; Trujillo, 2001; Ramírez, 1981; Laborde y Pozo, 1984; De la cruz 2009)

Frutos

Los frutos son bayas poco carnosas huecas con tres o cuatro lóculos, generalmente no se prolongan hasta el centro. Los frutos de la planta de habanero presenta en promedio seis frutos por axila, la forma de estos varia de redonda a

oblonga , éstos son de un tamaño entre 2 y 6 cm de largo por 2 y 4 cm de ancho, su forma varía de esférica a oblonga, son de color verde cuando son tiernos y anaranjados, amarillos, cafés o rojos cuando maduros, además son muy pungentes y aromáticos; su ciclo vegetativo es de 120 a 150 días y su forma de reproducción es sexual (por semillas) (Laborde y Pozo, 1984; SARH, 1982; Trujillo, 200; López *et al.*,2009; Ochoa 2001).

El color que presenta el chile habanero cuando esta maduro esta determinado principalmente por la presencia de dos tipos de pigmentos: los carotenoides y las antocianinas. La combinación en diferentes proporciones de estos dos pigmentos es lo que da origen a los distintos olores de las variedades cultivadas de chile habanero. Todos los frutos de *C. chinense* tienen el mismo color característico independientemente de la variedad o color que presenta en la maduración (López, 2010; Ochoa 2001)

La pungencia de los frutos de habanero esta determinado por el contenido de Capsicina ($C_{18}H_{27}NO_3$) esta se encuentra principalmente en la placenta del chile, el grado de picor o pungencia varian de 350 a 500 grados Scoville. La calidad del fruto esta determinada por la apariencia, el tamaño, y el peso, al igual son importantes la firmeza y el color (Long,1986).

Requerimientos para su producción

Clima

Los factores climáticos que limitan la adaptación, desarrollo y producción del chile habanero en la Península de Yucatan, son la precipitación y la temperatura, siendo la primera la más determinante, pero a la vez la más fácil de resolver con la aplicación de riego, ya que en esta zona se cuenta con un manto freático a poca profundidad.

El cultivo de chile habanero demanda de 550 a 700 mm de agua por ciclo, la mayor demanda se presenta en la floración, fructificación y llenado de fruto.

La temperatura optima requerida para el desarrollo del chile habanero es de 25 °C, no tolera temperaturas menores a 15° C y la máxima es de 32°C, las temperaturas menores a la temperatura minima detienen el crecimiento de la planta y causa malformaciones de frutos y caídas de flores, las temperaturas que rebasan la máxima provoca caída de las flores por aborto y por quemadura (Tun 2001; Davis, 1978; Valadez, 1998; Mojarro, 1996; Smith *et al.*, 1998)

La temperatura óptima para la geminación es de 30 °C aunque varia entre 18 y 35 °C, con esta temperatura tarda en germinar aproximadamente en 8 días, el tiempo para el el trasplante va de 6 a 8 semanas con temperaturas de 18-24 °C(castellanos y muñoz 2003)

Edafológicos

Este especie se cultiva en altitudes de 1000 msnm, aunque se tienen reportes que se adapta a lugares con mayor altitud. El chile habanero se produce mejor en suelos con buen drenaje y adecuada fertilidad, Requiere suelos de textura media a fina entre franco limoso y franco arcilloso, con un pH de 6.0 a 6.5 y una profundidad de 40-50 cm, y con una leve pendiente no mayor al 8 % para evitar áreas inundadas depues de una fuerte lluvia.

El cultivo tiene un elevado requerimiento de humedad del suelo, la cual debe estar alrededor del 80% de la capacidad de campo (Tun, 2001; Ramírez, 1989)

Hay que evitar la plantación de chile habanero en los suelos recién cultivados con tomate o papa, sobre todo si fueron fuertemente atacados por enfermedades fungosas como: phytophthora y fusarium.

(Mojarro, 1996)

Fertilización

La cantidad de fertilizante que se tiene que incorporar al cultivo depende mucho de la disponibilidad de nutrientes que se encuentran en el suelo y de acuerdo a los requerimientos de la planta, recomendar una dosis de fertilización sin conocer las condiciones nutritivas en las que se encuentra el suelo es irresponsable.

El requerimiento nutritivo para chile habanero, el requerimiento nutritivo es de 250 kg de N, 100 kg de P, 300 kg de K, 200 kg de Ca, y 100 kg de Mg, en todo su ciclo de producción (Prado, 2006).

Plagas y enfermedades

Las principales plagas que atacan este cultivo son los chupadores, barrenadores y masticadores, los trozadores cortan el tallo de las plantas recién plantadas, el daño producido puede afectar hasta el 30% del cultivo. El pulgón es la plaga más importante de los chupadores, este insecto ocasiona raquitismo en la planta y transmite enfermedades virales, por lo que es importante detectar su presencia y su control.

Otra de las plagas importantes que atacan el habanero es la mosquita blanca (*Bemisia tabaci*), nematodo agallador, en especial meloidoginíe, Barrenillo del fruto (*Anthonomus Eugeni Cano*), el pulgón verde (*Mizus persicae*), el minador de la hoja (*Liriomyza sp.*), en etapa de plántula la bobosa o caracol (*Agriolimax sp*) y en ocasiones la araña roja (*Tetranychus sp.*) (Medina *et al.*, 1984)

Las enfermedades virales son el principal problema en la región por las pérdidas económicas que causan en el cultivo, los síntomas de enfermedades virales son el enchinamiento, mosaicos en el follaje, al no existir algún producto para su control se recomienda el control de insectos que son los agentes transmisores (SAHR-INIA, 1984)

Virosis. Los síntomas que se presenta la planta es que cambian su color verde oscuro a color claro, tienen poco desarrollo y se arrugan (enchinan), si la enfermedad se presenta antes de de la fructificación la planta no crece y produce poco fruto.

Una vez que los síntomas se presenten ya no se puede controlar, por lo que se recomienda que la planta se arranque completamente para evitar que esta se propague e infecte a todo el cultivo.

Manchas de las hojas y tallo. Esta enfermedad presenta síntomas en hojas y tallo, como amarillamiento y manchas oscuras con centro gris, ligeramente ovaladas. Si el ataque es severo las hojas caerán totalmente.

Las manchas foliares son ocasionadas por el hongo *Cercospora*, provoca caída de las hojas y pudrición de ramas tiernas en fases severas, el hongo sobrevive de una temporada a otra, las esporas son diseminadaspor el aire, el agua, herramientas de trabajo y por el hombre.

Phytophthora. *Phytophthora capsisci* es el hongo causante de esta enfermedad, desarrollándose en todas las partes de la planta,principalmente en los viveros como damping off.

Antracnosis. Es causada por *Colletotrichum piperatum* y *C. capsici*, se caracteriza por presentar manchas circulares hundidas en frutos verdes y maduros.

Alternaria. Es causada por hongo *Alternaría solani* y *A. tenuis*, las condiciones con alta humedad favorece su crecimiento y desarrollo

Pudrición blanca bacterial. Esta enfermedad es provocada por *Erwinia carotovora*, la planta se torna suave ya que los tejidos internos se van depreciando rápidamente.

Pudrición terminal. Es causada por la insuficiencia de calcio cuando los frutos se están formando

Nódulos en la raíz. Este daños es causado por el nematodo *Meloidogyne sp.* Los síntomas que presenta son: desarrollo raquítico, marchitez en las hojas, poca fructificación y nódulos en la raíz.

Cosecha

La primera cosecha se realiza cuando los frutos presenten un color brillante y sean duros al tacto, esto ocurre aproximadamente a los 90 días después del trasplante; las cosechas siguientes se realizan de una a dos semanas, no se debe dejar que el fruto se madure fisiológicamente en la planta ya que esto hace que la planta se debilite y acorta su ciclo productivo (Medina, 1984; Valadez, 1998).

La cosecha se realiza manualmente cortando aquellos frutos con todo y pedúnculo que presenten las características físicas para su cosecha, el número de cortes que se le da a una planta en promedio son 12 aunque varía de acuerdo al manejo que se de al cultivo, ya que es una planta semiperenne se puede podar y promover el brote de ramas nuevas (SARH-INIA, 1984)

Microorganismos benéficos en el suelo

El suelo es un hábitat complejo donde un gran número de poblaciones microbianas interactúan entre sí y con los distintos tipos de sustratos, muchas de estas poblaciones se encuentran asociadas con las raíces de las plantas (Reyes *et al.*, 2008)

La rizosfera es la zona del suelo que rodea las raíces de las plantas y las pone en contacto con los diversos microorganismos que se encuentran en el suelo, en esa zona se lleva a cabo un flujo de compuestos orgánicos que le sirven a los microorganismos como fuente de carbono (Balandreau y Knowless, 1978; Bowen y Rovira, 1999)

En la rizosfera se dan relaciones simbióticas entre las plantas y los microorganismos, debido a que los exudados que producen las plantas son útiles para el metabolismo microbiano, proporcionándoles un nicho ecológico a la vez los microorganismos aportan numerosos beneficios: influencia en el crecimiento radical, regulación de la actividad metabólica de la raíz e influencia en las propiedades físicas y químicas del suelo (González, 2005)

En la actualidad, es común encontrar zonas agrícolas explotadas con distinto nivel de deterioro en su rizosfera y este depende de la intensidad, frecuencia y duración de las aplicaciones de agroquímicos, esto ha llevado a que en los últimos sesenta años, se ha dedicado al estudio de algunos microorganismos beneficios para las plantas, para mejorar su nutrición y combatir algunos patógenos del suelo (Medina *et al.*, 2009)

Debido a estudios que han demostrado la importancia de las relaciones de las plantas con los microorganismos, se empezó a tener mayor conciencia social sobre la explotación racional de los recursos naturales esto propicio el desarrollo de nuevas tecnologías de producción menos contaminantes, como lo es el uso de microorganismos beneficios para la agricultura.

Los microorganismos utilizados como biofertilizantes tienen una relación mutualista con las plantas conocida como simbiosis, cuando se forman estructuras especializadas dentro de la planta (nódulos, vesículas, etc.) se denomina simbiosis obligada o estricta y cuando el microorganismo sobrevive sin la planta y

se asocia en beneficio de ambos, la simbiosis se conoce como asociativa o facultativa (Medina *et al.*, 2009)

Además de las fuentes de carbono, en la rizosfera los microorganismos obtienen agua, condiciones favorables de O₂ y mayor acceso a minerales tales como Molibdeno (Mo), Hierro (Fe), Calcio (Ca), Potasio (K) y Magnesio (Mg).

Los biofertilizantes contribuyen con el crecimiento de las plantas y rendimiento de los cultivos, pero para que éstas se vean beneficiadas es necesario que los microorganismos se encuentren vivos, el producto debe contener varios millones de bacterias por gramo de sólido o líquido, dependiendo de la presentación de este, una vez que las semillas germinen y las raíces comiencen a desarrollarse, las bacterias se multiplicarán y colonizarán la superficie de las raíces (Caballero, 2009).

Biofertilizantes

Los biofertilizantes son sustancias que contienen microorganismos vivos que al aplicarse a las semillas, plantas o al suelo, colonizan la rizosfera o el interior de la planta y promueven su crecimiento aumentando la disponibilidad de nutrientes y la sanidad de la planta hospedera (Vessey, 2003).

Algunas ventajas del uso de los biofertilizantes es la disminución del uso de fertilizantes químicos, controlar plagas y enfermedades sin aplicación de fungicidas químicos, elevan la fertilidad del suelo, favorecen el antagonismo y control biológico de organismos fitopatógenos (Katan, 1993).

En los últimos años el uso de biofertilizantes ha aumentado considerablemente, se caracterizan por la presencia de microorganismos ya sean hongos o bacterias que de forma natural se asocian a las raíces de las plantas, son varios los microorganismos que se utilizan como biofertilizantes, pero los más comunes

pertencen a los géneros *Rhizobium*, *Azospirillum* y *Glomus* (Caballero, 2009; Alarcon y Ferrera, 2012)

La aplicación de biofertilizantes ofrecen grandes ventajas a los cultivos, ya que puede ser una estrategia importante para mejorar o preservar las condiciones físico-químicas y biológicas del suelo y por consiguiente su potencial agro-productivo, además de mejorar la rentabilidad. En el Cuadro siguiente se muestra una relación entre unfertilizante químico y un biofertilizante (Cuadro 2.7).

Cuadro2.7 diferencias entre un fertilizante químico y un biofertilizante

Fertilizante quimico	Vs.	Biofertilizante
Alto costo y disponibilidad decreciente (incrementos de precios)		Bajo costo y facil reproducción (menos del 10 % del costo químico)
Alto desperdicio (solo de un 30 a 40 % es utilizado por la planta)		Cero desperdicio y ,mejor aprovechamiento.
Contamina aire,suelo y agua		No contamina
Elimina los microorganismos del suelo		Desarrolla microorganismos en el suelo.
Esteriliza el suelo y provoca salinidad.		Regenera el suelo y mejora la biologia del suelo.
Almacen y transporte costoso.		Facil almacenamiento y transporte.

Los microorganismos que son utilizados como biofertilizantes son clasificados en dos grupos: el primer grupo incluye microorganismos que tiene la capacidad de sintetizar sustancias que promuevan el crecimiento y desarrollo de la planta, y tales como fijación de nitrógeno, solubilizando hierro y fosforo orgánico y mejorando la tolerancia al estrés por sequia, salinidad, metales toxicos y exceso de pesticidas, por parte de la planta. El otro grupo incluye microorganismos los cuales son capaces de disminuir o prevenir los efectos que causan los patógenos (Bashan y Holguin, 1998; Lucy *et al.*, 2004).

Sin embargo, puede haber microorganismos que encajen en los dos grupos, que además de promover crecimiento y desarrollo de la planta, inhiba los efectos de microorganismos patógenos (Kloepper *et al.*, 1980).

Micorrizas

Las *Micorrizas* son microorganismos del suelo que forman asociaciones simbióticas entre ciertos hongos del suelo y las raíces de la planta. Se conocen seis tipos de asociaciones que forman *Micorrizas*, sin embargo destacan las endomicorrizas o *Micorrizas* arbusculares, que aparentemente son las más comunes en la naturaleza, ya que ocurren en la mayoría de los suelos y 90% de las familias de plantas de la tierra, solo unas pocas familias de angiospermas carecen de ellas: *Brassicaceas* y *Cyperaceas* (Silvia, 2009; Aguilera *et al.*, 2007; Garbaye, 1994)

Los experimentos con sistemas de asociación entre hongos y raíces de plantas superiores tienen más de un siglo de antigüedad. En 1885 Frank observó que las raíces de haya (*Fagus*) de los pinos (*Pinus*) se encontraban envueltas o superficialmente invadidas por hifas fúngicas sin que las plantas muestren signos de enfermedad. Fue el quien propuso el nombre de *micorrizas* (del griego *mykes*, hongo, y *rhiza*, raíz) para dichas estructuras que nunca se forman en órganos con clorofila.

Las plantas que entran en simbiosis captan los nutrientes por medio de las interacciones con las *Micorrizas*, de este modo estos hongos facilitan la captación de fósforo e influyen en la absorción de otros minerales (N, K Ca, Mg, Fe, Mn), promoviendo un mayor crecimiento y desarrollo a las plantas, además proveen una mayor tolerancia al déficit hídrico y tienen un papel muy importante en cuanto a la protección de patógenos de las raíces.

Ante tal efecto la planta dirige una buena parte de sus fotosintatos hacia las raíces. De modo que los hongos puedan captar compuestos de carbono y mediante este obtener carbohidratos para sus requerimientos nutricionales y así facilitar el mutualismo entre ambas partes (Smith y Read, 1997).

El hongo por su parte, forma arbusculos que son las estructuras donde se realiza el intercambio de carbono y fósforo entre la planta y el hongo, algunos hongos micorrizicos forman vesículas en el micelio interno, las cuales son estructuras de reserva (Cuenca *et al.*, 2007)

La simbiosis entre planta y hongo se entiende que al tener en cuenta que la raíz es el puente entre la planta y el suelo y que, a su vez al ocurrir esta sociación el micelio del hongo pasa a ser el puente entre la raíz y el suelo. En consecuencia la micorriza, actúa como órgano de absorción y translocación de agua y nutrientes (Guerrero *et al.*, 1996)

Existen dos tipos de *Micorrizas*, las endomicorrizas y las ectomicorrizas. Endomicorrizas forman unas estructuras dendroides llamadas arbusculos o protuberancias llamadas vesículas, que quedan revestidas por la membrana plasmática. Se suelen llamar *Micorrizas V/A* por la formación de estas estructuras. El hongo nunca penetra la endodermis, ni la estela, ni el meristemo apical, ni la caliptra.

Las hifas se extienden varios centímetros por fuera de la raíz, incrementando la cantidad de nutrientes absorbidos. El intercambio entre hongo y hospedante tiene lugar en los arbusculos, que se llenan de Gránulos de fosfatos.

Las endomicorrizas son particularmente importantes en los trópicos donde los suelos tienden a retener los fosfatos. La comprensión de las relaciones micorrizicas puede ser la clave para disminuir la cantidad de fertilizantes

(Especialmente fosfatos) que deben aplicarse a los cultivos para obtener buenas cosechas (Raven, 1996).

Ectomicorrizas. Son características de ciertos grupos de arboles y arbustos de regiones templadas: Fagáceas (Robles), salicáceas (Alamo, Sauce), Pináceas, y arboles como Eucaliptus y Nothofagus que habitan en las zonas límites del crecimiento de árboles.

El hongo crece entre las células de la raíz, rodeándolas sin penetrarlas, formando una estructura característica “red de hartig”. Además las raíces están rodeadas por una vaina formada por el hongo, llamada manto fúngico; las hormonas que secreta el hongo provocan la ramificación de la raíz, que adopta un aspecto característico esponjoso y ramificado. El micelio se extiende mucho hacia el suelo. Los pelos absorbentes a menudo están ausentes, siendo remplazados por las hifas fúngicas (Muntañola, 1997).

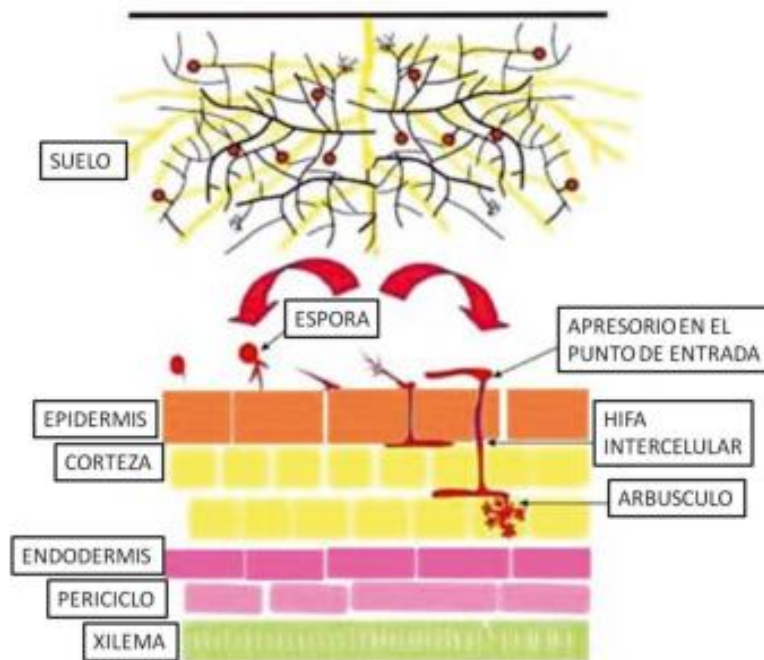


Figura 2.1 Representación esquemática que ilustra la secuencia de eventos que conducen a la formación de *Micorrizas* arbusculares (Ma). Simbiosis.

Factores influyentes en la micorrización

Factores abióticos. Según Rivera (2003), durante el desarrollo del proceso de la formación de las *Micorrizas* arbusculares la ausencia de luz, tanto como por sombra o poca iluminación, no sólo reduce la infección micorrízica de las raíces y por ende la normal producción de esporas, sino que también puede afectar la respuesta de la planta a esta asociación.

Los días largos podrían jugar un papel decisivo en el desarrollo de las *Micorrizas*. Debido a la alta radiación solar, los niveles de infección son generalmente elevados, sin embargo, cuando esta se ve atenuada por el efecto de la nubosidad perenne o el sombreado, los niveles de infección disminuyen.

En relación con la radiación solar y los niveles de infección se explica a partir del incremento de la tasa fotosintética en presencia de altos niveles de radiación, lo que implica una mayor producción e intercambio de metabolitos y por ende una mayor posibilidad de mantener un simbiote con altos valores o niveles de colonización (Readead, 1975).

Se reportan cambios en el número de esporas a lo largo de las estaciones que variaron con diferentes especies de hongos micorrizógenos arbusculares. (Fernández, 1997)

La influencia que tiene la falta de agua sobre la infección micorrízica dentro y fuera de la raíz es diferente. Sobre este asunto se obtiene como resultado que el contenido de agua por encima de la capacidad de campo favoreció la germinación de esporas de hongos micorrizógenos.

(Daniels, 1980)

Por otra parte se plantea que la formación de *Micorrizas* juega un papel importante en el crecimiento de las plantas bajo condiciones de estrés hídrico, sobre todo en aquellas plantas que se exponen un largo período de tiempo a la sequía.

Estas plantas logran desarrollar una capacidad de absorción superior, que les permite absorber no sólo mayor cantidad de nutrientes, sino también de agua, la cual, bajo estas condiciones, ya no se mueve por efecto de masa sino por un aumento de la “pseudo difusión” ocurriendo de hecho una irrigación en la planta que entre otras cosas, mantiene a las hifas del hongo, aún en condiciones adversas, desarrollando satisfactoriamente la asociación planta-HMA (Losano, 1995).

Factores bióticos. El análisis de la ecología de las *Micorrizas* resulta complejo, sobre todo si se tiene en consideración que se intenta evaluar las múltiples interacciones hongo-planta-suelo de esta simbiosis. La zona más cercana a esta asociación es sin dudas la rizosfera, que no es más que el volumen de suelo adyacente a la superficie radical (0.001 mm-3 mm) y que se encuentra afectado por la actividad de la planta (toma de agua y nutrientes, exudados radicales, respiración (Rivera, 2003).

Fortalecimiento de la colonización

Para fortalecer la colonización micorrízica de las raíces en plantas recién trasplantadas, se realiza lo siguiente:

- Mantener el riego adecuado durante el período de establecimiento de la planta. Demasiada agua induce la producción de raíces con apariencia suculenta que difícilmente desarrollarán *Micorrizas*.
- Fertilizar adecuadamente. Si las plantas no se fertilizan en exceso, la colonización micorrízica rápidamente se establecerá en las raíces en crecimiento.

- Seleccionar cuidadosamente los fungicidas. Es más conveniente evitar el empleo de fungicidas sistémicos durante la inoculación con *Micorrizas*, especialmente de aquellos etiquetados para infecciones de roya.
- Evitar la compactación del suelo, la cual puede reducir la captura de oxígeno al hongo y la humedad, haciendo virtualmente imposible su distribución. La compactación también afecta la captura y distribución de nutrientes en la planta.
- "Arropar" siempre que sea necesario. La descomposición del "arropado" incrementa la materia orgánica en el suelo y mantiene favorables sus niveles de humedad. Esta práctica disminuye la erosión causada por las lluvias (Marx, 2004)

Bacteria *Bacillus subtilis*

La bacteria *B. subtilis* no es potencialmente patógena, no produce endotoxinas y secreta proteínas al medio, algunas de ellas son propiedades antifúngicas, como la subtilina y otros antibióticos de la familia de las iturinas, La subtilina liberada por *Bacillus subtilis* actúa sobre la pared celular de los hongos. Se utiliza industrialmente como insecticida y fungicida (Cuervo2010).

Otras características de *B. subtilis* son las siguientes:

1. Corresponde a una bacteria Gram positiva.
2. Producen endosporas, las que son termo resistente y también resisten a factores perjudiciales como la desecación, la radiación, los ácidos y los desinfectantes químicos.
3. La mayoría de los bacilos producen enzimas hidrofílicas extracelulares que descomponen polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos, permitiendo que el organismo emplee estos productos como fuentes de carbono y donadores de electrones.
4. Miden de 3 μ a 4 μ por 1 μ .
5. Móviles por ocho a doce flagelos peritricos.
6. Muchos bacilos producen antibióticos y son ejemplos de estos la bacitracina, polimixina, tirocidina, gramicidina y circulina.
7. Son fermentivas, usualmente fermentan caseína y almidón.

8. En general crecen bien en medios sintéticos que contienen azúcares, ácidos orgánicos, alcoholes, etc., como las únicas fuentes de carbono y el amonio como única fuente de nitrógeno.
9. Viven dentro de los límites de temperatura de 55 a 70°C.
10. El límite inferior de pH para el género *B. subtilis* es de 2 a 3.

Efectos antagónicos a otros patógenos

Existen muchos microorganismos que han sido considerados como antagonistas de algunos patógenos, constituyendo una alternativa a los productos químicos. La lucha ejercida por ellos puede ser por el contacto físico directo de éste con el agente causal de la enfermedad o bien por la liberación por parte del biocontrolador de sustancias que tienen un efecto negativo sobre el patógeno. Otra forma de actuar es a través de la competencia por espacio y nutrientes (Jarvis, 1989).

B. subtilis es conocido por ser antagonista de muchos hongos patógenos de vegetales. Este antagonismo es logrado a través de diversos mecanismos que incluyen la competencia por nutrientes, exclusión del sitio, colonización de la bacteria en el patógeno, y la liberación de componentes celulares durante el crecimiento, en orden de eliminar o reducir los competidores en su medio ambiente inmediato (Butt *et al.*, 1999).

Una de las posibles formas de utilización de *Bacillus subtilis* como agente de biocontrol es a través del tratamiento de semillas. Su efecto benéfico cuando se aplica junto a las semillas, no se debe exclusivamente al antagonismo proporcionado a los patógenos, sino que influyen positivamente en la germinación, desarrollo y rendimiento del cultivo debido a la producción de sustancias

promotoras del crecimiento y al mejoramiento de la nutrición de las plantas (Burke *et al.*, 2006)

Promoción de crecimiento de plantas

B. subtilis se encuentra en el grupo de rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas, y son aquellas bacterias que aparecen libres en el suelo, capaces de adaptarse, colonizar y persistir en la rizósfera de la planta favoreciendo el crecimiento o desarrollo de ésta con su actividad. Estos microorganismos rizosféricos son capaces de mejorar la estructura del suelo y proteger al vegetal frente a agresiones de diverso origen. Además las rizobacterias pueden aportar formas asimilables de los nutrientes minerales (pudiéndose llamar por tanto biofertilizantes), producen fitohormonas y promueven un buen estado sanitario de la planta.

La materia orgánica del suelo, formada por restos vegetales, animales y microorganismos, está sometida a un proceso continuo de transformaciones, bajo la acción de factores edáficos, climáticos y biológicos. Sobre estos residuos es importantísima la acción de las rizobacterias, ya que además actúan como biocatalizadores orgánicos naturales y aseguran una rápida colonización de la rizosfera y masa vegetativa, acelerando el crecimiento y vigor de la planta, algunas de ellas son *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas fluorescens* (Burke *et al.*, 2006).

Rhizobium

Es bien conocido que un considerable número de especies bacterianas asociadas con la rizósfera de las plantas son capaces de ejercer un efecto benéfico en el crecimiento de plantas. Este grupo de bacterias llamadas rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas incluye el género *Rhizobium* (Sessitsch *et al.*, 2002).

Estas bacterias se caracterizan por su habilidad de facilitar directa o indirectamente el desarrollo de la raíz y del follaje de las plantas. La estimulación indirecta del crecimiento de plantas incluye una variedad de mecanismos por los cuales la bacteria inhibe la acción fúngica sobre el crecimiento y desarrollo de la planta (Hassan *et al.*, 1997; Essalmani & Lahlou, 2003).

La capacidad de *Rhizobium* ha sido estudiada por varias décadas (Chakravarty & Purkayastha, 1984; Chabot *et al.*, 1996; Hassan *et al.*, 1997; Rodriguez & Fraga, 1999), sin embargo, en los últimos años este estudio ha sido intensificado (Yanni *et al.*, 2001; Essalmani & Lahlou, 2003; Dey *et al.*, 2004; Mhadhbi *et al.*, 2004; Perrine *et al.*, 2004) porque la agricultura sustentable demanda mejorar la eficiencia de la fijación de nitrógeno a través del uso de bacterias competitivas capaces de extender la ventaja de la simbiosis a otros cultivos no leguminosas.

La fijación biológica del nitrógeno atmosférico, consistente en la reducción de N_2 a NH_4^+ por la enzima nitrogenasa, es, después de la fotosíntesis, la ruta metabólica más importante para el mantenimiento de la vida en la Biosfera. Curiosamente, este proceso crucial sólo puede ser llevado a cabo por unos pocos grupos de seres vivos, todos ellos procariotas (Sprent J. y Sprent P., 1990).

Los microorganismos fijadores de nitrógeno no constituyen un grupo taxonómico homogéneo, la única característica que comparten es la presencia de la enzima nitrogenasa (Wang *et al.*, 2001). Dichas bacterias comprenden organismos fototrofos, como bacterias pertenecientes a la familia *Rhodospirillaceae*, *Clorobiaceae* y *Cianobacteriae*; organismos quimioautotrofos, como bacterias de los géneros *Thiobacillus*, *Xanthobacter* y *Desulfovibrio* y organismos heterótrofos como las bacterias pertenecientes a la familia Frankiaceae, al grupo Rhizobiaceae y a los géneros *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Clostridium* (Sprent y Sprent, 1990).

Dentro de esta última opción el sistema rizobiáceas leguminosas es el que ha sido estudiado ampliamente y en mayor profundidad. Ya en el siglo XVI Leonhard Fuchsius dibujó leguminosas noduladas (Young *et al.* 2001) y en el siglo XVII, Malpighi observó nódulos en raíces de judía (*Phaseolus vulgaris*) y de haba (*Vicia faba*) (Garrison F.H., 1929). No fue sin embargo hasta finales del siglo XIX cuando el botánico ruso Woronin detectó la presencia de bacterias en nódulos de lupino y alisos (Young *et al.* 2001). Unos años después Frank demostró que en suelos quemados no se producían nódulos (Frank, 1879) y a continuación Hellriegel y Wilfarth, que son los investigadores reconocidos universalmente como descubridores de la fijación simbiótica, demostraron en varias leguminosas el requerimiento de una infección previa para la formación del nódulo (Hellriegel y Wilfarth, 1888).

Fijación biológica de nitrógeno

Las rizobiáceas son un grupo muy heterogéneo de bacterias que se han dividido en cuatro familias: Rhizobiaceae, Phyllobacteriaceae, Hyphomicrobiaceae y Bradyrhizobiaceae (Madigan *et al.* 2000). Dentro de estas familias sólo unos determinados géneros son capaces de efectuar el proceso de fijación de nitrógeno: *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* y *Allorhizobium*.

Se puede definir como rizosfera a la porción de suelo íntimamente asociada a las raíces de plantas en crecimiento con propiedades físicas, químicas y biológicas diferentes a las del resto del suelo y con una estructura extraordinariamente compleja en la que inciden gran número de variables y en la que se establecen multitud de relaciones biológicas. De hecho, las características físico-químicas de dicha región hacen de ella un lugar muy adecuado para el crecimiento de microorganismos (Bazin *et al.*, 1990)

Existen dos tipos de fijación del nitrógeno: abiótica y biológica.

La fijación abiótica engloba aquellos procesos químicos espontáneos, en los cuales se forman óxidos como consecuencia de la combustión de compuestos orgánicos. Una forma de fijación abiótica se produce mediante descargas eléctricas, o mediante la oxidación producida por los rayos, que forman óxidos de nitrógeno.

El ser humano también ha conseguido fijar el nitrógeno atmosférico de forma abiótica mediante el método de Haber-Bosch. En 1909 el químico alemán Fritz Haber descubrió un método para la síntesis del amoníaco. Este método supuso un gran avance para los alemanes y revolucionó la economía, ya que permitió obtener fertilizantes baratos y explosivos.

Otro proceso abiótico de fijación de nitrógeno es la producción de cianamida. La cianamida es empleada normalmente para elaborar cianuro y en ocasiones como fertilizante. Este proceso se realiza haciendo pasar nitrógeno atmosférico sobre cianuro de calcio caliente. Al igual que el método de Bosch, la elaboración de cianamida también necesita la presencia de un catalizador.

Por su parte, la fijación biológica de nitrógeno la realizan algunos organismos que pueden aprovechar directamente el nitrógeno del aire a través de bacterias, formando nódulos. Los nódulos son unas estructuras radiculares resultantes de la simbiosis entre la planta y la bacteria. Estas bacterias forman parte de la denominada rizosfera, que es una zona de interacción única y dinámica entre raíces de plantas y microorganismos del suelo.

La comunidad de la rizosfera consiste en una microbiota (bacterias, hongos y algas) y una microfauna (protozoos, nematodos, insectos y ácaros). Las bacterias en simbiosis con una planta hospedante fijan el nitrógeno del aire, es decir,

originan compuestos solubles por las plantas, como amoniaco. Con posterioridad, el amoniaco entra en la cadena alimenticia mediante su incorporación a los aminoácidos y proteínas. El enlace que une los dos átomos de nitrógeno tiene un alto coste energético de rotura. Para romper este triple enlace son necesarias grandes cantidades de energía. La enzima nitrogenasa es la encargada de romper dicho enlace, para lo cual necesita 16 moléculas de ATP por N₂ reducido.



Algunas plantas establecen una relación estrecha y persistente con bacterias fijadoras de nitrógeno. Esta simbiosis, que proporciona beneficios durante la vida en común a ambos simbioses, se realiza en nódulos radiculares, en los cuales el nitrógeno atmosférico se fija y se proporciona a la planta en forma de compuestos orgánicos nitrogenados. De esta simbiosis la planta obtiene nitrógeno y la bacteria ácido málico en su forma ionizada (malato) y refugio. El malato es un compuesto orgánico implicado en las principales rutas del metabolismo, como son el ciclo de Krebs y en las reacciones anapleróticas de éste.

Germinación y vigor de semillas

Germinación

La germinación es 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 (Moreno, 1996).

Cronquist (1986), menciona que la germinación es el proceso que ocurre desde el momento en que el embrión reinicia su crecimiento hasta que la plántula se establece. Por su parte, Ruiz (1983) menciona que la germinación es el fenómeno por el cual el embrión pasa del estado de vida latente en que se encuentra en la semilla a un estado de vida activa. En otras palabras, es el desarrollo y transformación del embrión en una nueva y pequeña planta.

Para que se inicie la germinación se necesita que: a) la semilla sea viable; es decir, que tenga un embrión vivo capaz de germinar; b) no deben existir barreras fisiológicas, físicas y químicas que induzcan el letargo e inhiban la germinación; c) debe estar expuesta a condiciones ambientales adecuadas que favorezcan la germinación (Hartmann y Kester 1995).

La germinación en laboratorio, como el desarrollo de las estructuras esenciales del embrión a un grado tal que manifiestan su habilidad para continuar con un desarrollo normal bajo condiciones óptimas, siendo el objetivo principal, obtener información con respecto a la capacidad de semilla de producir plántulas normales y así realizar comparaciones del poder germinativo entre diferentes lotes de semillas de la misma especie (ISTA, 1996).

La mayoría de las plantas y en concreto las utilizadas por el hombre como plantas cultivadas, utilizan semillas para reproducirse. No obstante, en muchas ocasiones, las semillas tras su maduración y dispersión no son capaces de germinar, o bien por qué se encuentran en dormancia o bien por que las condiciones ambientales no son favorables.

En esta situación las semillas comienzan a deteriorarse lo que se manifiesta por la progresiva pérdida de su capacidad de germinar (viabilidad) y de dar lugar a plántulas sanas y vigorosas (vigor). El tiempo que tardan las semillas en perder su viabilidad (longevidad) es variable según las especies y dependiente de factores tanto externos (temperatura ambiental), como internos (contenido en humedad, genotipo, etc.) a las propias semillas.

La viabilidad de un lote de semillas, no durmientes, hace referencia a su capacidad de germinar y originar plántulas normales en condiciones ambientales favorables. Para evaluar y cuantificar la viabilidad se pueden realizar diferentes tipos de test, entre los que se destacan:

- Ensayos de germinación
- Test del tetrazolio
- Radiografía con rayos x

Vigor

El vigor de un lote de semillas se define como el conjunto de propiedades que determinan el nivel de actividad y capacidad de las semillas durante la germinación y posterior emergencia de las plántulas. Las semillas con buen comportamiento se consideran semillas de alto vigor.

El vigor de un lote de semillas es el resultado de la interacción de toda una serie de características de las semillas:

- Constitución genética
- Condiciones ambientales y nutricionales a que ha estado sometida la planta madre durante el periodo de formación
- Grado de madurez
- Tamaño, peso y densidad
- Integridad mecánica
- Grado de deterioro y envejecimiento
- Contaminación por organismos patógenos.

Dado que un lote de semillas de vigor producirá más plántulas normales y con tasas elevadas de crecimiento, los ensayos que se utilizan para evaluar el vigor de las semillas consideran el número y las características de las plántulas obtenidas, como son su apariencia, malformaciones y velocidad de crecimiento

Biorreguladores

En los últimos años, la importancia en la utilización de biorreguladores aplicados a semillas ha sido determinante para romper la latencia de algunas especies, así como activar o acelerar su proceso de germinación, lo anterior trae como beneficio mayor uniformidad y establecimiento en campo.

El término regulador se aplica a cualquier sustancia que pueda modificar los procesos fisiológicos de las plantas. Estos son compuestos orgánicos distintos a los nutrientes que en pequeñas cantidades estimulan, inhiben o modifican cualquier proceso fisiológico.

(Devlin, 1982; Weaver, 1996).

Existen biorreguladores complejos que conllevan fracciones metabólicas activas, además de hormonas y extractos vegetales que contienen moléculas bioactivas; por ejemplo: alantoína + ácido fólico + aminoácidos; extractos vegetales + GA3 + elementos menores; extracto de algas + citocininas + elementos menores. Estos productos son muy difíciles de evaluar, debido a que su formulación dificulta determinar a qué componente se le atribuirá su efecto

(Rojas y Ramírez, 1993).

Reguladores de crecimiento en las semillas

Los reguladores de crecimiento de las plantas tienen que ser efectivos en el tratamiento de las semillas, venciendo el estrés ambiental que se impone en la germinación (Karssen *et al.*, 1989).

En el desarrollo de las semillas, los reguladores de crecimiento interno son muy complicados para efectuar algunos procesos, por ejemplo:

1. Crecimiento y desarrollo de las semillas, incluyendo la prioridad de detección durante el desarrollo de la semilla.
2. Acumulación en el almacenamiento de reservas.
3. Crecimiento y desarrollo de la capa extraseminal.

4. Almacenamiento de las hormonas utilizadas durante la germinación y crecimiento temprano de las plántulas.
5. Efectos fisiológicos en capas y órganos cercanos al desarrollo del fruto (Bewley y Black, 1985)

Hormonas de crecimiento

Una hormona vegetal es un compuesto orgánico que se sintetiza en alguna parte de una planta y que se trasloca a otra, en donde concentraciones muy bajas causan una respuesta fisiológica (Salisbury y Ross, 1994)

Ondarza (1980), sustentó que la existencia de sustancias químicas fisiológicamente activas, fue sospechada desde hace mucho tiempo por Darwin, quien en 1880 en su libro "el poder del movimiento en las plantas", llegó a la conclusión de que alguna "influencia" debía operar desde el ápice de los tallos, la cual hacía que la planta respondiera a la luz.

Actualmente se conoce que la "influencia" es ejercida por sustancias que regulan el crecimiento, son sintetizadas en el ápice de los tallos y difundidas hacia abajo, promoviendo el alargamiento de las células en la región subapical, identificándose estas en dos tipos de hormonas: auxinas y giberelinas. El otro proceso fundamental involucrado en el crecimiento de las plantas es la división celular, mediante la cual se producen nuevas células y compuestos naturales llamadas citoquininas.

En las primeras etapas del crecimiento de las hojas, tallos, raíz o frutos, siempre ocurre una intensa división celular, seguida por una etapa de alargamiento o hinchado de estas células, estos fenómenos naturales están muy relacionados con la actividad hormonal cuyo proceso de división celular es regulado principalmente por las citoquininas, mientras que el alargamiento es generado por auxinas y giberelinas. Es muy importante destacar que para inducir el crecimiento de los tejidos con biorreguladores, hay que tomar en cuenta la etapa fisiológica de

crecimiento en que se encuentra la planta, para optar por la aplicación de la hormona adecuada.

(Alisedo, 2000)

Auxinas

El término auxinas designa cualquier hormona perteneciente al grupo auxínico, pero a menudo se usa como sinónimo del Ácido indolacético (AIA), que es la principal auxina natural que se sintetiza a partir del aminoácido de triptófano, así como el Ácido Indolpirúvico (AIP) que se encuentra en el cultivo de maíz principalmente en semillas, hojas y raíces.

El principal efecto auxínico es la estimulación del alargamiento celular o su depresión, según la concentración del producto, la acción principal de esta hormona es la formación de órganos y tejidos, además de que estimula la división celular (interactúa con las citoquininas), estimula la formación de raíces, engrosamiento celular y dominancia apical (Rojas y Ramírez, 1993).

Bidwell (1996) señaló que el AIA y otras auxinas naturales no se acumulan en grandes cantidades en las células, debido a que existen procesos naturales de inactivación y destrucción de estas, ya que son menos eficientes que las auxinas sintéticas, lo que les permite acumularse y tener un período activo relativamente largo al aplicarlas en forma exógena, pues tales auxinas son quizá más estables debido a que existen pocos sistemas enzimáticos que las ataquen fácilmente, por lo que tienden a acumularse, hasta el punto de llegar a ser tóxicas.

Rojas y Vázquez (1995), en un trabajo realizado con auxinas mencionaron; que estas son hormonas cuya acción fisiológica básica es sobre el mensaje genético contenido en el ADN, el cual determina que la planta sintetice proteínas y enzimas nuevas, cambiando su química y su fisiología, estas promueven el alargamiento

de las células a bajas dosis, dando excesivo crecimiento a los tallos que se alargan y se retuercen y un crecimiento de las hojas malformadas; en cambio, inhiben el crecimiento en dosis altas, ya que incrementan la respiración y en general la actividad fisiológica a bajas dosis e inhibirlas a altas concentraciones.

Giberelinas

Las giberelinas se descubrieron por primera vez en la década de los 30`s en Japón, donde aislaron un compuesto activo del hongo *Giberella fujikuroi* (el estado asexual o imperfecto de *Fusarium moniliforme*). Para 1990, se habían descubierto 84 giberelinas en varios hongos y plantas.

Las semillas de *Sechium edule* contiene al menos 20 giberelinas, mientras que las semillas de *Paséeles vulgaris* L. contiene al menos 16, aunque la mayoría de las especies contiene una cantidad mayor. Todas tienen de 19 a 20 átomos de carbono, agrupadas en un sistema de cuatro a cinco anillos (Salisbury y Ross, 1994).

Según Tesar (1988), las semillas inmaduras son una excelente fuente para el estudio de las giberelinas porque se presentan en altas concentraciones, apareciendo también en la maduración de estas aunque en concentraciones menores, sin embargo, para las semillas en germinación se localizan principalmente en el eje embrionario, cotiledones y testa.

Se conoce que la aplicación de giberelinas en las semillas tiene una acción estimulante en la dormancia, acelera la germinación y a menudo pueden compensar la falta de estímulos de luz y bajas temperaturas. Los efectos principales son la estimulación de la hidrólisis en la reserva de alimentos y la reducción del mecanismo de resistencia de la radícula; así como la estimulación del crecimiento del embrión (Karssen *et al.*, 1989).

Rojas y Vázquez (1995), mencionaron que las giberelinas tienen la acción básica de modificar el mensaje genético que lleva el RNA, presentando el síntoma típico de ausencia de amilasa en la planta, enzima que deshace el almidón, la cual permite utilizarlo para obtener energía, también promueve el crecimiento de variedades enanas, así como el florecer algunas plantas en condiciones inadecuadas de luz o frío.

Salisbury y Ross (1994) señalan que en las semillas de pastos (incluyendo cebada), es probable que las giberelinas se sinteticen en el escutelo (cotiledón) y quizá también en otras partes del embrión. El tipo de giberelinas sintetizadas depende de la especie, pero en cebada parecen ser más importantes las GA₁ y GA₃. Sin embargo, aunque la capa de aleurona de cebada, trigo y avena silvestre (*Avena fatua*), responde al tratamiento con GA₃ o algunas otras giberelinas sintetizando amilasa y otras enzimas hidrolíticas, mientras que algunas variedades cultivadas de avena y la mayoría de los cultivares de maíz no lo hacen.

Citoquininas

La presencia de citoquininas naturales ha sido extraída de más de 40 especies, niveles altos de estos compuestos se han hallado sobre todo en tejidos que presentan una división celular activa, como el caso de las semillas de cebada, lechuga y chícharo, así como los frutos en desarrollo de membrillo, manzano, ciruelo, durazno, peral y tomate; por tal razón, las citoquininas se consideran reguladores de la división celular. La primera citoquinina cristalina se extrajo de semillas de maíz (*Zea mays* L.) llamada zeatina (Weaver, 1996).

Las citoquininas interfieren con el ADN y tienen como síntoma típico el promover la división celular y el retardar los síntomas de senectud, en plantas se le conoce como una hormona juvenil (Rojas y Vázquez, 1995).

El nombre genérico de las citoquininas es empleado para aquellas sustancias químicas que pueden estimular principalmente la división celular, casi todas las citoquininas conocidas, tanto naturales como sintéticas son derivadas de la adenina. Los efectos principales son:

1. La inducción de la iniciación en tallos y ramas.
2. El rompimiento del letargo de las yemas y semillas en muchas especies.
3. Un efecto sobre la dominancia apical, aunque este es muy complejo y parece depender de un balance entre citoquininas, giberelinas y auxinas (Hurtado y Merino, 1987)

Ácido abscisico

Las abscisinas determinan el letargo en yemas y semillas, e intervienen en la caída de las hojas, proporcionando información sobre la resistencia al estrés de frío y sequía (Rojas y Vázquez, 1995).

El ácido abscisico exógeno es un inhibidor potente en la germinación de semillas de muchas especies, además, algunos estudios demuestran que los niveles de ABA disminuyen en semillas enteras cuando se interrumpe la latencia por algún tratamiento ambiental (por ejemplo, la exposición a la luz o a las bajas temperaturas) (Salisbury y Ross ,1994).

El ácido abscisico tiende a incrementarse con la maduración de la semilla y puede estar involucrado en la prevención de la viviparidad y en la inducción del letargo, también se ha aislado de las semillas en letargo, así como de las cubiertas de las semillas de durazno, nogal, manzano, rosál y ciruelo, pero desaparece durante la escarificación (Hartmann y Kester, 1995)

Aplicaciones de hormonas en la germinación de semillas

Se han realizado trabajos utilizando ácido giberélico a 100 ppm en soya, obteniendo como resultado un aumento de la germinación y revirtiendo los efectos negativos del boro; en el cultivo del maíz se utilizó el Cytozyme y el Agrostemin, los cuales aceleraron la germinación, el crecimiento de radícula y talluelos; en arroz, la salinidad del suelo interfiere en la germinación, pero los tratamientos con ácido GA3 durante 24 horas se elevaron en un 80% en comparación con un testigo que presentaba un 26% de germinación (Rojas y Ramírez, 1993).

Weaver (1996) al trabajar con semillas de una variedad de arroz sensible a las giberelinas, encontró que al remojar estas durante dos o tres días a 30°C, el coleóptilo alcanza 0.5 mm de longitud, obteniendo un tamaño mayor de plántula con la dosis más alta de 10 ppm.

Moreno (1996) utilizó GA3 en *Avena sativa*, *Hordeum vulgare*, *Secale cereale*, *X. Triticosecale* y *Triticum aestivum*, en dosis de 500 ppm, sin embargo, cuando la latencia es débil se recomienda usar 200 ppm y cuando es alta debe ser de 1000 ppm, además sugiere que en dosis de 800 ppm hacia arriba es recomendable utilizar una solución buffer en lugar de agua.

Las citoquininas tienen efectos estimulantes en la germinación de varias especies de semillas. En frijol, Gepstein y Llan (1979) establecieron que las citoquininas ejercen un efecto promotor en la actividad amilolítica en los cotiledones; así promueven más energía para el crecimiento del embrión.

En otro estudio diferente, ellos examinaron la regulación de la actividad proteolítica en la germinación de semillas de frijol y establecen que esta se incrementa durante los primeros siete días de la germinación, presentándose en el eje embrionario.

Los efectos del eje y la actividad proteolítica podrían estar substituidos por la quinetina o setena, pero no por el ácido indolacético o ácido giberélico. Sin

embargo, en cereales, la actividad de la amilasa y la proteasa también reciben una influencia en la promoción del embrión, el cual puede estar reemplazado por la adición de giberelinas que de citoquininas (Gepstein y Llan, 1980).

Hartmann y Kester (1995), mencionaron que las semillas de *Acer pseudoplatanus* en letargo contienen inhibidores que pueden ser eliminados por lixiviación, en este caso, las aplicaciones de citoquininas mejora la germinación, pero las giberelinas no lo hacen. De manera similar, en semillas de apio sensibles a la luz, la germinación fue controlada en parte por los inhibidores.

Cuesta y Mondaca (2014), demostraron que La aplicación del biorregulador a base de ácido indolbutírico y forclorfenurón en plántulas de tomate permitió mejorar la cantidad y calidad de las raíces producidas respecto al testigo sin aplicación. Los mejores resultados se obtuvieron con las dosis de 5 y 7 ml/L. Con estas dosis se logró adelantar en una semana el desarrollo radicular respecto al testigo.

Garruña *et al.* (2014), demostraron que el acondicionamiento de la semilla de chile habanero rompió la latencia, por lo que tiene impacto positivo en la germinación y aumenta su capacidad germinativa.

El ABA (ácido absicisico) acelera la germinación y la emergencia. Las soluciones osmóticas de nitrato de potasio (KNO_3) y PEG (polietilen glicol) impiden la germinación durante el acondicionamiento y causan aumento de la emergencia. Las soluciones acondicionadoras de KNO_3 , PEG y ABA son las más adecuadas para obtener plántulas de chile habanero listas para el trasplante.

Una o dos aspersiones al follaje con AG_3 en dosis de 50 mg/L realizada aproximadamente cuatro meses antes de la cosecha esperada, adelanto de 24.8 a 28.2 días la madurez del fruto (21.5 % de materia seca del mesocarpio) comparado con los frutos normales no tratados (INIFAP, 2007).

MATERIALES Y METODOS

Ubicación del experimento

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Producción de semillas, perteneciente al Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Se localiza en Buenavista, a siete Km. al sur de la Ciudad de Saltillo; al sur del estado de Coahuila, México, a

una altitud de 1742 msnm cuyas coordenadas geográficas son 25° 22` latitud norte y 101° 1` longitud oeste.

Material genético

Se partió de frutos cosechados en el mes de septiembre del 2013, producidos en los campos experimentales de Torreón Coahuila, con una altitud de 1120 msnm y cuyas coordenadas geográficas son 25°33'19"N 103°22'14"W, bajo condiciones de riego; considerando el genotipo de color rojo, realizando su extracción acondicionamiento y almacenamiento de la semilla en condiciones óptimas temperaturas de 5 °C y humedad relativa de 35-38 % hasta el 2014.

Tratamientos

En este estudio se trabajaron dos experimentos establecidos a través del método de siembra, el primero fue en sustrato y el segundo sobre papel, ambos estuvieron en condiciones de laboratorio, evaluando cuatro tratamientos, tres productos comerciales (Micorrizafer, Rhizofer, SERENADE ASO) y un testigo con agua destilada, con diferentes dosis basadas en la recomendada en la ficha técnica de cada producto, siendo tres por cada tratamiento con tres repeticiones.

Micorrizafer: es un biofertilizante cuya acción se basa en la actividad de los hongos micorrizicos arbusculares de la especie *Glomus intraradices*.

Este tipo de hongo se asocia de forma natural con las raíces de las plantas, las plantas alimentan a los hongos mediante azúcares y a cambio las *Micorrizas* toman el agua y los nutrientes de difícil disponibilidad como el nitrógeno o solubilidad como son el fósforo y el potasio y otros micronutrientes, a su vez producen hormonas (citoquinina, auxinas) que estimulan el desarrollo de la planta. Dosis recomendada: 1 kg de micorrizafer en 100 L de agua.

SERENADE ASO: contiene la cepa patentada QST 713 que brinda una acción antimicrobial superior comparado con las cepas comunes de *Bacillus subtilis*. Actúa creando inicialmente una zona de inhibición en la hoja, previniendo la

instalación del patógeno y destruyendo finalmente el tubo germinativo y micelio del patógeno. Se aplica en pulverizaciones previa mezcla con agua, utilizando equipos de aspersión terrestres. Dosis recomendada 1 L de Serenade en 200L de agua.

Rhizofer: es un biofertilizante cuya acción se basa en la actividad de la bacteria *Rhizobium etli*. Este tipo de bacteria se asocian de forma natural con las raíces de las plantas, las plantas alimentan a los hongos mediante azúcares y a cambio las bacterias toman el nitrógeno que se encuentra en abundancia en la aire y lo transforman en amonio, nitratos y nitritos, los cuales pasan directamente a las raíces, a su vez las bacterias producen hormonas que estimulan el desarrollo de la plantas, compiten contra otras bacterias capaces de producir enfermedades, de esta forma al mejorar la nutrición de la planta, estimula el desarrollo y la resistencia a enfermedades bacterianas. Dosis recomendada 380 g de rhizofer en 200 L de agua.

La dosis de biofertilizantes aplicadas en cada experimento fue diferente, en sustrato 15 mL y en papel 9 mL; por las características de la semilla de chile habanero (*Capsicum chinense*), se osmoacondicionó la semilla con ácido giberélico a 500 ppm por 24 horas antes de aplicar los tratamientos descritos en el Cuadro 3.1 siguiente:

Cuadro 3.1 Identificación de los tratamientos aplicando *Bacillus subtilis*, *Micorriza*, *Rhizobium* y AG3 en dos condiciones (sustrato y papel).

Tratamiento	Dosis	Cantidad aplicada (Sustrato)	Cantidad aplicada (Papel)	Adición de promotor de germinación
1. Testigo	-	15 mL	9 MI	AG ₃ 500 ppm
2. <i>Bacillus subtilis</i>	1 L / 200 L	15 mL	9 MI	AG ₃ 500 ppm
3. <i>Micorriza</i>	1 kg /200 L	15 mL	9 mL	AG ₃ 500 ppm
4. <i>Rhizobium</i>	380 g / 200L	15 mL	9 MI	AG ₃ 500 ppm

Metodología

Extracción

Los frutos de chile habanero fueron cosechados y traídos al laboratorio, para extraer las semillas con la ayuda de guantes, bisturí y removerlas del fruto, posteriormente se fueron quitando las impurezas (Pericarpio) que llevaba impregnada la semilla, de esta manera se obtuvo la semilla limpia, como se muestra en la Figura 3.1



Figura 3.1 Extracción de las semillas de Chile habanero (*Capsicum chinense*)

Limpieza y selección

Una vez extraída la semilla, se procedió a realizar una limpieza a través de separación por peso, con la finalidad de obtener semilla llena o pura, separada de la vana e impurezas, con ayuda de un soplador “South Dakota” con una abertura de 4 cm con un tiempo de dos minutos; permaneciendo la semilla llena o pura en la parte inferior del tubo y la semilla vana e impurezas en la parte superior del tubo (Figura 3.2); después de obtener la semilla pura se llevó a un osmoacondicionamiento aplicando ácido giberélico a 500 ppm durante 24 horas.



Figura 3.2 Acondicionamiento de la semilla por separación por peso mediante un soplador “South Dakota”.



Figura 3.3 Osmoacondicionamiento aplicando ácido giberélico a 500 ppm durante 24 horas

Siembra en sustrato (Experimento 1)

Una vez aplicado el osmoacondicionamiento de la semilla, se sembraron ocho semillas por cada repetición por tratamiento, en una charola de plástico con sustrato peat moss húmedo con agua destilada; se identificó cada charola por tratamiento, dosis y repetición correspondiente (Figura 3.4), posteriormente fueron llevadas a una cámara de germinación marca Biotronette mark a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ con 8 horas luz y 16 oscuridad por 32 días. Aplicando a los días 14 y 24 días después de siembra los tratamientos de productos comerciales, manteniendo constante la humedad durante toda la prueba y evaluando germinación y vigor.



Figura 3.4 Siembra de semillas de Chile habanero en sustrato peat moss con tres tratamientos (Productos comerciales) y un testigo (Experimento 1)

Siembra sobre papel (Experimento 2)

Una vez que la semilla estuvo seca, se procedió a realizar la siembra en cajas Petri de plástico de 9 cm de diámetro y 1.3 cm de altura, la cual contenía papel filtro whatman No. 1 con agua destilada, se sembraron 14 semillas por cada repetición.

Se identificaron y etiquetaron los diferentes tratamientos, las cajas Petri fueron llevadas a una cámara de germinación marca Biotronette mark a $27 \pm 1^\circ\text{C}$, con 8 horas luz y 16 oscuridad por 32 días, haciendo las evaluaciones correspondientes en la prueba de capacidad de germinación y vigor, los tratamientos fueron aplicados en dos etapas, la primera aplicación fue de 14 días después de la germinación y la segunda 24 días después de germinación.

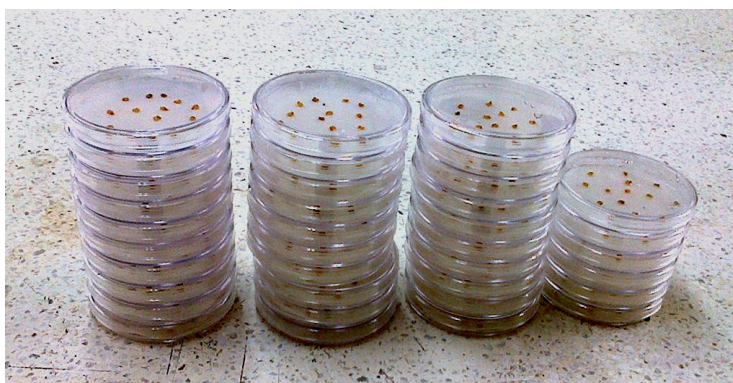


Figura 3.5 Siembra de semillas de Chile habanero sobre papel filtro whatman No. 1 con tres tratamientos (Productos comerciales) y un testigo (Experimento 2)

Variables evaluadas

Experimento 1; siembra en sustrato se evaluaron las variables porcentaje de Plántulas Normales (PN), Plántulas Anormales (PA) y Semillas sin Germinar (SSG) mediante la prueba de Capacidad de germinación; así como para determinar el vigor de la semilla con las variables Índice de Velocidad de Emergencia (IVE), Longitud Media de la Radícula (LMR), Longitud Media del Hipocotilo (LMH), Peso Fresco (PF) y Peso Seco (PS), con la finalidad de conocer la respuesta fisiológica de los tratamientos a los 32 días después de la siembra.

Experimento 2; siembra sobre papel, se determinó la Capacidad de germinación, en porcentaje de Plántulas Normales (PN), Plántulas anormales (PA) y semillas sin germinar (SSG), para determinar el vigor se evaluó índice velocidad de emergencia (IVE), longitud media de la radícula (LMR) longitud media del hipocotilo (LMH), así como Peso Fresco de plántula (PF). Así como, evaluar la respuesta de los tratamientos de productos comerciales en relación hormonal de auxinas en base al Ácido Indolacético acumulado en la raíz de plántulas normales de este cultivo a los 32 días después de la siembra.

Capacidad de germinación

Esta prueba se realizó de igual forma para los dos experimentos conforme al manual de evaluación de la Association of Oficial Seed Análisis (AOSA, 1992).

Plántulas Normales (PN)

Después de los 32 días se procedió a realizar el conteo después de la siembra, considerando como normales aquellas plántulas que ya tenían el hipocotilo erecto y radícula bien desarrollados mayores de 1.5 cm de longitud (Figura 3.6), contabilizando el número de plántulas con esta característica y calculando el porcentaje.

Plántulas Anormales (PA)

El conteo se realizó a los 32 días después de la siembra, siendo aquellas plántulas que no cumplieron con los requisitos de plántula normal, teniendo alguna malformación o poco desarrollo (Figura 3.6), se registró el número y se calculó el porcentaje por cada repetición.

Semillas sin Germinar (SSG)

Se determinó al conteo final de la prueba los 32 días después de la siembra, se clasificaron en aquellas semillas que no presentaron germinación, que solo estuvieron hinchadas o se encontraban latentes (Figura 3.6), contabilizando el número de semillas con esta característica y calculando el porcentaje.

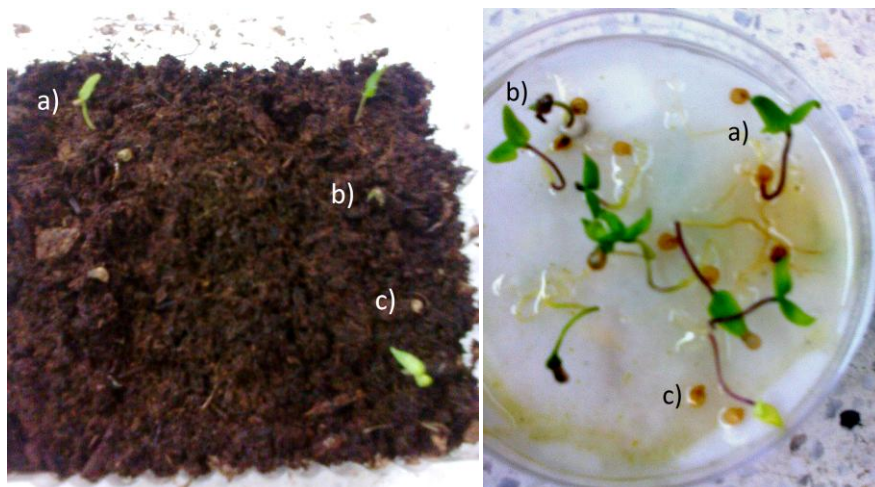


Figura 3.6 Clasificación de plántulas normales, anormales y semillas sin germinar en el Experimento 1 y Experimento 2.

Vigor

Índice de Velocidad de Emergencia (IVE)

Se implementó en la prueba de capacidad de germinación. Este parámetro reveló la capacidad que tuvieron las semillas para emerger en un periodo de tiempo determinado.

El IVE se obtuvo contando diario las semillas emergidas durante 32 días después de la siembra. Considerando la ruptura de la testa como semilla emergida. Para calcular su valor se utilizó la siguiente fórmula de acuerdo con Maguire (1962).

$$IVE = \sum \text{No.P/D} + \dots + \text{No.P/D}$$

Donde:

IVE = Índice de Velocidad de Emergencia

No.P = Numero de plantas emergidas

D = Días después de la siembra

Longitud Media de Hipocotilo (LMH) y Radícula (LMR)

Para la evaluación de estas variables se consideraron las plántulas normales de las pruebas de capacidad de germinación e índice de velocidad de emergencia, descritas anteriormente.

Para determinar LMH se utilizó una regla de 20 cm, midiendo cada plántula de cada charola (experimento 1) y caja petri (experimento 2) por tratamiento y repetición, desde el nudo seminal hasta terminar los cotiledones como se muestra

en la Figura 3.8, y mediante la suma de todas las medidas por repetición se dividió entre su número de plántulas para calcular el promedio dado en centímetros.



Figura 3.7 Evaluación de vigor mediante Longitud Media de Hipocotilo y Radícula en Experimento 1 y 2, condiciones de laboratorio.

Para el caso de LMR se determinó considerando nuevamente las mismas plántulas normales de las pruebas y midiendo desde el nudo seminal hasta el término de la raíz principal (Figura 3.8), calculando el promedio y expresado en centímetros.

Peso Fresco (PF)

Para la determinación de esta variable se consideraron las plántulas normales resultantes de las pruebas de capacidad de germinación e índice de velocidad de emergencia, descritas anteriormente. Donde se quitó la testa de cada plántula y se colocaron en una caja petri para ser pesadas en una balanza analítica de 0.0001 g de precisión como se muestra en la Figura 3.9, registrando el peso en miligramos y luego se dividió entre el número de plántulas normales de cada repetición.



Figura 3.8 Determinación del Peso Fresco de la plántula (vigor de semilla) en Experimento 1 y 2 mediante una balanza analítica en condiciones de laboratorio.

Tasa de crecimiento de plántula (Peso Seco PS)

En esta variable se consideraron las plántulas normales de la prueba anterior y se colocaron cada repetición en una bolsa de papel de estraza, luego llevadas a una estufa marca SHELL LAB por 24 horas a una temperatura de $65 \pm 1^\circ\text{C}$ (Figura 3.10), posteriormente se colocaron en un desecador por 15 minutos para enfriar y luego se pesaron las plántulas secas en una balanza analítica de 0.0001 g de precisión, registrando el peso en miligramos y se calculó la tasa dividiendo entre el número de plántulas normales de cada repetición.



Figura 3.9 Determinación del Peso Seco de la plántula (tasa de crecimiento de plántula, vigor de semilla) en Experimento 1 y 2 mediante una balanza analítica en condiciones de laboratorio.

Cuantificación de auxinas

La prueba se realizó, sembrando 15 semillas por repetición de cada tratamiento, en una caja petri de plástico de 9 cm de diámetro sobre un papel filtro whatman No. 1 identificadas por repetición, dosis y tratamiento previamente humedecido con 10 mL de cada tratamiento y dosis. Después se llevaron las cajas sembradas a una cámara de germinadora Marca Biotronette mark a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, con 8 horas luz y 16 de oscuridad por 6 días; transcurrido el tiempo, las plántulas que se obtuvieron se les corto la radícula. La cantidad que se utilizo fue 0.1 gramo por repeticiones de cada tratamiento; se peso para asegurar que se tuviera igual cantidad en cada repetición en una balanza analitica de 0.0001 g de precisión y posteriormente se llevaron al refrigerador en aluminio previamente etiquetados.

Después se prosiguió a moler las muestras en mortero con 3 mL de agua destilada esteril previamente enfriada, por tratamiento y sus repeticiones. Se filtró la muestra, obteniendo 1 mL y colocando el extracto en tubos eppendorf, donde se conservaron en refrigeración previamente etiquetados.

Para cuantificar la cantidad de auxinas presentes en la radícula, se tomó 1 mL del extracto (por cada tratamiento y repetición) y 2 mL del reactivo Salkowsky (Salkowsky *et al.*, 1889; Bric *et al.*, 1991; Gilckman & Dessaux, 1995), con ayuda de una micropipeta de 500 μL y colocados en una celdilla de vidrio (Figura 3.11.a) para la lectura en el espectrofotometro Serie BioMate 3 (Figura 3.11.b); en el testigo se utilizaron 3 mL de reactivo salkowsky para su lectura. Los resultados fueron expresados en mg/ mL .



Figura 3.10 Cuantificación de auxinas de las plántulas normales de Chile habanero, a) una repetición, tratamiento por tubo y b) lectura en el espectrofotometro Serie BioMate 3.

Diseño experimental

La información generada del presente trabajo de investigación se analizó mediante un diseño bifactorial con anidamiento y arreglo en completamente al azar con tres repeticiones; considerando que el factor dosis tuvo un anidamiento en los tratamientos evaluados, cuyo modelo estadístico es:

$$Y_{ij} = \mu + \lambda_i + \beta(\lambda)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = variable observada

μ = media general

λ_i = efecto del factor A (Tratamientos)

$\beta(\lambda)_{ij}$ = efecto del factor B (Dosis) anidado en los tratamientos (factor A)

ε_{ij} = error experimental

Para procesar los datos obtenidos en el estudio se utilizó el paquete estadístico SAS versión 9.0 (2002).

La comparación de medias se realizó mediante la prueba de diferencia mínima significativa (DMS) con un nivel de significancia de $P=0.05$ %. Calculándose mediante la fórmula según Steel y Torrie (1980).

$$DMS = ta (\sqrt{2CMEE/r})$$

Donde:

CMEE: Cuadrado medio del error.

r: número de observaciones usadas para calcular un valor medio.

a: nivel de significancia.

t = valor tabular que se usa en la prueba, con los grados de libertad del error y el nivel de significancia apropiada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1: Condición en sustrato

Capacidad de germinación

En el análisis de varianza para la variable plántulas normales, no se encontraron diferencias significativas en las fuentes de variación tratamientos y dosis dentro de tratamientos, con un coeficiente de variación de 36.45 % como se muestra en el Cuadro 4.1; indicando que la respuesta de las plántulas normales fue similar entre los tratamientos, el coeficiente de variación pudo ser afectado por los valores presentados en esta variable en el rango desde 0 a 87 %. Para la variable PA no se encontraron diferencias en ningún factor, el coeficiente de variación fue de 13.29 %. De igual manera ocurrió para la variable SSG, donde no hubo diferencias significativas en ninguno de las fuentes de variación, teniendo un coeficiente de variación de 55.94 %, siendo nuevamente elevado debido a que se obtuvieron valores de SSG desde 0 hasta 50 %.

Cuadro 4.1 Cuadrados medios y nivel de significancia en la prueba de Capacidad de germinación en semillas de Chile habanero aplicando diferentes tipos de productos comerciales en condición sustrato (Experimento 1).

Fuentes de variación	Grados de Libertad	Plántulas Normales	Plántulas Anormales	Semillas sin Germinar
Tratamientos	3	4.53 ^{NS}	1.75 ^{NS}	9.30 ^{NS}
Dosis (Trat.)	6	4.42 ^{NS}	1.91 ^{NS}	3.27 ^{NS}
Error exp	26	2.49	1.03	4.84
% C.V.		36.45	13.29	55.94

**; *, ^{NS}, Nivel de significancia al 0.05 de probabilidad; %CV = Porcentaje de Coeficiente de variación.

Vigor

En el análisis de varianza de manera general en cuanto a vigor se encontró que, para la variable índice de velocidad de emergencia, no se encontraron diferencias significativas en las fuentes de variación tratamientos y su interacción, con un coeficiente de variación de 5.64 %; indicando que la respuesta de las plántulas emergidas por día fue similar entre los tratamientos. Con respecto a la variable LMH no se encontraron diferencias en ningún factor, el coeficiente de variación fue

de 50.85 % tal como se muestra en el Cuadro 4.2., el coeficiente de variación pudo ser afectado por valores desde 0 a 3 cm, existiendo ocasiones en que la presencia de un solo cero eleva el C.V. hasta en más de un 100%

Así mismo, en dicho cuadro se observa que para la variable LMR no hubo diferencias en ninguno de las fuentes de variación, teniendo un coeficiente de variación de 53.21 %, siendo nuevamente elevado debido a que se obtuvieron valores de 0 hasta 2.050 %.

Cuadro 4.2 Cuadrados medios y nivel de significancia en las prueba de Vigor en semillas de Chile habanero aplicando diferentes tipos de productos comerciales en condición sustrato (Experimento 1).

Fuentes de variación	Grados de Libertad	Índice de velocidad de emergencia	Longitud media de hipocotilo	Longitud media de radícula
Tratamientos	3	5.22 ^{NS}	1.29 ^{NS}	0.17 ^{NS}
Dosis (Trat.)	6	7.04 ^{NS}	0.31 ^{NS}	0.23 ^{NS}
Error exp	26	5.86	0.74	0.33
% C.V.		5.64	50.85	53.21

**; *, ^{NS}, Nivel de significancia al 0.05 % de probabilidad; %CV = Porcentaje de Coeficiente de variación.

En lo que se refiere al análisis de varianza para el peso fresco, no se encontraron diferencias en las fuentes de variación tratamientos y su interacción, con un coeficiente de variación de 82.29 % como se muestra en el Cuadro 4.3; indicando que la respuesta de las plántulas emergidas por día fue similar entre los tratamientos, el coeficiente de variación pudo ser afectado por valores de 0 a 7.92.

Para la variable PS no hubo diferencias en ninguno de las fuentes de variación, teniendo un coeficiente de variación de 114.89 %, siendo nuevamente elevado debido a que se obtuvieron valores de 0 hasta 3.92 %.

Cuadro 4.3 Cuadrados medios y nivel de significancia para peso seco y peso fresco en semillas de Chile habanero aplicando diferentes tipos de productos comerciales en condición sustrato (Experimento 1).

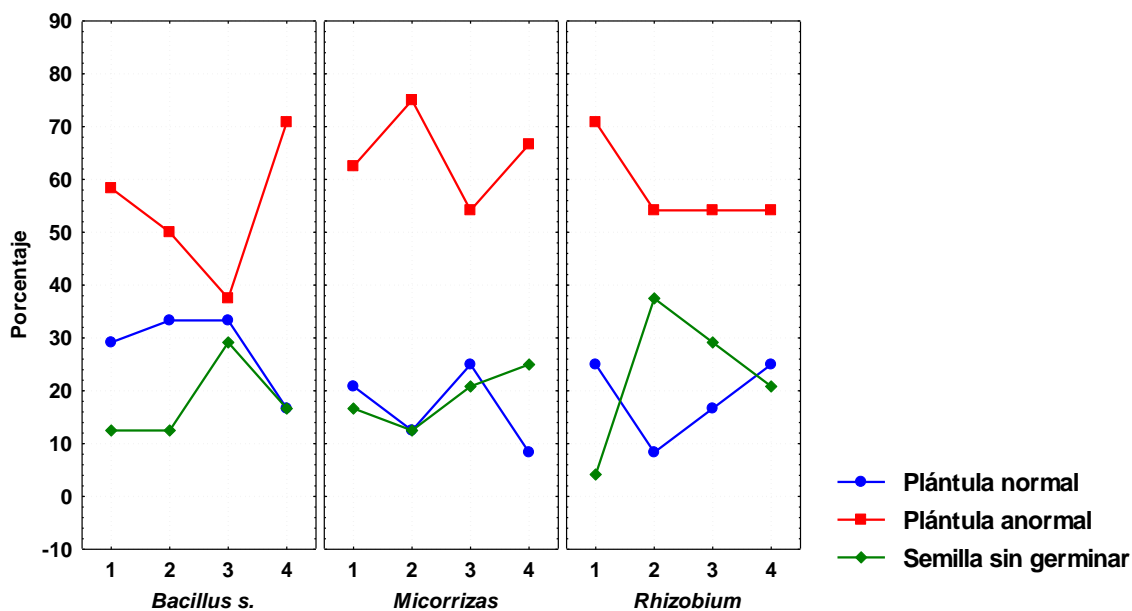
Fuentes	Grados de	Peso fresco	Peso seco
---------	-----------	-------------	-----------

de variación	Libertad		
Tratamientos	3	0.65 ^{NS}	0.08 ^{NS}
Dosis (Trat.)	6	2.93 ^{NS}	0.53 ^{NS}
Error exp	26	6.58	0.94
% C.V.		82.29	114.89

**; *, ^{NS}, Nivel de significancia al 0.01 % de probabilidad; %CV = Porcentaje de Coeficiente de variación

Interacción de los tratamientos con las diferentes dosis

Como ya se mencionó, en la condición de sustrato no existieron diferencias estadísticas entre los tratamientos y sus diferentes dosis en la capacidad de germinación; sin embargo en la Figura 4.1 se presentan algunas las diferencias numéricas, destacando el tratamiento con *Bacillus subtilis* que con la dosis recomendada (2) reduce la cantidad de semillas sin germinar a 12.5 %, sin embargo se obtuvo el mismo valor de 12.5 % con el testigo (1), para la variable plántulas normales se observa que la dosis recomendada (2) se obtuvo un valor de 33.3 % al igual que la dosis baja (3), estas son las que presentan mayor



cantidad de plántulas normales, superando a las demás dosis.

Figura 4.1 Respuesta en la interacción tratamientos y dosis en la prueba de Capacidad de germinación en semillas de Chile habanero aplicando diferentes tipos de productos comerciales en condición sustrato (Experimento 1).

En la Figura 4.2, a pesar de que en el ANVA no se encontraron diferencias significativas en la variable IVE, se logra detectar que se presentan diferencias numéricas, destacando el tratamiento con *Micorrizas*, que con la dosis recomendada (2) aumenta el número de plántulas emergidas por día a 45.63 %, superando a las dosis baja (3) con 41.29 %, a la alta (4) con 42.11 % y al testigo (1) con 42.55 %. Por las tendencias detectadas en dicha figura, probablemente sea necesario disminuir las concentraciones utilizadas y ampliar el rango de observaciones para dilucidar si la tendencia mostrada por las micorrizas pudiera efectivamente afectar el número de plantas emergidas por día.

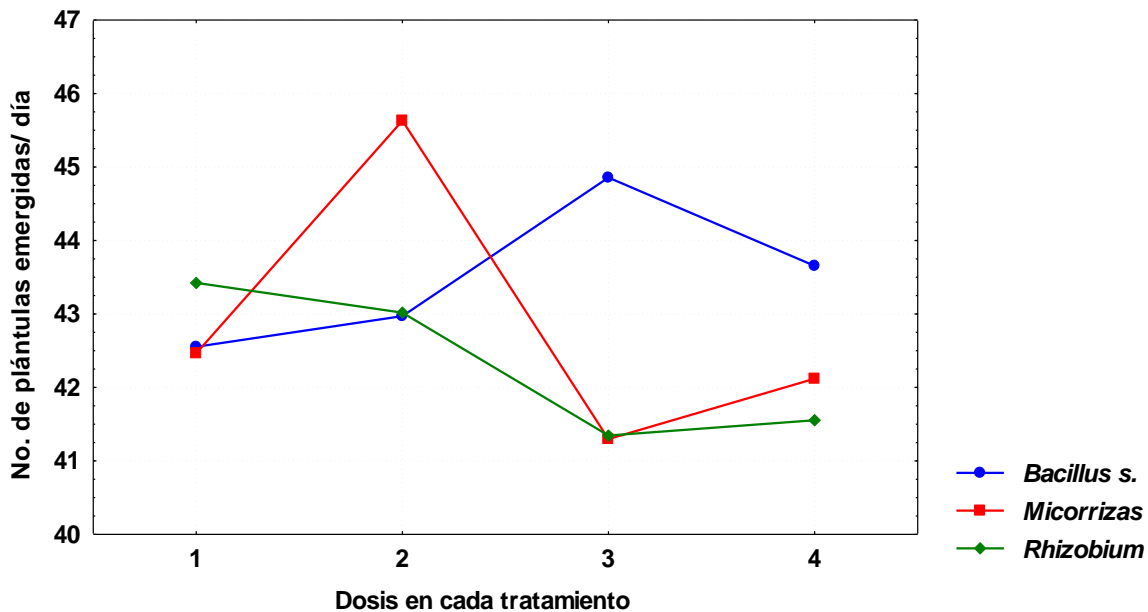


Figura 4.2 Respuesta en la interacción tratamientos y dosis en la prueba de Índice de velocidad de emergencia en semillas de Chile habanero aplicando diferentes tipos de productos comerciales en condición sustrato (Experimento 1).

Así mismo, en la Figura 4.3 se presentan algunas de las diferencias numéricas para la variable longitud media de hipocotilo, destacando el tratamiento con *Micorrizas* con la dosis baja (3) con un valor de 1.92 cm, sin embargo el que obtuvo una longitud media mayor fue el testigo (1) con 2.30 cm, para la variable Longitud media de radícula se observa que con la dosis baja (4) se obtiene una mayor valor siendo este de 1.4 cm.

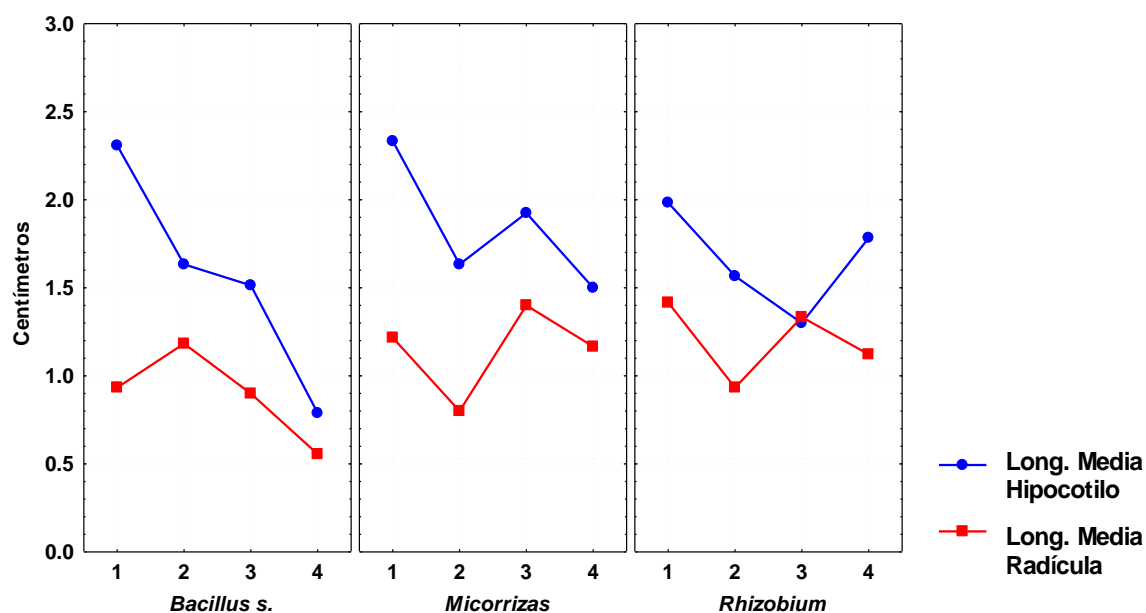


Figura 4.3 Respuesta en la interacción tratamientos y dosis en la longitud medias de radícula y longitud media de hipocotilo en semillas de Chile habanero aplicando diferentes tipos de productos comerciales en condición sustrato (Experimento 1).

En la variable peso fresco, como se muestra en la Figura 4.4, se reflejan algunas de las diferencias numéricas, destacando el tratamiento con *Micorrizas* que con la dosis recomendada (2) obtuvo un valor de 4.82 g/plántula superando a las demás

dosis, para la variable Peso seco se observa que con la dosis la dosis alta (4) con 1.30 g/plántula se obtiene un mayor valor en el peso seco, superando a las demás dosis.

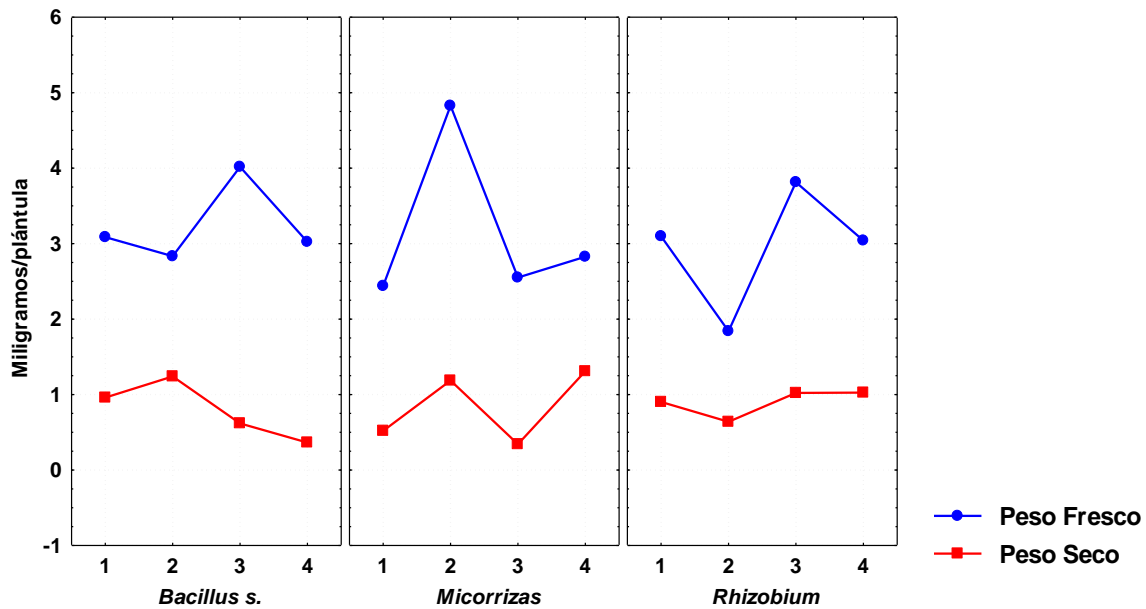


Figura 4.4 Respuesta en la interacción tratamientos y dosis en el peso seco y peso fresco de hipocotilo en semillas de Chile habanero aplicando diferentes tipos de productos comerciales en condición sustrato (Experimento 1).

Experimento 2: Condición en papel

Capacidad de germinación

En el análisis de varianza para la variable plántulas normales, se encontró diferencias significativas para tratamientos, con un coeficiente de variación de 23.34 % como se muestra en el Cuadro 4.4; indicando que la respuesta de las plántulas normales fue diferente entre los tratamientos, por lo que se procedió a

realizar la prueba de medias; Para la variable PA no se encontraron diferencias en ningún factor, el coeficiente de variación fue de 73.03 %, el coeficiente de variación pudo ser afectado por valores desde 0 a 71.42 %.

Para la variable SSG no hubo diferencias en ninguno de las fuentes de variación, teniendo un coeficiente de variación de 42.72 %, siendo nuevamente elevado debido a que se obtuvieron valores de 0 hasta 42.85 %.

Cuadro 4.4 Cuadrados medios, nivel de significancia y prueba de comparación de medias en la prueba de Capacidad de germinación en semillas de Chile habanero aplicando diferentes tipos de productos comerciales en condición sobre papel (Experimento 2).

Fuentes de variación	Grados de Libertad	Plántulas Normales	Plántulas Anormales	Semillas sin Germinar
Tratamientos	3	9.67*	8.23 ^{NS}	4.19 ^{NS}
Dosis (Trat.)	6	0.34 ^{NS}	4.39 ^{NS}	1.22 ^{NS}
Error exp	26	3.77	5.22	2.13
% C.V.		23.34	73.03	42.72

Prueba de comparación de medias

Tratamientos			
1. Testigo		69462	b
2. <i>Bacillus subtilis</i>		8.1210	ab
3. <i>Micorriza</i>		9.2209	a
4. <i>Rhizobium</i>		9.0174	a

**., *, ^{NS}, Nivel de significancia al 0.01 % de probabilidad; %CV = Porcentaje de Coeficiente de variación, En la prueba de comparación de medias los resultados con la misma literal no son significativamente diferentes.

En la variable plántulas normales, la prueba de comparación de medias mostró dos grupos estadísticos como se puede apreciar en el Cuadro 4.4, el tratamiento con mayor porcentaje de plántulas normales fue el tratamiento con *Micorrizas* (3) con 9.22 % sin embargo igual se encuentran dentro del mismo grupo el tratamiento *Bacillus subtilis* (2) y *Rhizobium* (4), quedando el testigo (1) con el menor porcentaje de plántulas normales con 6.94 %. Obviamente la aplicación de algún biofertilizante estimuló la cantidad de plántulas normales en comparación que cuando no se usa alguno de ellos.

Vigor

En el análisis de varianza para la variable índice de velocidad de emergencia, no se encontraron diferencias significativas en las fuentes de variación, tratamientos y su interacción, con un coeficiente de variación de 37.04 % como se muestra en el Cuadro 4.5; indicando que la respuesta de las plántulas emergidas por día fue similar entre los tratamientos, el coeficiente de variación pudo ser afectado por valores desde 0 a 2.39 %.

Para la variable LMH se encontraron diferencias altamente significativas en la fuente de variación tratamientos, indicando que la respuesta de la longitud media del hipocotilo fue diferente entre los tratamientos, por lo que se procedió a realizar la prueba de medias, el coeficiente de variación fue de 30.39 %. Siendo nuevamente elevado debido a que se obtuvieron valores de 0 hasta 8.66 cm. Mientras que para la variable LMR no hubo diferencias significativas en ninguno de las fuentes de variación, teniendo un coeficiente de variación de 24.28 %.

Cuadro 4.5 Cuadrados medios y nivel de significancia en la prueba de Vigor en semillas de Chile habanero aplicando diferentes tipos de productos comerciales en condición sobre papel (Experimento 2).

Fuentes de variación	Grados de Libertad	Índice de velocidad de emergencia	Longitud media de hipocotilo	Longitud media de radícula
Tratamientos	3	0.03 ^{NS}	16.67 ^{**}	0.22 ^{NS}
Dosis (Trat.)	6	0.18 ^{NS}	3.73 ^{NS}	0.32 ^{NS}
Error exp	26	0.37	2.93	0.29
% C.V.		37.04	30.39	24.28
Prueba de comparación de medias				
Tratamientos				
1. Testigo			4.3964	b
2. <i>Bacillus subtilis</i>			4.8043	b
3. <i>Micorriza</i>			5.8867	ab
4. <i>Rhizobium</i>			7.4433	a

** , * , ^{NS} , Nivel de significancia al 0.01 % de probabilidad; %CV = Porcentaje de Coeficiente de variación, En la prueba de comparación de medias los resultados con la misma literal no son significativamente diferentes.

En la prueba de comparación de medias para la variable Longitud media de hipocotilo se reportaron dos grupos estadísticos (Cuadro 4.5), donde el tratamiento con *Rhizobium* (4) obtuvo el valor más alto con 7.44, sin embargo el tratamiento con *Micorrizas* (3) es perteneciente a este mismo grupo, en el otro grupo donde se compara a las micorrizas con *Bacillus* y el testigo, se encuentran incluidos el tratamiento con *Bacillus subtilis* (2) y el que obtuvo menor longitud media del hipocotilo fue el testigo (1) con 4.3964.

Peso Fresco

En el análisis de varianza para la variable Peso fresco, no se reportaron diferencias significativas en las fuentes de variación: tratamientos, dosis y su interacción, teniendo un coeficiente de variación de 61.98 % como se muestra en el Cuadro 4.6; indicando que la respuesta del peso fresco fue similar entre los tratamientos, el coeficiente de variación pudo ser afectado por valores desde 0 a 58.33 mg/ plántula encontrados.

Para la variable Auxinas se encuentran diferencias altamente significativas entre los tratamientos aplicados a la semillas, mientras que en la interacción tratamientos por dosis fue significativa (Cuadro 4.6), lo cual nos indica que la respuesta de concentración de auxinas en al menos uno de los tratamientos, dosis y su interacción fue diferente, por lo que se procedió a realizar la prueba de medias, teniendo un coeficiente de variación de 12.93%.

Cuadro 4.6 Cuadros medios y nivel de significancia para Peso fresco y Auxinas en semillas de Chile habanero aplicando diferentes tipos de productos comerciales en condición sobre papel (Experimento 2).

Fuentes de variación	Grados de Libertad	Peso fresco	Auxinas
Tratamientos	3	127.22 ^{NS}	0.0105 ^{**}
Dosis (Trat.)	6	104.31 ^{NS}	0.0050 [*]
Error exp	26	92.41	0.0022
% C.V.		61.98	12.93
Prueba de comparación de medias			
Tratamientos			Auxinas (ppm)
1. Testigo			0.32367 b

2. <i>Bacillus subtilis</i>	0.37178	a
3. <i>Micorriza</i>	0.36567	ab
4. <i>Rhizobium</i>	0.40733	a

**., *, ^{N/S}, Nivel de significancia al 0.01 % de probabilidad; %CV = Porcentaje de Coeficiente de variación, En la prueba de comparación de medias los resultados con la misma literal no son significativamente diferentes.

En la prueba de medias en la variable Auxinas se encontraron dos grupos estadísticos, el tratamiento que obtuvo la mayor concentración de auxinas fue el tratamiento con *Rhizobium* (4) con un valor de 0.40 ppm, siendo el tratamiento *Bacillus subtilis* (2) y *Micorrizas* (3) del mismo grupo, quedando el tratamiento 1 (testigo) con menor concentración de auxinas con 0.32 ppm.

Interacción de los tratamientos con las diferentes dosis

Como ya se mencionó, en la condición sobre papel para la variable PN no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos; sin embargo en la Figura 4.5 se presentan algunas de las diferencias numéricas entre estos y sus dosis, destacando el tratamiento con *Micorrizas* que con la dosis recomendada (2) reduce la cantidad de semillas sin germinar a 14.28 %, sin embargo con la dosis alta (4) se obtuvo el mismo valor; para la variable plántulas normales se observa que el testigo (1) fue el que presento un menor valor de 61.90, por lo que esto nos lleva a que la dosis alta (4) es la que presentó mayor cantidad de plántulas normales con 88.09 %, sin embargo es muy parecido a la dosis recomendada (2) con 85.71 %, superando a las demás dosis.

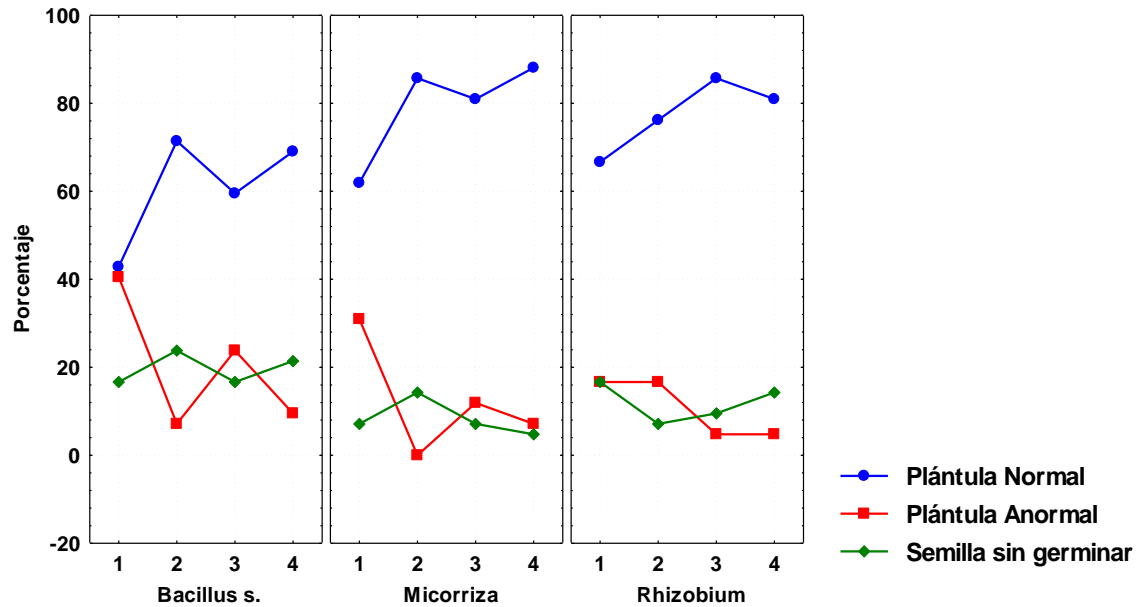


Figura 4.5 Respuesta en la interacción tratamientos y dosis en la prueba de Capacidad de germinación en semillas de Chile habanero aplicando diferentes tipos de productos comerciales en condición sobre papel (Experimento 2).

En la Figura 4.6, dado que en el ANVA no se encontraron diferencias significativas en la variable IVE; se lograron detectar algunas interacciones interesantes, destacando el tratamiento con *Bacillus subtilis* que con la dosis baja (3) aumenta el número de plántulas emergidas por día a 1.93 %, superando a la dosis recomendada (2) con 1.4 % a la alta (4) con 1.57 % y al testigo (1) con 1.64 %.

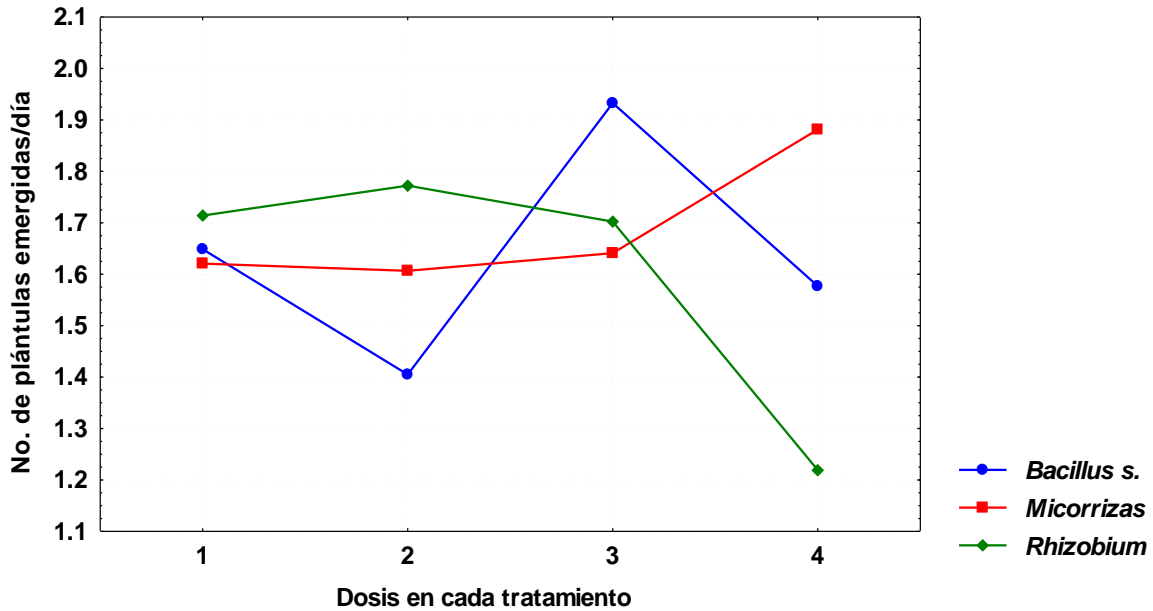


Figura 4.6 Respuesta en la interacción tratamientos y dosis en la prueba de Índice de velocidad de emergencia en semillas de Chile habanero aplicando diferentes tipos de productos comerciales en condición sobre papel (Experimento 2).

En el ANVA para la variable LMH se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos (Cuadro 4.5); sin embargo en la Figura 4.7 se presentan algunas diferencias numéricas, destacando el tratamiento con *Rhizobium*, que en la dosis alta (4), generó un mayor valor, con 8.10 cm superando a las demás dosis, para la variable LMR se obtuvo un valor mayor con la dosis alta (4) con 2.489 cm, presentando una tendencia interesante que se recomienda seguir estudiando.

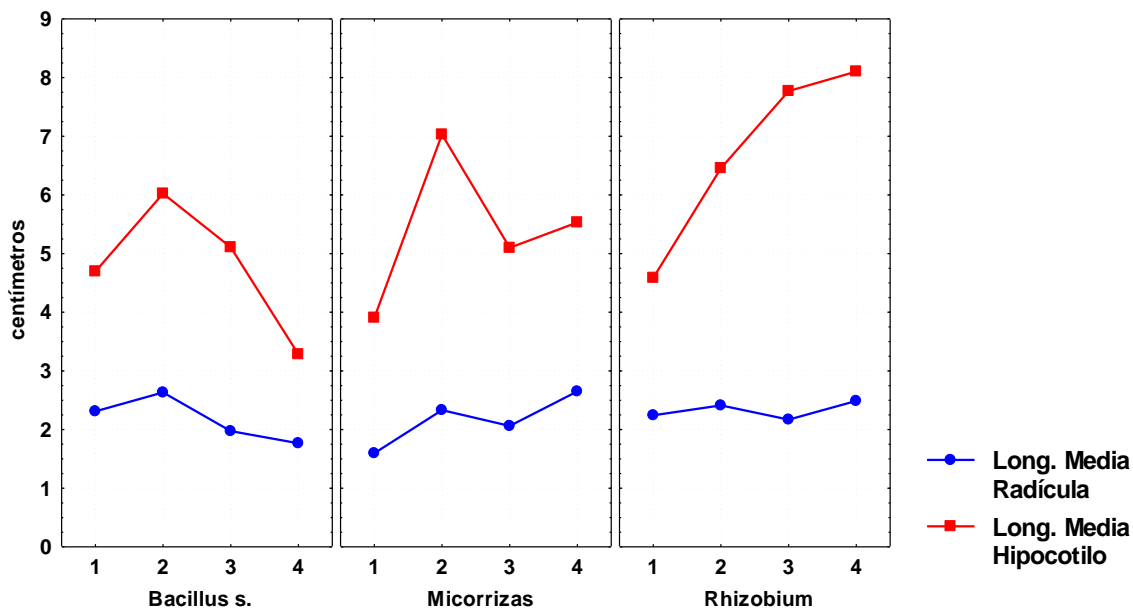


Figura 4.7 Respuesta en la interacción tratamientos y dosis en la longitud media de radícula y longitud media de hipocotilo en semillas de Chile habanero aplicando diferentes tipos de productos comerciales en condición sobre papel (Experimento 2).

En la variable Peso Fresco, como se muestra en la Figura 4.8, se reflejan algunas de las diferencias numéricas, destacando el tratamiento con *Bacillus* que con la dosis recomendada (2) se obtuvo un mayor valor del peso fresco con 28.05 g/plántula, superando a las demás dosis. Una tendencia similar se presentó con la aplicación de micorrizas, aunque de magnitud menor, en tanto la aplicación de *Rhizobium* sugiere la exploración del efecto en dosis mayores.

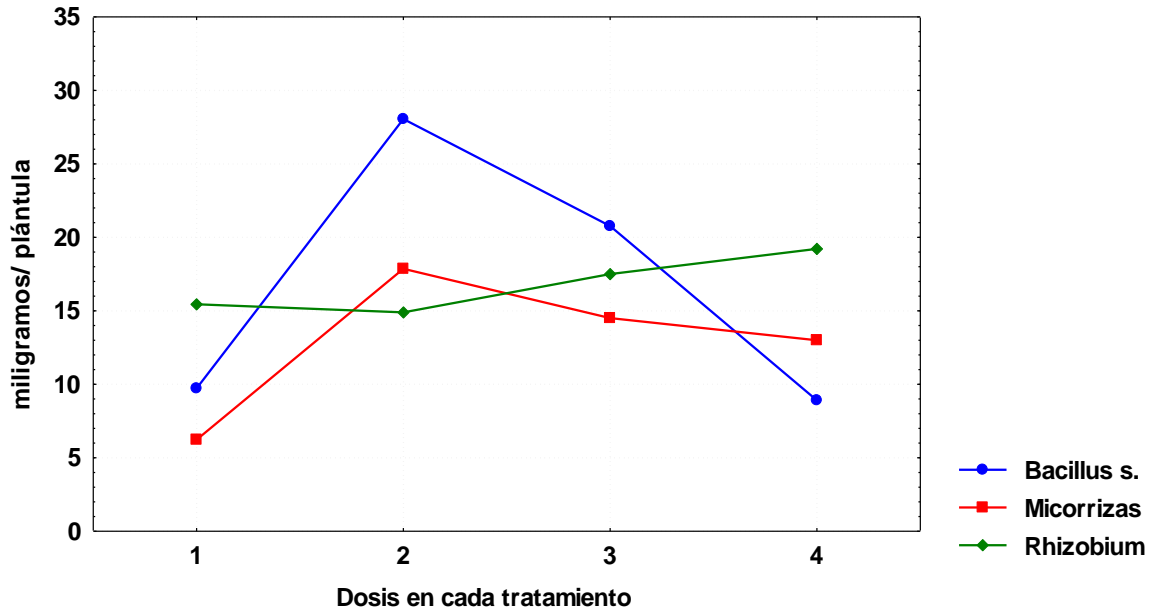


Figura 4.8 Respuesta en la interacción tratamientos y dosis en el peso fresco en semillas de Chile habanero aplicando diferentes tipos de productos comerciales en condición sobre papel (Experimento 2).

Así mismo, en el ANVA para la variable Auxinas se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos y significativas para su diferentes dosis; en la Figura 4.9, se presentan sus interacciones, destacando el tratamiento con *Rhizobium* se observa que con la dosis recomendada (2) se obtuvo una mayor concentración de auxinas con 0.434 ppm, sin embargo fue muy parecido a la dosis alta (4) con 0.422 ppm, pero mostrando siempre un comportamiento superior a los otros biofertilizantes. En tanto que la interacción detectada por el ANVA se debió primordialmente al comportamiento que mostraron las micorrizas en la dosis tres y cuatro, en las cuales se comportó con menor promedio que *Bacillus*.

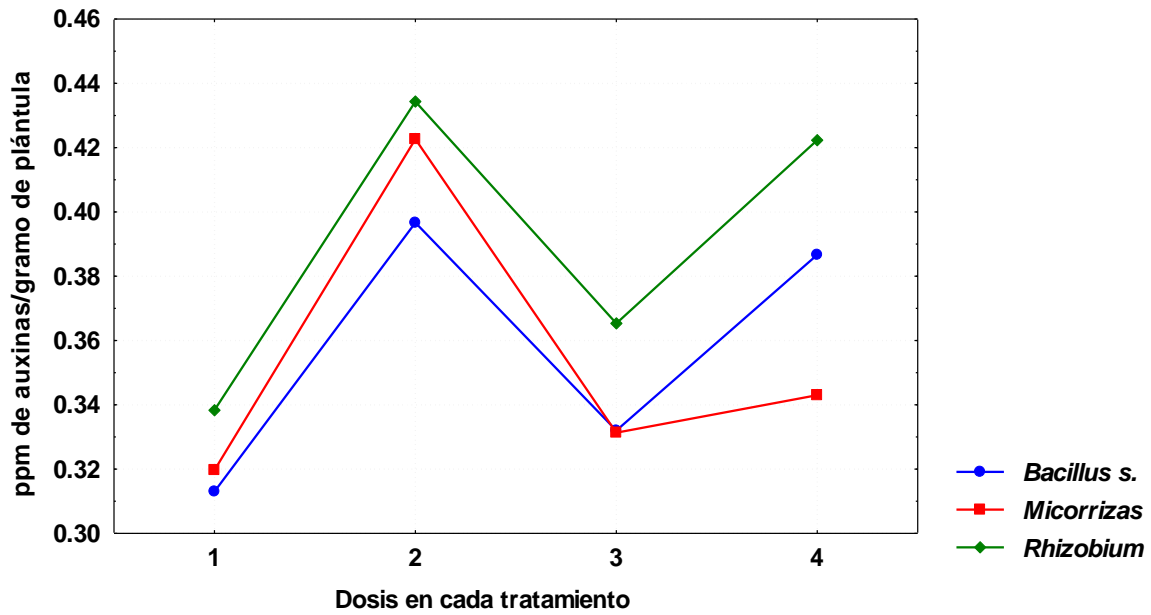


Figura 4.9 Respuesta en la interacción tratamientos y la concentración de Auxinas en semillas de Chile habanero aplicando diferentes tipos de productos comerciales en condición sobre papel (Experimento 2).

Discusión

Actualmente el uso de microorganismos benéficos en la agricultura juega un papel importante en la sostenibilidad de los ecosistemas; es así como la agricultura moderna ha ido incrementando el uso de microorganismos benéficos, tales como bacterias fijadoras de nitrógeno, microorganismos solubizadores de fosfatos y hongos *Micorrizicos*.

Santillana *et al.* (2005), demostraron que las semillas de tomate inoculadas con *Rhizobium* mostraron 100 % de germinación en comparación con el testigo que presento el 80 % de germinación; en este trabajo en el experimento 2 en condiciones de papel, se confirma que la adición de biofertilizantes (como *Rhizobium*) incrementó el número de plantas normales en comparación con el testigo utilizado.

Soriano *et al.*; 2012 demostró en su experimento que las plántulas de *C. annum* L. Var. Longum “paprika” y *L. sativa* inoculada con *Rhizobium* incrementó significativamente la altura de la plántula y longitud de hojas en comparación con el testigo, este estudio tiende a confirmar que *Rhizobium* puede ayudar en la elongación de tallos, ya que en el experimento 2 (condición de papel) para la variable longitud media de hipocotilo, se obtuvieron diferencias altamente significativas siendo *Rhizobium* el tratamiento que presentó el mayor valor con la dosis alta, en el mismo grupo de significancia con las micorrizas.

Dey *et al.*, 2004 demostraron en un experimento que *Rhizobium* presentó efecto estimulante en la semillas debido a la habilidad para producir hormonas como el ácido indol acético, ácido giberélico y citoquininas, sustancias reguladoras del crecimiento de las plántulas confirmando con el presente estudio que el contenido de auxinas en condición sobre papel se obtuvieron diferencias altamente significativas para los tres tratamientos (*Bacillus subtilis*, *Micorrizas*, *Rhizobium*)

mostrando una mayor respuesta que el testigo, afirmando lo que Chabot *et al.* (1996), Yanni *et al.* (2001) y Perrine, *et al.* (2004) entre otros, quienes sostienen que las moléculas promotoras del crecimiento como el ácido indol acético, las giberelinas y las citoquininas producidas por los rizobios, estimulan el desarrollo de la raíz y realizan la capacidad de absorción de nutrientes de la raíz en beneficio de la planta no leguminosa, aumentando de esta manera el desarrollo y vigor de la planta.

Garruña *et al.* (2014); hacen mención que las semillas de chile habanero disminuyen su germinación después de periodos de almacenamiento superiores a los 100 días, y que los tratamientos de acondicionamiento con KN03, PEG y ABA los revigorizan, aceleran y uniforman la germinación de las semillas del género *capsicum*, confirmando esto en el ensayo sobre papel donde se logró detectar diferencias en el número de plántulas normales de los biofertilizantes en comparación con el testigo.

CONCLUSIONES

Una vez obtenidos y analizados los resultados del presente trabajo se logró concluir que:

La mejor respuesta fisiológica y bioquímica en el desarrollo de plántula de chile habanero a partir de semilla aplicando biofertilizantes más ácido giberelico se logró en el experimento 2 (condición en papel).

No se encontraron diferencias en la respuesta fisiologica de semilla de chile habanero al aplicar diferentes dosis de biofertilizantes (*Bacillus subtilis*, Rhizobium, y *Micorrizas*) más ácido giberelico mediante pruebas de laboratorio en una condición de sustrato.

El Rhizobium es el que mostró mayor potencial que los otros tratamientos estudiados en cuanto al vigor y concentración de auxinas.

El uso del sustrato (peat moss) pudo afectar el desempeño de los microorganismos estudiados, por lo que se recomienda el uso de diferentes sustratos con mejores características.

LITERATURA CITADA

- Aguilera, G. L. I; Olalde, P.V; Arriaga, M.R; Y Contreras, R. Alonso. 2007, *Micorrizas arbusculares*. Ciencia Ergo Sum. 14 (3): 300-306.
- Alisedo, A. M. 2000. Auxinas, citoquininas y giberelinas. Nuevo enfoque en la aplicación de las hormonas de crecimiento. Productores de hortalizas. Meister Publishing. Pp. 42-44
- Alarcón, A y Ferrara, C.R. 2012. Biofertilizantes: Importancia y utilización en la agricultura. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 26(2): 191-203.
- AOSA. (Association of Official Seed Analysts) 1992. Vigor Testing handbook. Contribution No.32 to the handbook of seed testing). USA. 6:1-126.
- Avalos, C. 2009 El polémico Uso de los Agroquímicos. Ecología, Revista Generación, Numero 134.13
- Balandreau, J y Knowless, R. 1978. The rhizosphere, Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants. Krupa S.V. Amsterdam Elsevier. (4), 243-268.
- Barreiro, P.M. 1998. Una hortaliza de México para el mundo. Claridades Agropecuarias, (56). SAGARPA. México, D.F
- Bashan, y Holguin, G. 1998. Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol-PGPB (plant growth-promoting bacteria) and PGPB. Soil Biology and Biochemistry, 30 (8), 125-1228
- Bazin, M. j; Markham, P; Scott, E. M. y Lych. J. M. 1990. Population dynamics and rhizosphere interactions En: The rhizosphere. J. M. Lynch (ed.). John Wiley sons. Chichester. 99-127

- Bewley, J.D. and M. Black. 1985. Seed physiology of development and germination. Plenum Press, New York. P. 1-26, 98-126.
- Bidwell. R.G.S. 1996 Reguladores de crecimiento de las plantas en la agricultura 8°, Reimpresión. Ed. Trillas. México. pp. 461-463.
- Bric J.M. Bostock R.M. Silvestone S.E. 1991. Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. Applied an environmental microbiology, Vol 57 No. 2 535-538.
- Burke D.J; A.M. Kretzer, P.t. Rygiewicz & M.A. Topa 2006. Soil bacterial diversity in a loblolly pine plantation: Influence of ectomycorrhizas and fertilization. FEMS Microbiology Ecology 57: 409-419.
- Butt T.M; J. G. Harris and K.A. Powell. 1999. Microbial Biopesticides. The European scene in Biopesticides use and Delivery. Ed. F. R. Hill and J. J. Menn. Humana Press, N. J. Pp: 23-44
- Caballero, J. 1998. El género *Azospirillum*. Programa de Ecología Molecular y Microbiana. Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno. UNAM.
- Caballero, J. 2009 Uso de biofertilizantes en la agricultura nacional, [Http://www.invdes.com.mx/suplemeto-noticias/416-uso-de-biofertilizantes-en-la-agricultura-nacional](http://www.invdes.com.mx/suplemeto-noticias/416-uso-de-biofertilizantes-en-la-agricultura-nacional).
- Carballo-Butista, M; Centurión-Yah, A; Tamayo-Canul, E; Sauri-Dutch, E; y Lugo-Jiménez, N. 2010. Efecto del sistema de cultivo sobre la calidad microbiológica del chile habanero (*Capsicum chinense Jacq.*). Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, vol. 11, núm. 2, diciembre, 2010, pp. 171-179
- Carrillo-Castañeda, G.; Juárez, J.; Ruiz, D. y R. Müller, 2000. Aumento del Rendimiento de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) cuando la raíz se desarrolla colonizada por microorganismos. Biotecnología Aplicada. 17: 171-176.

Castellanos, J. Z. Y Muñoz R. J. J. 2003. Curso internacional de producción de hortalizas en invernadero. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Celaya, Guanajuato.

Chabot R. Antoun H; Kloepper J.W. & Beauchamp C.J. 1996. Root colonization of maize and lettuce by bioluminescent *Rhizobium leguminosarum* biovar. Phaseoli. Appl Environ, microbiol. 62: 2767-2772

Chakravarty U, & Purkayastha R.P. 1984. Role of Rhizobitoxine in protecting soybean roots from *Macrophomina phaseolina* infection. Can. J. Microbiol. 30: 285-289.

Comité Nacional Sistema Producto Chile. Plan Rector Nacional 2014. Órgano Desconcentrado de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).
http://www.conaproch.com/descargas/PLAN_RECTOR_2014.pdf

Cronquist. A. 1986. Introducción a la botánica. Segunda Edición, México CECSA, 1986 pp 610-612,

Comité Nacional Sistema Producto Chile. Plan Rector del Sistema Producto Chile 2010. Órgano Desconcentrado de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).
http://www.conaproch.com/descargas/PLAN_RECTOR_2010.pdf

Cuenca, G; Cáceres, A; Oirdobro, G; Hasmy, Z; y Urdaneta, C. 2007. Las *Micorrizas* arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. Interciencia, 32(1), 23-29.

Cuesta y Mondaca 2014. Efecto de un bioregulador a base de auxinas sobre el crecimiento de plantas de tomate. Revista Chapingo serie horticultura vol.20 no.2.

Daniels, B. and J. Trappe 1980. Factors affecting spore germination of the vesicular arbuscular micorriza fungus, *Glomus epigaeus*. Micologá. 72: 457-471.p.

- Lucas, R.E. y Davis, J.F.1978. Depart. Of crop and soil sciencies. Michigan state university. Introducción a los suelos y al crecimiento de las plantas. Ed prentice/hall international.Vol.6. No. 5. Pp. 16-18
- Devlin, R. M. 1982. Fisiología vegetal. Ed. Omega. Barcelona. España. P. 353-409.
- Dewitt D. and Bosland, P. w. 2000. Peppers of the world an identification guide. P.Ten Speed Press, Berkley, California 57-61.
- Tun D; C. 2001; Características y tecnología de producción de chile habanero en el estado de Yucatán 2001. SAGARPA, INIFAP-PRODUCE. Mérida, Yuc. México 74 p.
- Dey R; Pal K; Bhatt D.M. & Chauhan S.M. 2004 Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hipogea L.*) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. Microbiological Research. 159:371-394.
- DOF. 2010.; Diario Oficial de la Federación: Declaratoria general de la protección de la denominación de origen del chile habanero de la península de Yucatán.
- Escobar M.M. 1994. Diagnóstico de la producción de chile pimiento (*Capsicum annum*) en la aldea Barcelona, Villa Nueva. EPS. Universidad de San Carlos. Facultad de Agronomía. 33 p.
- Essalmani H. & Lahlou H. 2003. Mécanismes de bioprotection des plantes de lentile *Rhizobium leguminosarum* contre *Fusarium oxysporum* sp. Lentis. C.R. Biologies, 326: 1163-1173.
- FAO 2013. Datos estadísticos FAOSTAT. Disponible en: (<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>).
- Gepstein, S; and I. Llann. 1980. Evidence for the involvement of cytokinins in the regulation of proteolytic activity in cotiledons of germinating beans. Plant Cell Physiol. 21: 57-63.

- Guerrero, E; Azcón, C; Barea, J; Moyersen, B; Orozco, C; Cano, C; Mejia, D; Mayer, J; Rivillas, C; Y Rivera, E. 1996. Micorriza: fundamentos biológicos y estado del arte. *Micorrizas: recurso biológico del suelo*. Fondo FEN Colombia Bogotá.
- Fernández, F.; R. Ortiz, 1997- The effect of comercial arbuscular mycorrhizal (AMF) inoculants on rice (*Oryza sativa*) in different types of soils. *Cultivos Tropicales*, 18 (1): 5-9.
- Frank, B 1879 'Ueber die parasiten in den Wurzelan-schwillungen der papilionaceen' *Botanik Zeitung*, vol 37, pp 376-387, 394-399
- Garrison F.H., An Introduction to the History of Medicine, 4th. Edition. W.B. Saunders, 1929. Philadelphia. pp 255-256.
- Garruña. H. Latournerie.m. Ayala. G. Santamaria. Pinzón.L. 2014 Acondicionamiento pre-siembra Una opción para incrementar la germinación de semillas de Chile Habanero (*Capsicum chinense* Jacq).Colegio de postgraduados Campus Montecillo. *Revista Agrociencia* vol.48 no.4 México jun. 2014
- Gepstein, S; and I. Llann. 1979. Cytokinin-induced amyloclastic activity in bean cotyledons: identification of the regulated enzyme. *Plant Cell Physiol*. 20: 1603-1607.
- Gilckman E. Dessaux Y. 1995. A critical examination of the specificity of the Salkowsky reagent for Indolic compounds Produced by phytopathogenic bacteria. *Applied and environmental microbiology*, Vol 61 793-796.
- González, C.M.C 2005. Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosféricos. *Terra*, 23 (1), 29-37.
- Cuervo 2010. Aislamiento y caracterización de *Bacillus* spp como fijadores biológicos de Nitrógeno y solubilizadores de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales Tesis licenciatura. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá D.C.

Hartmann, H y D. E. Kester. 1995. Propagación de plantas. Ed. Continental. México. P. 51-58.

Hassan Dar G; Zargar M.Y. & Beigh G.M. 1997. Biocontrol of *Fusarium* root rot in common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by using symbiotic *Glomus mosseae* and *Rhizobium leguminosarum*. *Microb. Ecol.* 34: 74-80

Hellriegel, H. and Wilfarth, H. 1888. Untersuchungen über die Stickstoffnahrung der Gramineen und Leguminosen. *Zeitschrift für die verschiedene Rubenzucker des Deutschen Reichs. Beilageheft.* NCSU Libraries. p. 262.

Hurtado, M. D y M.E. Merino. 1987. Cultivo de tejidos vegetales. Ed. Trillas. México. p. 49-63

Ibar, L. y Jusacafresa B. 1997. Tomates, pimientos, Berenjenas. Editorial Aedos. Barcelona. 75-116 pp.

INIA-SARH, 1984. Guía para producir chile habanero en suelos arables de Yucatán. folleto para productores no. 7 SARH. INIA. CIAPY. CAEUX. Mérida, Yucatán, Mex. 14 p.

INIFAP. 2012 Sabor de México con el chile habanero de Yucatán. Folleto informativo 8 pp.

International Seed Testing Association (ISTA). 1996. International rule for seed testing. Rules 1996. *Seed Sci & Technol.* Zürich. Switzerland. PP 24: 1-333.

Izco, J. 2004. Botánica. Mc. Graw Hill- Interamericana. México. 508p.

Jarvis, W. R. and R.A. Shoemaker. 1989. Taxonomic status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root rot of tomato. *Phytopathology* 68:1679-1680.

Katam. J. 1993. Replacing pesticides with nonchemical tools for the control of soilborne pathogens – A realistic goal? *Phytoparasitica*, 21 (2), 95-99.

- Kloepper, J.W; Schroth, M.N; and Miller, T.D. 1980. Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology*. 70:1078-1082.
- Laborde, C.J.A. Y Pozo C.O. 1982. Presente y pasado del chile en México. Publicación especial no.8, SARH INIA México D.F.
- Laborde, C.J.A. Y Pozo C.O. 1984. Presente y pasado del chile en México, 2ª Edición, SARH INIA México D.F.
- Long, S.J. 1986. *Capsicum* y cultura. La historia del chili. Fondo de Cultura Económica, México D.F.
- Long, S. J. 1998. *Capsicum* y cultura: La historia del chilli. (2ª ed.) México. Fondo de cultura Económica. pp. 77-81.
- López, P. G.; A. F. Canto, y N. B. Santana. 2009. El reto biotecnológico del chile Habanero. *Ciencia* 60: 30-35.
- Losano, R.J.M. and R. Ascón. 1995. Hypal contribution to water uptake in micorrizal plants as affected by the fungal species and water estatus. *Physiología plantarum*; 95:472-478.P.
- Lucy M; Reed E; y Glick B.R. 2004. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 86(1), 1-25
- Macías. R; J. Muños.V.; vélasquez.V. Postisck. T. Villa.C.2013. Chile Habanero: Descripción de su cultivo en la Península de Yucatán. *Revista CHAPINGO serie zonas áridas*.12(2):37-43.
- Madigan, M.T. and Martinko, J. M. 2006 *Brock biology of microorganisms*, 11th ed. Pearson Prentice-Hall Upper Saddle River, NJ. Toronto: Prentice- Hall
- Maguire, J. D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. *Crop science*, Madison, 2(2):176-177.

Mhadhbi H; Jebara M; Limam F. & Elarbi Aouani M. 2004 Rhizobial strain involvement in plant growth, nodule protein composition and antioxidant enzyme activities of chickpea-rhizobia symbioses: modulation by salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*. 42: 717-722

Maroto, B.J.V. 1986. *Horticultura herbácea especial*. Madrid: Mundi Prensa, p. 207

Marx, D. H. 2004. La Preservación del Sistema Radical en el trasplante es esencial para una reforestación exitosa, PHC, información técnica - PHC de México. 86: 1-25

Medina, E.J.A. 1984. Guía para Producción de Habanero en la Zona Henequenera. p. 127.

Medina, J. A; Garza, M.B.I; prado, A.D; cabrera, O. A. G; Osti, C.L; & Baeza, Á. G. 2009. Los biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México. INIFAP, Folleto Técnico (5). Campo experimental rosario Izapa, Tuxtla chico, Chiapas, México. 86.

Mojarro, B. 1997. Precosidad y alto rendimiento. *Revista de productores de Hortalizas*, mes de mayo. México.

Moreno, M.E. 1996. Análisis químico y biológico de semillas agrícolas. Universidad Nacional Autónoma de México, México. ISBN, Pp. 259 y 260.

Muntañola 1997 *Guía de los hongos microscópicos ediciones omega*. S.A. Barcelona.

Muñoz- Carrillo, C. 2005, Plan de mercadeo. En: Seminario de Chile Habanero. *Memorias Complicadores: Hector Torres Pimentel y Carlos Franco Cáceres*. SAGARPA-INIFAP, Fundación PRODUCE Yucatán, México. pp. 87-101.

- Muñoz F; I.B. Pinto C. 1966. Taxonomía y distribución geográfica de los chiles cultivados de México. Folleto misceláneo No. 15. INIA-SAG. México. 23p.
- Núñez. M; Santillana, N. & Zúñiga Dávila, D. 2005. Evaluación de cuatro cepas de *Rhizobium* en *Vicia faba* L. var. Rojo Mantaro en condiciones de campo. *Naturaleza y Desarrollo*. 3(2): 41-47
- Ochoa, A. N.; 2001. Usos y propiedades del chile habanero. Seminario de chile habanero. Memorias. Fundación produce Yucatán. SAGARPA. INIFAP. Mérida Yucatán.
- Ochoa- Alejo, N; Gómez-peralta, J.E. 1993. Activity of enzymes involved in capsaicin biosynthesis in callus tissue and fruits of chili pepper (*Capsicum annuum* L.) *J. plant Physiol*. 141:147-152
- Ondarza. N.R. 1980. Los reguladores de las plantas y los insectos 2ª edición. Consejo Nacional de Ciencia Y tecnología. México. 62 p.
- Perrine F; Rolfe B; Hynes M. & Hocart C. 2004. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of indolacetic acid and tryptophan of *Rhizobium* exudates *Plant Physiology and Biochemistry*. 42: 723-729.
- Piña, Jaime, 1982 Habanero Inia y Habanero uxmal nuevas variedades de chile para la península de Yucatán. Instituto Nacional de Investigaciones agrícolas. SARH. México. p. 11.
- Prado. U.G. 2006. Tecnología de producción comercial del chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq). Instituto para el desarrollo de sistemas de producción del trópico húmedo de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, 43 P.
- Pickersgill, B. 1971. Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (genus *capsicum*). *Evolution*. 25-683-691.

- Ramirez J.G; Avilés, B. W; Dzib, E.R; 2006. Áreas con potencial productivo para chile habanero (*C. chinense Jacq*) en el estado de Yucatán. En : Primera Reunión Nacional Agrícola y Forestal (RENAF). COFUPRO, A. C; SAGARPA-INIFAP, UACH, CP, CYCY, UAM-Xochimilco, y otras, Mérida, Yucatán, México, pp. 66-67
- Ramírez, M.M.1989. Clasificación y genotipos de chile serrano (*Capsicum annum*) según su resistencia y susceptibilidad a altas temperaturas. Tesis maestría UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah. México.
- Ramírez, M.M y Vázquez, G. E. 2007. Potencial de producción del chile habanero (*Capsicum chinense Jack*), en el sur de Tamaulipas. INIFAP Campo Experimental Sur de Tamaulipas. Apartado Postal No. 31, Altamira, Tamaulipas; CP 89601, México.
- Raven, P.H.; Evert, R. F.; Eichhorn, S.E. 1996. Biología vegetal. 5. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 728p.
- Readead, J. 1975. Some aspect of the ecology of the endotrophic mycorrhizal asociación of khaya grandifolia C. D. C. Endomycorrhizas, en. London, Academic Press. 70: 447-459. P.
- Reyes, I; Alvarez, L; El-Ayoubi, H; y Valery, A. 2008. Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimentón y maíz. Bioagro, 20 (1) ,37-48.
- Rivera, C. R. A.; F. F. Martín, 2003. El manejo efectivo de las simbiosis micorrizicas, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El caribe, ediciones INCA. La Habana, 166: 959-7023
- Rodríguez H. & Fraga R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances. 17: 319-339.
- Rojas. G. M. Y H. Ramírez. 1993. Control hormonal del desarrollo de las plantas 2ª edición. Ed. Limusa. México. 263 p.

Rojas. G.M. Y R. J. G. Vázquez. 1995. Manual de herbicidas y fitorreguladores Aplicación y uso de productos agrícolas. 3ª. Edición, Ed. Limusa. México. 157 p.

Ruiz, O.M. 1983. Tratado elemental de botánica. Décima quinta edición. E.CLAS México, D.F 730p

Salazar. G. Cossio. V. González-D. 2007. Uso de biorreguladores vegetales para mejorar la productividad del aguacate "hass" en Nayarit. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas Y Pecuarias. INIFAP 2007. Centro de Investigación Regional Pacífico Centro (CIRPAC).

Salisbury F.B. y Ross C.W. 1994 Fisiología vegetal, editorial Iberoamérica, México D.F.

Salkowsky, E. 1889. Ueber die Bildung von Flüchtigen bei der ammoniakalischen Harnsäureurung. Zeitschrift Für Physiologische Chemie 13:264-274.

Santillana N, C Arellano, D Zúñiga 2005 Capacidad del *Rhizobium* de promover el crecimiento en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller). Ecol. Aplic. 4:47-51

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera 2013: disponible en: (<http://www.isap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado//>)

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera 2014. disponible en: (<http://www.isap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado//>)

Sessitch J; Howicson x; Perret H; Antoun H. Martinez-Romero E. 2002. Advances in Rhizobium Research Critical Reviews in Plant Sciences. 21, Issue 4, 1:323-378.

- Silvia E. BARRER 2009. El uso de hongos micorrizicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. Escuela de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia.
- Smith, S.E; y Read, D.J. 1997. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, Inc, San Diego Ca, 3 (1).
- Soria, F.M. 1993. Producción de hortalizas en la península de yucatán, SEP DEGETA, Yucatán, México.
- Soria, F. M.; A. Trejo, J. y Tun, R. Saldívar, 2002, *Paquete tecnológico para la producción de chile habanero (Capsicum chinense Jacq.)*, Secretaría de Educación Pública/SEIT/Instituto Tecnológico Agropecuario de Conkal, Yucatán.
- Soriano, B. Y González Varas 2012. Efecto de la inoculación de *Rhizobium etli* sobre el crecimiento vegetal de Páprika, *Capsicum annum* var. Longum, and lettuce, *Lactuca sativa*. Revista Científica dela Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Nacional de Trujillo. Peru. Vol. 32, N° 1, PP 31-103.
- Smith, P.G; Heiser, C.B. 1957. Taxonomy of. *capsicum sinense* Jacq. and the geographic distribution of the cultivated *Capsicum species*. Bull. Torrey Bot. Club 84: 413-420
- Smith R; Aguilar, J.L; Baameur, A; Cahn, M; Cantwell, M; De la Fuente, M; Hartz, T; Koike, S; molinar, s; Molinar, R; natwick, E; Suslow, T; y Takekele, E. 1998. Chile Pepper production in California. Agriculture and Natural Resources. University of California. 2-5
- Tesar. B. M. 1988. Physiological basis of crop growth and development. American Society of Agronomy Crop Science of American. United States of America. Pp. 51, 53-90.
- Sprent. J. I. and Sprent, P. 1990. Nitrogen fixing organisms. Pure and applied aspects. Londo, U.K.; Chapaman- Hall. 256 p.
- Torres, P.H. y Franco, C.C. 2005, Seminario de chile habanero memoria. INIFAP. Mérida, Yucatán. México. Pp. 13-18

- Trujillo, A. J. 2001. Descripción varietal del chile habanero (*Capsicum chinense* J.). Seminario de Chile Habanero. Memorias. Fundación produce Yucatán, SAGARPA, INIFAB. Mérida Yucatán.
- Trujillo-Aguirre, J.J.G Y Pérez-Ilanes, C del R. 2004. Chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq) diversidad varietal. Centro de Investigación Regional del Sureste, INIFAP, Campo Experimental Uxmal, Yucatán, México. pp. 5-23-
- Trujillo, A. J. 2005. Descripción varietal del chile habanero (*Capsicum chinense* J.). In H.P. Torres, C.C. Franco (eds). Seminario de Chile habanero. Fundación Produce Yucatán, A.C. Memoria. México.
- Tun, Dzul y Cruz J. 2001. Manejo integrado de enfermedades de Chile habanero, *Memoria*, Seminario de Chile Habanero, INIFAP-Produce.
- Tun, D. J. 2001. Chile habanero. Características y tecnología de producción. INIFAP. Yucatán, México. 3-20 p.
- Valadez, A. 1998. Producción de Hortalizas, Ed. Uteha Noriega. México D.F. Limusa, 1998.
- Vessey; J.K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255(2), 571-686.
- Wang, E.T.; Martínez Romero, J. & López Lara, I. 2001. Rhizobium y su destacada simbiosis con plantas. En: Microbios. (Eds. E. Martínez Romero y J.C. Martínez Romero). Centro de Investigaciones sobre Fijación de Nitrógeno. Universidad Nacional Autónoma de México, México
- Weaver. J. r. 1996. Reguladores de crecimiento de las plantas en la agricultura 8ª reimpresión. Ed. Trillas. México. P. 113-155.
- www. Faostat. Fao.org. portal de Organización de las Naciones Unidas par la Agricultura y la Alimentación (FAO) que permite el acceso a más de 3 millones de series cronológicas y de datos con relación a la alimentación y agricultura. <http://faostat3.fao.org/home/E>

- Yanni Y; Rizk R; Fattah F.K. & Squartine A. 2001. The beneficial plant growthpromoting asociation of *Rhizobium leguminosarum* bv. *Trifolii* with rice root. Australian Journal of Plant Physiology. 28: 845-870.
- Young, J. M.; L. D. Kuykendall, E. Martinez- Romero, A. Kerr and Sawada, H. 2001. A revisión of *Rhizobium* Frank 1889, with an emended description of the genus, and the inclusión of all species of *Agrobacterium* Conn 1942 and *Allorhizobium undicola* de Lajudie et al, 1998as new combinations: *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogenes*, *R. rubi*, *R. undicola* and *R. vitis*. *Int. J. Syst Bacteriol.* 51:89-103
- Zher, J.P; M. Wyman, V.Miller, L. Duguay, and D. G. Capone. 1993. Modification of the iron protein of nitrogenase in natural populations of *Trichodesmium thiebautii*. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:669-676.