

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Efecto de la Aplicación Exógena de Consorcio de Bacterias Fijadoras de Nitrógeno
en el Crecimiento y Rendimiento de Calabacita (*Cucurbita pepo* L.)

Por:

MARGARITO JOVANI OLIVA PALMA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Efecto de la Aplicación Exógena de Consorcio de Bacterias Fijadoras de Nitrógeno
en el Crecimiento y Rendimiento de Calabacita (*Cucurbita pepo* L.)

Por:

MARGARITO JOVANI OLIVA PALMA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Armando Hernández Pérez

Asesor Principal



Dra. Aida Isabel Leal Robles

Coasesor



Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal

Coasesor



Dr. José Antonio González Fuentes

Coordinador de la División de Agronomía



Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Diciembre 2019

DEDICATORIA

A DIOS, al señor Santiago Apóstol, quienes inspiraron mi espíritu para la conclusión de mi carrera profesional y la culminación de esta tesis.

A mis padres Margarito y Sofía quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre.

A la memoria de mi abuela Leopoldina Silva Noyola †, por sus cuidados en mi infancia y quién me animó en este campo de estudio. Su ejemplo me mantuvo soñando cuando quise rendirme. Y sobre todo sus palabras que siempre están en mi mente aquellas palabras que me dijo "te vas por qué quieres ser grande y sé que lo lograras", palabras que en todo momento están en mi mente, que cada vez que quería rendirme fue y seguirá siendo mi aliento para seguir en pie.

A mis hermanos Rey Oliva, Felipe Oliva, Nayeli Oliva, Viviana Oliva, Tania Oliva y Matilde Oliva, por su cariño y apoyo incondicional, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento gracias. A toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

A mis maestros quienes nunca desistieron al enseñarme, aun sin importar que muchas veces no ponía atención en clase, a ellos que continuaron depositando su esperanza en mí.

Finalmente quiero dedicar esta tesis a todas mis amigos y amigas, por apoyarme cuando más las necesito, por extender su mano en momentos difíciles y por la amistad brindada cada día.

AGRADECIMIENTOS

Dios, tu amor y tu bondad no tienen fin, me permitiste sonreír ante todos mis logros que son resultado de tu ayuda, y cuando caigo y me pones a prueba, aprendo de mis errores y me doy cuenta que los pones para que mejore como ser humano, y crezca de diversas maneras.

A mi alma mater:

La vida se encuentra llena de retos, y uno de ellos es la universidad. Tras verme dentro de ella, me he dado cuenta que más allá de ser un reto, es una base no solo para mi entendimiento del campo en que me he visto inmerso, si no para lo que concierne a la vida y mi futuro.

Le agradezco a la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y a mis maestros por sus esfuerzos para que finalmente concluya satisfactoriamente este gran reto, ser un profesional formado con los valores y principios que mi alma mater promueve.

A mi familia:

A mi novia Verónica Martínez Sánchez, por entenderme en todo, gracias a ella porque en todo momento fue un apoyo incondicional en mi vida, fue la felicidad encajada en una sola persona, por esas noches que te desvelabas conmigo terminando algún proyecto, tarea o estudiar para algún examen, gracias por tus palabras que siempre están en mi mente, siempre estuviste para mí y sé que siempre estarás, tanto en días de felicidad como en días nublados, mis sinceras

gracias y bendiciones para mi amada novia, nunca podré terminar de agradecerle por tantas ayudas incondicionales brindadas hacia mi persona.

A mi primo-hermano Erick David Ríos Verónica, por su gran apoyo emocional, por la confianza que me ha brindado, que a pesar de la distancia siempre estuvo conmigo en todo momento por mensajes, por llamadas. Gracias a sus palabras motivadoras fueron en cierto momento un apoyo para esos días difíciles.

A mi cuñado Marcelo Morga Sánchez, por el gran apoyo que me brindo durante mi formación, por sus palabras alentadoras a seguir luchando para alcanzar este sueño, este objetivo el de ser un profesionista o un ingeniero como él dice.

Gracias a mi familia, a mis padres y a mis hermano(a)s, porque con ellos compartí una infancia feliz, que guardo en el recuerdo y es un aliento para seguir escribiendo sobre la infancia

Gracias a mis amigos, que siempre me han prestado un gran apoyo moral y humano, necesarios en los momentos difíciles de este trabajo y esta profesión.

Por su orientación y atención a mis consultas sobre metodología, mi agradecimiento al Dr. Armando Hernández Pérez, a la Dra. Aida Isabel Leal Robles y a la Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal, por la revisión cuidadosa que ha realizado de este texto y sus valiosas sugerencias en momentos de duda.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	2
OBJETIVOS	4
Objetivo General	4
Objetivo Específicos	4
HIPÓTESIS	4
REVISIÓN DE LITERATURA	5
Importancia del cultivo de calabacita (Cucurbita pepo L.) en México y principales estados productores.	5
Características del cultivo de calabacita	6
Taxonomía y morfología de la planta.....	6
Clasificación botánica	6
Morfología de la planta de calabaza	7
Requerimientos Edafoclimáticos.....	8
Tipo de suelo	8
Temperatura	9
Luminosidad	10
La nutrición del cultivo de calabacita Var. Grey Zucchini	10
El impacto de la fertilización nitrogenada en el medio ambiente	10
Fertilización nitrogenada.....	11
Función y forma de absorción del nitrógeno en las plantas	12
Deficiencia del nitrógeno.....	13
Dosis de fertilización en el cultivo de calabacita	13
Fertilización inorgánica	14
Fertilización orgánica	15
La biofertilización con microorganismos	16

Uso de bacterias fijadoras de nitrógeno como alternativa de biofertilización .	17
Proceso de fijación de nitrógeno atmosférico	18
Bacterias fijadoras de nitrógeno	19
Principales bacterias fijadoras de nitrógeno	20
MATERIALES Y MÉTODOS	24
Ubicación del estudio experimental	24
Preparación de camas y establecimiento del sistema de riego	24
Siembra	24
Fertilización e inoculación con las bacterias fijadoras de N ₂	25
Diseño experimental	25
Control de plagas y enfermedades	25
Control de malezas	26
Cosecha.....	26
Variables agronómicas	26
Altura de la planta.....	26
Biomasa total.....	26
Variables de rendimiento	27
Rendimiento:	27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
Peso seco de hoja y peciolo	28
Peso seco de la parte aérea	29
Rendimiento.....	30
CONCLUSIÓN	34
LITERATURA CITADA.....	35

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No.		Página
1	Temperaturas en la que se desarrolla el cultivo de calabaza en sus diferentes estados fenológicos.....	10
2	Cuadro de tratamientos aplicados.....	25
3	Efectos de las diferentes dosis de bacterias fijadoras de nitrógeno, aplicado a los tratamientos y las diferentes respuestas en las variables: altura de planta, PST, PSH, PSP, PSPA Y Rendimiento.....	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.		Página
1	Relación entre biomasa seca y rendimiento de las plantas de calabacita. Las letras a y b son las categorías obtenidas de la comparación de medias con Tukey al 0.05.....	32
2	Efecto del biofertilizante en el rendimiento de fruto de calabacita por hectárea, considerando 25 000 plantas por hectárea. Las letras a y b son las categorías obtenidas de la comparación de medias con Tukey al 0.05.....	33

INTRODUCCIÓN

En México se cultivan 13 especies de esta diversa familia de las cucurbitaceae, por su gran importancia económica y alimenticia, no solo para el país si no en muchas regiones del mundo Las calabazas (*Cucurbita argyrosperma ssp. argyrosperma*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita pepo*), son las principales especies nativas que se cultivan por su gran importancia alimenticia. (Lira *et al.*, 1998). El consumo de la calabacita italiana (*Cucurbita pepo*) es principalmente como verdura en estado fresco, sin embargo su importancia recae por su consumo nacional como para su exportación (Sedano-Castro *et al.*, 2005). La variedad Grey Zucchini es la calabacita con mayor superficie cultivada en México, caracterizada por ser herbácea y precoz, iniciando su producción 50 días después de la siembra, (Villalobos, 2001; Sedano-Castro *et al.*, 2005).

Para asegurar una buena productividad las plantas necesitan del nitrógeno, siendo este elemento esencial para su buen funcionamiento. El nitrógeno juega un papel importante en las plantas ya que favorece el desarrollo vegetativo e intensifica el color verde de las hojas; es un componente esencial para las células, aminoácidos, proteínas y ácidos nucleicos; también participa en la regulación del P, K y otros nutrimentos (Sedano-Castro *et al.*, 2011). El uso irracional de fertilizantes químicos, ha generado una contaminación a cuerpos de agua y suelos, dando como resultado el aumento en los costos de producción y a la vez generando problemas de salud animal y humana. Es por ello que cada vez se buscan nuevas alternativas para reducir el impacto de la fertilización sintética nitrogenada, una de estas alternativas es el empleo cepas de microorganismos fijadores de nitrógeno atmosférico, que ayuden al crecimiento y desarrollo de las plantas (Olalde, 1998; Clavijo *et al.*, 2012). Las bacterias fijadoras de nitrógeno son microorganismos benéficos de vida libre, con los cuales se pueden producir biopreparados, utilizando principalmente los géneros *Azospirillum*, *Bulkoderia*, *Pseudonomas*, *Beijerinckia*, *Klebsiella* y *Bacillus*, utilizados para constituir una actividad fundamental para la producción agrícola y como fertilización biológica siendo una excelente alternativa.

Con la aplicación de esta práctica aseguramos un incremento en los rendimientos, alarga la vida útil de los campos y reduce las afectaciones ante el ataque de plagas y enfermedades (Guevara *et al.*, 2014).

Por lo que es necesario fomentar el uso de nuevas prácticas agrícolas que nos ayuden a influir positivamente en el mantenimiento de la calidad de los suelos, el uso de materia orgánica como fertilizante, mejorara las propiedades del suelo como la capacidad de intercambio catiónico, retención del agua y estructura del suelo, pero el aporte probablemente mayor de este tipo de fertilización es el desarrollo y promoción de una gran actividad biológica (Felipe-Morales, 2002; García *et al.*, 2011).

JUSTIFICACIÓN

La calabaza es uno de los cultivos que ha estado presente a lo largo de la historia de los pueblos americanos y se ha convertido no sólo en un alimento tradicional, sino también en un elemento cultural, apenas comparable con otros productos como el maíz, el frijol y el chile, los que son básicos en la dieta alimentaria de ayer, hoy y muy probablemente del futuro. En la actualidad el uso y consumo de las diversas especies de la calabaza son muy amplios. México es el 7° lugar mundial en la producción de calabaza y calabacita, aportando 22.5%, con 566 mil 960 toneladas. La creciente demanda de alimentos ha creado la necesidad de desarrollar tecnología agrícola que permita hacer un uso más eficiente de los insumos agrícolas, entre ellos agua y suelo, una gran alternativa es la producción de biofertilizantes ya que son productos preparados a base de microorganismos y estos son aplicados al suelo y/o planta con el fin de sustituir parcial o totalmente la fertilización sintética, así como disminuir la contaminación generada por los agroquímicos.

La fijación biológica de nitrógeno (FBN) es el proceso a través del cual los microorganismos reducen el nitrógeno hasta una forma utilizable. Este proceso se lleva a cabo por microorganismos que se encuentran en vida libre o en simbiosis

con plantas, y el mismo no solo permite usar el nitrógeno atmosférico sino también revertir o reducir la degradación del suelo. La biofertilización con cepas bacterianas fijadoras de nitrógeno, promueve un buen crecimiento de las plantas (BPCP). Los biofertilizantes o inoculantes microbianos constituyen un componente vital para los agroecosistemas, ya que son económicamente atractivos y aceptables para reducir el uso indiscriminado de sustancias químicas y mejorar la cantidad y calidad de los recursos internos. Su utilización en cultivos de interés ha proporcionado muchos beneficios económicos, sociales y ambientales para los agricultores y productores, por las propiedades de estos microorganismos para modificar las características del suelo y mantener el balance nutricional.

Con el fin de sustituir parcial o totalmente, la fertilización nitrogenada sintética y por tanto la contaminación del suelo se pretende implementar la aplicación de bacterias fijadoras de N_2 , para incrementar la productividad de los cultivos como la calabacita y reducir su impacto negativo al medio ambiente.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar el efecto de la inoculación de bacterias fijadoras de nitrógeno en el crecimiento y rendimiento del cultivo de calabacita var. Grey Zucchini.

Objetivo Específicos

- Evaluar el comportamiento del cultivo de calabacita var. Grey Zucchini inoculadas con bacterias fijadoras de nitrógeno con diferentes dosis de fertilización química
- Determinar la dosis óptima de N P K y de bacterias fijadoras de nitrógeno en el crecimiento y rendimiento en el cultivo de calabacita var. Grey Zucchini.
- Determinar la interacción entre N P K y bacterias fijadoras de nitrógeno en el crecimiento, rendimiento y calidad en el fruto de calabacita var. Grey Zucchini.

HIPÓTESIS

Al menos una combinación de la dosis de N P K y de las bacterias fijadoras de nitrógeno tendrán un efecto positivo en el crecimiento y rendimiento del fruto de calabacita variedad Grey Zucchini.

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia del cultivo de calabacita (Cucurbita pepo L.) en México y principales estados productores.

En 2017 la superficie sembrada de calabacita a nivel nacional fue de 29.6 mil hectáreas, en las que se obtuvo una producción preliminar de 547 mil toneladas, 9.0% más que en 2016. La calabacita también conocida como calabacín o calabaza de verano, es originaria de Mesoamérica. En algunos países de América Latina se le nombra “zapallito”. Este tipo de vegetal tiene la característica de crecer a lo largo del suelo, por lo que se le conoce como “rastrera” y puede medir hasta 10 metros de longitud (SIAP, 2018).

Los principales productores de calabaza en el país son Sonora, Sinaloa, Tlaxcala y Nayarit, además se encuentran Hidalgo, Puebla y Morelos. Cabe señalar que tan sólo en 2011 se produjeron 387 mil 463 toneladas de calabaza a lo largo de toda la República, obteniendo mayores rendimientos durante los meses de primavera y verano. La siembra de calabacita se realiza en 30 entidades federativas. Aun cuando en 2015 la superficie destinada al cultivo resultó 0.3% menor, el rendimiento promedio nacional se incrementó 3.9%. El volumen de producción nacional promedio de 2006-2015 fue de 433,000 toneladas de calabacita. Los principales estados productores de calabacita son: Sonora con una producción de 94,776 t, Puebla con 59,453 t, Sinaloa con 45,058 t, Michoacán con 42,302 t, Hidalgo con 28,888 t, Jalisco con 23,262 t, Zacatecas con 22,941 t, Baja California con 19,939 t, Morelos con 19,793 t y Yucatán con 13,860 t. En los meses de marzo, abril y octubre se recolecta poco más de una tercera parte de la producción anual de calabacita. México se encuentra en el 7º lugar de producción mundial de calabacita con una producción de 398,660 toneladas. Las zonas con alto potencial para el desarrollo del cultivo actualmente no son las más aprovechadas, como es el caso de algunas regiones de Tamaulipas, Veracruz, Oaxaca y Chiapas (SAGARPA, 2016).

Características del cultivo de calabacita

La familia de las Cucurbitaceae está compuesta por alrededor de 118 géneros y 825 especies (Jeffrey, 1990). Forman un grupo de plantas rastreras, anuales o perennes, con flores unisexuales (aunque algunas de ellas son bisexuales) tienen ovario ínfero (Jeffrey, 1978) son las más domesticadas por el gran interés del hombre hacia estas especies, tienen una gran importancia en la dieta de la vida humana en todo el mundo, es por ello que cada vez las investigaciones van en incrementado de manera exponencial y sustancial en México, tal es el caso que aún podemos encontrar especies silvestres con una distribución restringida, están cercalmente relacionadas con las plantas cultivadas de importancia económica. Su diversidad en nuestro país es claramente mayor a la registrada en otros países de Latinoamérica, entre ellos Guatemala y Panamá, ambos países con tan solo 53 especies y entidades infraespecíficas. Las especies de esta numerosa familia las podemos encontrar a altitudes muy bajas desde casi el nivel del mar hasta los 1800 metros de latitud, prefieren zonas con algún tipo de vegetación cálido-húmedas o subhúmedas del país, aunque se han encontrado especies arriba de estos límites altudinales, como por ejemplo *Cucurbita pedatifolia*, *Cucurbita radicans*, etc. (Lira *et al.*, 1998).

Taxonomía y morfología de la planta

Clasificación botánica

Reino:	Plantae
División:	Magneliophyta
Clase:	Magneliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Cucurbitales
Familia:	Cucurbitaceae
Género:	<i>Cucurbita</i>
Especie:	<i>pepo</i>



Morfología de la planta de calabaza

Sistema radicular: constituido por una raíz principal axonomorfa, que alcanza un gran desarrollo en relación con las raíces secundarias, las cuales se extienden superficialmente. Pueden aparecer raíces adventicias en los entrenudos de los tallos cuando se ponen en contacto con tierra húmeda.

Tallo: sobre éste se desarrollan tallos secundarios que llegan a atrofiarse si no se realiza una poda para que ramifique a dos o más brazos. Presenta un crecimiento en forma sinuosa, pudiendo alcanzar un metro o más de longitud, dependiendo de la variedad comercial. Es cilíndrico, grueso, de superficie pelosa y áspero al tacto. Posee entrenudos cortos, de los que parten las hojas, flores, frutos y numerosos zarcillos. Estos últimos son delgados, de 10-20 centímetros de longitud y nacen junto al pedúnculo del fruto.

Hojas: Palmeada, de limbo grande con 5 lóbulos pronunciados de margen dentado. El haz es glabro y el envés áspero y está recubierto de fuertes pelos cortos y puntiagudos a lo largo de las nerviaciones. Los nervios principales parten de la base de la hoja y se dirigen a cada lóbulo subdividiéndose hacia los extremos. El color de las hojas oscila entre el verde claro y oscuro, dependiendo de la variedad, presentando en ocasiones pequeñas manchas blanquecinas. Las hojas están sostenidas por pecíolos fuertes y alargados, recubiertos con fuertes pelos rígidos.

Flores: La floración es monoica, por lo que en una misma planta coexisten flores masculinas y femeninas. Son solitarias, vistosas, axilares, grandes y acampanadas. El cáliz es zigomorfo (presenta un solo plano de simetría) y consta de 5 sépalos verdes y puntiagudos. La corola es actinomorfa y está constituida por cinco pétalos de color amarillo. La flor femenina se une al tallo por un corto y grueso pedúnculo de sección irregular pentagonal o hexagonal, mientras que en las flores masculinas (de mayor tamaño) dicho pedúnculo puede alcanzar una longitud de hasta 40 centímetros. El ovario de las flores femeninas es ínfero, tricarpelar, trilocular y alargado. Los estilos, en número de tres, están soldados en su base y son libres a la altura de su inserción con el estigma, este último dividido en 2 partes. Las flores masculinas poseen tres estambres soldados.

Frutos: Pepónide carnosos, unilocular, sin cavidad central, de color variable, liso, estriado, reticulado, etc. Se recolecta aproximadamente cuando se encuentra a mitad de su desarrollo; el fruto maduro contiene numerosas semillas y no es comercializable debido a la dureza del epicarpio y a su gran volumen. Las semillas son de color blanco-amarillento, ovales, alargadas, puntiagudas, lisas, con un surco longitudinal paralelo al borde exterior, longitud de 1,5 centímetros, anchura de 0,6-0,7 centímetros y grosor de 0.1-0.2 centímetros.

Tipo de siembra: La siembra suele realizarse directa en el suelo o en la capa de arena, a razón de 2-3 semillas por golpe, cubriéndolas con 3-4 cm de tierra o arena, según corresponda. La cantidad de semilla utilizada suele ser de unos 10 kg/ha en siembra directa. Algunas ocasiones se realiza el trasplante, germinando las semillas por separado generalmente de 5 a 7 semanas antes de colocarlas en el campo, teniendo con ello un mayor costo, debido a que la producción de frutos es muy similar en los dos casos.

Requerimientos Edafoclimáticos

La zonificación agroecológica es una herramienta empleada con el fin de disminuir los riesgos a los que se ve sometida la agricultura, teniendo como objetivo otorgar espacios a cultivos atendiendo las exigencias edafoclimáticas siendo estos factores fundamentales para él un buen funcionamiento de los cultivos, garantizando en gran parte el crecimiento, desarrollo y rendimiento de los mismos (Pineda y Suarez, 2014).

La producción y la productividad agrícola dependen en gran parte del comportamiento, intensidad, la interdependencia y las interacciones entre los factores clima-planta-hombre (Amezquita *et al.*, 1999).

Tipo de suelo

Este cultivo es poco exigente en suelo, adaptándose con facilidad a todo tipo de suelos, aunque prefiere aquellos de textura franca, profundos y bien drenados, sin embargo, se trata de una planta muy exigente en materia orgánica. Los valores

de pH óptimos oscilan entre 5.6 y 6.8 (suelos ligeramente ácidos), aunque puede adaptarse a terrenos con valores de pH entre 5 y 7. A pH básico pueden aparecer síntomas carenciales, excepto si el suelo está enarenado. Es una especie medianamente tolerante a la salinidad del suelo y del agua de riego, claro menos que el melón y la sandía y más que el pepino.

Temperatura

Este cultivo es típico de las zonas con climas templados y fríos, aunque existen variedades que se cultivan a nivel de mar. La germinación de las semillas se da cuando el suelo alcanza una temperatura de 20-25 °C, para el desarrollo vegetativo de la planta debe mantenerse una temperatura atmosférica de 25-30 °C y para la floración de 20-25 °C; para este último proceso, debe tomarse en cuenta que temperaturas muy altas tienden a generar mayor número de flores estaminadas (www.infoagro.com).

Cuadro 1. Temperaturas en la que se desarrolla el cultivo de calabaza en sus diferentes estados fenológicos

Fases del cultivo	Temperatura (°C)		
	Óptima	Mínima	Máxima
Germinación	20-25 (TS*)	15 (TS*)	40 (TS*)
Crecimiento vegetativo	25-30	10	35
Floración	20-25	10	35

TS*= Temperatura del Suelo

Luminosidad

La luminosidad es importante, especialmente durante los periodos de crecimiento inicial y floración. La deficiencia de luz repercutirá directamente en la disminución del número de frutos en la cosecha, así mismo la intensidad lumínica determinará la relación final de flores estaminadas y pistiladas, observándose que en períodos cortos de luz se favorece la producción de flores pistiladas (8 horas fotoperíodo) (Conabio, 2019).

Humedad relativa

Se trata de un cultivo más o menos exigente de humedad, si es cultivo de riego en zonas secas precisara de este vital líquido con la aparición de los primeros frutos. Los riegos deben de aplicarse durante todo el desarrollo de la planta a dosis de 2000 y 2500 m³ha⁻¹. Cabe mencionar que algunas variedades de esta especie toleran condiciones ambientales estresantes, tales como, falta de agua y suelos empobrecidos en nutrientes (Conabio, 2019).

La nutrición del cultivo de calabacita Var. Grey Zucchini

La nutrición es un factor que influye directamente en la producción del cultivo de calabacita, en el que se deben considerar aspectos como la época de crecimiento y el método y lámina de riego a aplicar, los cuales afectan significativamente la producción y la calidad del fruto. La interacción entre etapa de crecimiento, método de aplicación de fertilizantes, lámina de riego y N disponible, afecta significativamente el índice de área foliar, los sólidos solubles totales, la producción de biomasa seca, y al número y peso de frutos (Amer, 2011; Rodas-Gaytán *et al.*, 2012).

El impacto de la fertilización nitrogenada en el medio ambiente

El nitrógeno se encuentra en grandes cantidades en los suelos más de lo que requieren los cultivos; sin embargo, se encuentra como materia orgánica, según (Ardila, 2007) anualmente solo del 1 - 3 % es lo que se mineraliza del nitrógeno total. Por lo que lo convierte en el elemento más limitante para el crecimiento de los

cultivos por lo cual es indispensable el uso de productos sintéticos para lograr una producción agrícola aceptable. (Escobar *et al.*, 2011)

El nitrógeno es el nutrimento que como fertilizante es el más aplicado extensivamente, seguido por el fósforo y potasio. Los fertilizantes nitrogenados presentan una baja eficiencia en su uso por los cultivos, misma que puede ser menor al 50% (Keeney, 1982), lo que trae como consecuencia un impacto ambiental adverso, tal como contaminación de mantos acuíferos con NO_3^- , eutrofización, lluvia ácida y calentamiento global (Ramanathan, *et al.*, 1985; Armenta-Bojórquez *et al.*, 2010).

La acidificación del suelo por la aplicación prolongada trae como resultado la baja capacidad de intercambio catiónico en el calcio, magnesio, potasio y a su vez se incrementa la disponibilidad de los micronutrientes. Pero esta acidez puede ser neutralizada siempre y cuando el nitrato producto de la nitrificación de los fertilizantes es recuperado en su totalidad por las plantas. (Fabrizzil *et al.*, 1998)

La fertilización química ha sido en partes benéfica para el sector agrícola; pero su uso irracional ha generado residuos que producen salinización, problemas en el drenaje, compactación del suelo y disminución de la actividad microbiana comprometida en la nutrición vegetal. El uso de fertilizantes sintéticos se ha incrementado año con año, por la baja absorción en el suelo y por las plantas, junto con ello los costos de producción. Los fertilizantes desprenden gases tóxicos como los óxidos de nitrógeno que dañan la capa de ozono generando un problema ambiental (Lara *et al.*, 2007; Escobar *et al.*, 2011).

Fertilización nitrogenada

Para asegurar una buena productividad las plantas necesitan del nitrógeno, siendo este elemento esencial para su buen funcionamiento. Este elemento en su forma natural en se encuentra en la atmósfera como un gas con un 79% en su forma elemental (N_2), pero las plantas no lo pueden asimilar por si solas por lo que es necesario establecer una simbiosis con algunas bacterias principalmente del género *Rhizobium* o *Bradyrhizobium*, siendo constituido por las formas solubles como nitrato

(NO₂) y nitrato (NO₃⁻), amonio (NH₄⁺) intercambiable y no intercambiable fijado en las arcillas (Celaya-Michel y Castellanos-Villegas, 2011).

Para una sustentabilidad agrícola equilibrada es necesaria la integración de insumos industriales, de una forma racional e integrados con elementos biológicos, buscando una mayor productividad y calidad de los productos agrícolas. Un sistema agrícola debe fomentar el uso y manejo efectivo de los recursos internos de los agroecosistemas, manteniendo e incrementando la productividad de un suelo, los bioestimulantes y los biofertilizantes microbianos optimizan los sistemas sustentables (Martinez-Viera *et al.*, 2010).

El nitrógeno es el macronutriente con mayor influencia en la producción de biomasa en el cultivo de lechuga de hojas sueltas. El 70 % del nitrógeno total es absorbido durante las últimas tres semanas previas a la cosecha como lo muestran las curvas de absorción de nitrógeno (Zink y Yamaguchi, 1962), lo cual coincide con la evolución de la curva correspondiente a la tasa de crecimiento del cultivo. Como fue en el caso de, Sorensen *et al.*, (1994), trabajando con una serie de dosis de aplicación de 50 a 200 kg N ha⁻¹, dando como resultado que la dosis óptima es 150 kg N ha⁻¹, aunque con pequeñas diferencias con respecto a 100 y 200 kg N ha⁻¹, bajo la forma de urea. Estos autores informaron además que no sólo el rendimiento, sino la calidad nutritiva y comercial fueron afectadas por la disponibilidad de nitrógeno (Grazia *et al.*, 2001).

Función y forma de absorción del nitrógeno en las plantas

El nitrógeno se encuentra principalmente en las partes jóvenes de la planta en estado de crecimiento siendo un componente esencial de las células vivas (Millar *et al.*, 1978). Es absorbido a través de las raíces o por las hojas en forma de NO₃⁻ y NH₄⁺ (Russell y Russell, 1968), una vez dentro de la planta, se reduce y transforma en carbohidratos y, finalmente, en proteínas. Siendo parte de la formación de carbohidratos y proteínas, el nitrógeno es un constituyente esencial de la molécula de clorofila (Tisdale y Nelson, 1966); por lo que influye en la coloración del follaje y en el tamaño de las plantas. el suelo debe tener ciertas características para la aplicación de nitrógeno y son: el contenido de materia orgánica (M.O.), el drenaje y

la profundidad del nivel freático. Los suelos con bajo contenido de M.O presentan una mayor demanda de este nutrimento (Pineda, 1996).

En forma de nitrato o de amonio es como la planta absorbe al nitrógeno a través de las raíces, el amonio se incorpora en formas orgánicas en las raíces. El xilema es la vía por donde se mueven los nitratos, llegando a almacenarse en las vacuolas de las células de diferentes partes de la planta, para ser fijados en estructuras orgánicas son reducidos a amonio la regulación del pH celular y del pH de la rizosfera es a causa de un balance Cation-Anión y por qué el 80% del total de cationes y aniones que absorben las plantas lo hacen en forma de nitratos y amonio. El contenido óptimo de nitrógeno necesario para un crecimiento vegetal normal varía entre un 2 y un 5% del peso seco de la planta. (Castaño *et al.*, 2008).

Deficiencia del nitrógeno.

La deficiencia del nitrógeno se puede observar con un amarillamiento en la vena central de las hojas viejas, seguido de una clorosis en las áreas adyacentes; muy pocas veces se puede observar en hojas jóvenes de poco desarrollo, que además presentaron los bordes corrugados hacia el haz. Cuando la deficiencia alcanza un máximo grado las hojas adultas se tornan clorótica perdiendo su condición erecta, pero sin desprenderse y las venas un color amarillo verdoso, con el avance de deficiencia las hojas viejas se tornan anaranjadas con un tinte rojizo cerca del borde. Estas características se observan de adentro hacia afuera, en algunos casos desprendimiento del ápice es con más facilidad. El tejido de las ramas laterales se pueden observar un color café rojizo, mientras que el sistema radical se hace pequeño, poco denso, y de un color grisáceo (Carvajal, 1960).

Dosis de fertilización en el cultivo de calabacita

Para un buen desarrollo de este cultivo es necesario un amplio margen de abonado, el cual dependerá principalmente en función de la extracción del cultivo y en menor grado a la cantidad de nutrientes del suelo. Se reporta que para una producción media de 80,000-100,000 kg por hectárea se aplica 200-225 kg de

nitrógeno (N_2), 100-125 kg de fósforo (P_2O_5) y 250-300 kg de potasio (K_2O) al momento de la siembra, proporcionando una relación aproximada 2-1-2.5. Los fertilizantes de uso más extendido son los abonos simples en forma de sólidos solubles (nitrato cálcico, nitrato potásico, nitrato amónico, fosfato monopotásico, fosfato monoamónico, sulfato potásico, sulfato magnésico) y en forma líquida (ácido fosfórico, ácido nítrico), debido a su bajo coste y a que permiten un fácil ajuste de la solución nutritiva, aunque existen en el mercado abonos complejos sólidos cristalinos y líquidos que se ajustan adecuadamente, solos o en combinación con los abonos simples, a los equilibrios requeridos en las distintas fases de desarrollo del cultivo (Conabio, 2019).

Los cultivos que requieren mayores dosis de nitrógeno son lo que están bajo siembra directa (SD) de esta manera se alcanzan los máximos rendimientos (Knowles *et al.*, 1993; Falotico *et al.*, 1999). Las plantas al tener una menor intercepción de la radiación hay una menor acumulación de materia seca y absorción de nitrógeno (Bergh, 1997). Este comportamiento fue atribuido principalmente a una menor disponibilidad de nitrógeno mineral bajo siembra directa (SD) y también una mayor resistencia mecánica (RM) (Ferrerías 1996 y Falotico, *et al.* 1999). Una excelente fertilización nitrogenada permite reducir las diferencias en el crecimiento y rendimiento entre los diferentes sistemas de labranza todo en función de la disponibilidad de nitrógeno siendo este el factor limitante más importante en cultivos bajo siembra directa (SD), sin considerar la degradación física del suelo (Falotico *et al.*, 1999).

Fertilización inorgánica

La acumulación de nitrato en el suelo es un ejemplo claro de las aplicaciones exageradas de fertilizantes minerales, esto se debe por que la planta no los puede absorber en un cierto tiempo, por lo que su acumulación lo convierte en un contaminante. Por lo que se convierte en un efecto detrimental transitorio en la población microbiana del suelo, como el efecto de otras prácticas de manejo. Algunas prácticas agrícolas no siempre son benéficas para la vida microbiana ya que al voltear la tierra se dejan expuestos al sol microorganismos

(descomponedores de materia orgánica como, gusanos o lombrices de tierra, escarabajos), se produce la muerte de estos en proporciones extraordinarias, pero luego estos se vuelven a propagar casi con la misma velocidad, al recobrar condiciones adecuadas de humedad, temperatura, pH etc. Estas son contingencias en la dinámica del suelo. (Pineda, 1996)

Fertilización orgánica

La utilización de abonos orgánicos (estiércoles, compostas y residuos de cosechas) en la agricultura a sido desde tiempos muy remotos, influyendo de manera positiva en la fertilidad de los suelos, aportando nutrimentos esenciales a los cultivos (Romero *et al.*, 2000; Lopez-Mtz *et al.*, 2001).

La fertilización biológica está basada en la utilización de abonos orgánicos (restos de descomposición de materia orgánica, estiércol animal y microorganismos como hongos, bacterias, etc.), cuya finalidad es mejorar la fijación de nutrientes en la rizosfera, acelerando el crecimiento de las plantas, gracias a la producción de bioestimulantes, que a su vez mejoran la estabilidad del suelo, para un mayor control biológico al biodegradar sustancias y reciclar nutrientes, para favorecer la simbiosis micorrizal (Carvajal y Mera, 2010)

El principal objetivo de la aplicación de materia orgánica en los suelos es el de mejorar su estructura y las características químicas, la actividad microbiana contribuye en forma significativa modificando los aspectos bioquímicos (enzimas, por ejemplo) y fisicoquímicos que intervienen en el mejoramiento de la fertilidad del suelo. Las actividades agrícolas como el uso desmedido de agroquímicos han intensificado el daño al ambiente por lo que la sociedad está cada vez más interesada en reducirlo, sobre todo con respecto a riesgos de salud. Es necesario realizar cambios en el campo agrícola, que reviertan el deterioro y los efectos dañinos de los pesticidas en general, para lograr una agricultura sostenible es necesario implementar técnicas de producción agrícola enfocadas al uso eficiente de los recursos. Una gran alternativa es la aplicación de abonos orgánicos, ya que pueden emplearse en la producción agrícola. La agricultura orgánica es un sistema de producción alternativo, caracterizado por la ausencia de fertilizantes sintéticos y

pesticidas, además de la utilización frecuente de fuentes de materia orgánica para mantener la fertilidad de la tierra (Ruiz *et al.*, 2007). La rizósfera es un ambiente donde se pueden encontrar una gran cantidad de bacterias en comparación con otros microorganismos por su gran capacidad de reproducción y a su exitosa habilidad de utilizar un amplio rango de sustratos como fuentes de carbono o nitrógeno (Glick, 1995 y Calvo *et al.*, 2008).

La biofertilización con microorganismos

Los biofertilizantes se aplican al suelo y/o planta con el fin de sustituir parcial o totalmente la fertilización sintética disminuyendo de esta forma la contaminación generada por los agroquímicos, estos microorganismos en los biofertilizantes se clasifican en dos grupos: donde el primer grupo incluye microorganismos con capacidad de promover el crecimiento en la planta sintetizando sustancias, fijando nitrógeno atmosférico, solubilizando hierro y fósforo inorgánico y mejorando la tolerancia al stress por sequía, salinidad, metales tóxicos y exceso de pesticidas, por parte de la planta. El segundo grupo lo constituyen microorganismos capaces de disminuir o prevenir los efectos de deterioro de microorganismos patógenos (Lucy *et al.*, 2004; Armenta-Bojórquez *et al.*, 2010). Aunque podemos encontrar microorganismos en ambos grupos, con la capacidad de promover el crecimiento de la planta e inhibir los efectos de microorganismos patógenos sin embargo, pueden existir microorganismos en ambos grupos, con la capacidad de promover el crecimiento de la planta e inhibir los efectos de microorganismos patógenos (Kloepper *et al.*, 1980; Armenta-Bojórquez *et al.*, 2010).

Los microorganismos actúan entre el 80 y 90% de las reacciones que ocurren en el suelo (Nannipieri *et al.*, 2003). Considerados como el motor de los ecosistemas terrestres (Killham, 1994), por su importante papel en la mineralización y transformación de la materia orgánica, además fijan nitrógeno para que este pueda ser utilizado en el metabolismo de las plantas, produciendo metabolitos, actúan como controladores biológicos e inclusive pueden descomponer productos tóxicos (Azevedo, 1998), entre las grandes funciones o aportaciones al suelo esta cementan y estabilizan los agregados manteniendo la estructura del suelo, (Elliott

et al., 1996). La humanidad ha generado practicas inadecuada que pueden llevar a la pérdida de la diversidad y o función de la comunidad microbiana como son el uso de excesivos fertilizantes inorgánicos y pesticidas causando cambios en las densidades de hongos y bacterias, la supresión o la promoción del crecimiento, y la actividad microbiana. (Girvan *et al.*, 2003; García *et al.*, 2011).

Uso de bacterias fijadoras de nitrógeno como alternativa de biofertilización

La utilización de bacterias en el suelo es una alternativa a los fertilizantes químicos, ya que incrementan la fertilidad y benefician a las plantas, por lo que se les ha denominado promotoras del crecimiento de las plantas (PGPRs), esto es por su capacidad de fijar nitrógeno, solubilizar fosfatos, producción de hormonas, antibióticos y otros compuestos de importancia para el desarrollo de los cultivos. Es a lo que conocemos como biofertilizantes como bien sabemos son productos producidos a base de bacterias usados en la fertilización de los suelos agrícolas en la actualidad ya existen algunos que son comercializados; para una gran efectividad de estos productos se deben de tomar en cuenta las condiciones edafoclimáticas para su utilización, por lo que se prefiere el uso de microorganismos propios de los suelos donde van a ser utilizados, adaptados a las condiciones ecológicas y que puedan ser utilizados, compitiendo exitosamente con la biota nativa. (Escobar y Carreño, 2011).

Los géneros *Azospirillum*, *Beijerinckia* y *Klebsiella* principalmente son utilizados para la producción de biopreparados, esto es un producto elaborado a base de bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre para la fijación de nitrógeno atmosférico. la producción agrícola se beneficia con el empleo de esta práctica, con el incremento de los rendimientos de los cultivos, alarga la vida útil de los campos y reduce las afectaciones ante el ataque de plagas y enfermedades. El uso de microorganismos que se asocian a la planta o a su entorno, constituye una alternativa para aportar nutrientes al suelo sin ocasionar daños ecológicos (Guevara *et al.*, 2014).

Proceso de fijación de nitrógeno atmosférico

El gas carbónico y el nitrógeno molecular del aire son aprovechados gracias a dos fenómenos biológicos fundamentales, asegurando la disponibilidad del carbono y del nitrógeno en los organismos vivos: la fotosíntesis y la fijación biológica del nitrógeno. Los vegetales y algunos procariotes realizan el proceso de fotosíntesis, la fijación del nitrógeno únicamente por los procariotes. La fijación del nitrógeno (FN) funciona en todas las bacterias ya que todas poseen el sistema enzimático responsable de la reducción del nitrógeno: La nitrogenasa. El nitrógeno molecular (N_2) es la única reserva ilimitada, no puede ser utilizada directamente por los vegetales y animales. Por lo que, es necesario que sea reducido y Los únicos seres vivos capaces de realizar esta reacción son las *Eubacteria* y *Archaea*, por el proceso denominado fijación biológica de nitrógeno (FBN). 3×10^9 toneladas de N_2 es lo que se transforma en un año y nuestra atmósfera contiene 1015 toneladas de gas N_2 . El consumo de fertilizantes nitrogenados ha aumentado a nivel mundial a ya que en tan solo 15 años (1973-1988) aumento de 8 a 17 Kg ha⁻¹ de suelo agrícolas. Se estima un aumento aún más en el futuro. Las bacterias fijadoras de nitrógeno son la alternativa más viable para suministrar nitrógeno de forma biológica, cuentan con sólo una pequeña proporción de especies tan solo 87 en dos géneros de arqueobacterias, 38 de bacterias, y 20 géneros de cianobacterias se han identificado como diazótrofos. las asociaciones con las plantas y por medio de estructuras diferenciadas producidas por la planta hospedera son las bacterias más eficaces, llamados "nódulos", localizados en la raíz de las leguminosas o de las plantas actinorizas (Baca y Pardo, 2000).

Las leguminosas son una de las familias de plantas reconocidas como fijadoras de nitrógeno, tanto árboles como arbustos abundan en la mayoría de las regiones áridas y semiáridas, los géneros *Rhizobium* o *Bradyrhizobium* son bacterias capaces de formar nódulos en las raíces de las plantas para fijar nitrógeno. Aunque existen algas azul-verde que poseen la enzima nitrogenasa, responsable de convertir el N_2 atmosférico a amonio (NH_4^+). Los microorganismos de vida libre y simbiótica con algunas plantas con capacidad de fijación biológica de nitrógeno son de gran importancia para los ecosistemas limitados por nitrógeno, como son las

zonas áridas y semiáridas. Al morir una planta que fue beneficiada por alguna asociación simbiótica sus hojas o raíces aportan nitrógeno disponible tanto a microorganismos como a otras plantas. (Celaya-Michel y Castellanos-Villegas, 2011).

Para que se establezca la relación simbiótica deben ocurrir las siguientes etapas:

1. Multiplicación de las bacterias rizosfera.
2. Colonización de la rizosfera.
3. Adsorción de las bacterias a la raíz
4. Ensorjitamiento de los pelos radicales, ocurre en las raíces cuando la infección en vis pelos radicales y en algunas donde acontece vía unión raíces laterales-raíz principal
5. Formación de los hilos o zonas intercelulares de infección
6. Crecimiento del hilo de infección hacia las células corticales o invasión directa de las mismas
7. Diferenciación tisular y desarrollo del nódulo

Los cambios morfológicos y fisiológicos que ocurren a nivel de los puntos de desarrollo nodular van acompañados de señales moleculares inducidas por genes propios del proceso. (Mays-Figueroa, 2004). Falta verificar esta cita y pineda 1996, millar et al 1978

Bacterias fijadoras de nitrógeno

Las bacterias fijadoras de nitrógeno establecen y aceleran los procesos bioquímicos que influyen sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas o cultivos de interés agrícola. con un incremento de elementos químicos disponibles y la producción de sustancias de crecimiento o de control de patógenos (Barea *et al.*, 2005 y Obando *et al.*, 2010).

Se conoce un gran número de bacterias de vida libre o asociativa que fijan N_2 , pero solo algunas destacan por su potencial como biofertilizantes o promotoras de crecimiento. Entre los géneros más conocidos están *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Derxia* y *Azospirillum*, dentro del grupo aerobias; en las aerobias facultativas se presentan *Enterobacter*, *Pseudomonas* y *Bacillus*; y los géneros de bacterias

anaerobias *Metanobacterium*, *Clostridium* y *Desulfovibrio* (Rodríguez, 1995; Díaz *et al.*, 2001). *Azospirillum* y *Azotobacter* son generos de bacterias fijadoras de nitrógeno que penetran la corteza de la raíz y producen fitohormonas como giberelinas, auxinas (ácido indolacético), citocininas, ácido abscísico y fijan N₂ (Lynch, 1990; Díaz *et al.*, 2001), además estimulan el crecimiento, la producción de raíces laterales y pelos favoreciendo la absorción de nutrientes (De Freitas y Germida, 1992 y Díaz *et al.*, 2001) por lo que incrementan el Rendimiento (Taller y Wong, 1998; Díaz *et al.*, 2001).

Las hormonas que producen las bacterias son capaces de aumentar las tasas de crecimiento y mejorar los rendimientos de las plantas hospedantes. La rizosfera puede ser capaz de producir bacterias fijadoras de nitrógeno, mejorar la productividad de la planta, tanto por estimulación hormonal como por el suministro nitrógeno. (Atlas, 1984; Hernández *et al.*, 2003).

Principales bacterias fijadoras de nitrógeno

Azospirillum spp. Es un amplio grupo de fijadores de nitrógeno organismos que en los últimos años las investigaciones científicas por saber más sobre las especies de este género de bacterias ha crecido exponencialmente, ya que las inoculaciones han aumentado la producción de biomasa total de plantas tanto en invernadero como en campo, esto se debe a que son capaces de fijar el nitrógeno que se encuentra en la atmosfera para que este pueda ser utilizado por las plantas para su crecimiento acelerado. Se les conocen desde hace muchos años como rizobacterias promotoras del crecimiento de plantas. *Azospirillum brasilense*, la podemos encontrar en la rizosfera de varias especies de gramíneas, como parte del grupo de bacterias fijadoras además son los principales microorganismos rizosféricos fijadoras de nitrógeno de vida libre que son Gram negativas. (Tien *et al.*, 1979). En la actualidad, se han descrito cinco especies: *Azospirillum lipoferum*, *Azospirillum brasilense*, *Azospirillum amazonense*, *Azospirillum halopraeferens* y *Azospirillum irakense*, tienen efectos beneficiosos sobre el crecimiento de las plantas y el rendimiento de los cultivos, muestran un versátil metabolismo con el C y N, lo que los hace bien adaptados para establecerse en el

entorno competitivo de la rizosfera de los cultivos; afectan positivamente en el crecimiento de las plantas, los rendimientos de los cultivos y el contenido de N de la planta, gracias a su patrón mixto de flagelación tienen una alta movilidad en el suelo. Para el éxito de una buena asociación *Azospirillum* –planta la bacteria debe ser capaz de sobrevivir en el suelo y alcanzar poblaciones significativas en el sistema radicular del huésped. Los exudados de las raíces son la fuente principal de carbono y energía de las bacterias, a través de la motilidad y la quimiotaxis las bacterias se desplazan hacia las raíces de las plantas para el aprovechamiento de estos exudados y de esta forma contribuir a la supervivencia y la colonización de la rizosfera.

Azotobacter. Este género se distingue por su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, además promueve el crecimiento de las plantas y tiene capacidad degradativa de pesticidas (González-López, 1986; Vélez y Orellana, 2010). Con las inoculaciones de *Azotobacter* se han obtenido resultados positivos en cultivos económicos, por lo que a partir de 1990 en Cuba se han incrementado las investigaciones hacia este género de bacterias. Con el uso de biofertilizantes en cultivos hortícolas y de café se han obtenido excelentes producciones con la utilización de cepas de *Azotobacter*. Las inoculaciones de *Azotobacter* en la producción de posturas de café es posible alcanzar mayor uniformidad y vigor (Sánchez *et al.*, 1998; Delgado *et al.*, 2003), la utilización de este género genera mayor calidad y economía en la fabricación y aplicación de biopreparados. (Dibut *et al.*, 1994; Delgado *et al.*, 2003), ya que especies como *Azotobacter chroococcum* son capaces de sintetizar tiamina (vitamina B-1), ácido nicotínico, ácido pantoténico y otras vitaminas que ayudan a acelerar la germinación de las semillas y el crecimiento y desarrollo de algunas especies vegetales, siempre que sea adecuada la concentración de las bacterias en la zona de la rizosfera de las plantas. (Delgado *et al.*, 2003). Aumentar la capacidad de absorción radical es posible con la inoculación de bacterias benéficas de raíces (BBR) como lo son el género *Azotobacter* (Asghar *et al.*, 2002; García-González *et al.*, 2005). La auxina, citocinina, giberelinas, etc. son fitohormonas promotoras del crecimiento vegetal generadas a través de una conversión de exudados radicales (Reis *et al.*, 2000 y

García-González *et al* 2005). Por lo cual hay un aumento en la capacidad de absorción radical, trayendo como consecuencia un incremento en peso fresco y seco en plantas inoculadas con estas rizobacterias (Kurek y Jaroszuk-Scisel, 2003; García-González *et al.*, 2005).

Pseudomonas: La utilización de bacterias en la zona radical de las plantas ayuda a mejorar los agroecosistemas de los suelos, gracias a la versatilidad metabólica y a su capacidad de adaptación fisiológica que presentan tienen un efecto positivo, en cuanto a la tolerancia de altos contenidos de sales, al aumento en los rendimientos de los cultivos, mejorando la calidad del suelo, con respecto a la disponibilidad de nutrientes. (Brown, 2010 y Cano, 2011). Las bacterias de la rizósfera tienen un efecto positivo en las plantas, son capaces de generar una amplia variedad de metabolitos secundarios como la estimulación del sistema de defensa de las plantas tolerando ciertos tipos de ataques de patógenos aéreos, producción de compuestos microbianos que regulan el avance de patógenos hacia el sistema radicular:

- El crecimiento y desarrollo de las plantas.
- Mejoran la disponibilidad de minerales y nutrientes en el suelo.
- Mejoran la capacidad de fijación de nitrógeno.
- Disminuyen la susceptibilidad a las heladas.
- Mejoran la sanidad vegetal, a través del control biológico de fitopatógenos.
- Inducen en las plantas la resistencia sistémica a las enfermedades.
- Facilitan el establecimiento de plantas (Sturz y Christie, 2003; Cano, 2011).

Bacillus spp. Este género de bacterias pertenece a la familia Bacillaceae, una de las familias bacterianas con mayor actividad bioquímica. Esta capacidad de ser metabólicamente muy diversos les permite tener una colonización exitosa en el ambiente rizosférico, la solubilización de fosfato y en algunas especies la fijación biológica de N lo que promueve el crecimiento en las plantas (Chatli *et al.*, 2008 y Calvo; Zuñiga, 2010), así como la síntesis de algunas fitohormonas como el ácido indol acético (Vessey, 2003; Calvo y Zúñiga, 2010)

Burkholderia spp. Este género formado por más de 90 especies, aisladas de una amplia de nichos ecológicos. Mientras algunas de estas especies son

patógenas, muchas establecen relaciones neutrales o benéficas con las plantas, gracias a sus capacidades de biocontrol, la fijación de nitrógeno, la promoción de crecimiento de plantas y la biorremediación. Durante varios años fue reconocida como la única especie del género *Burkholderia* capaz de fijar nitrógeno y además estimula el crecimiento de las plantas mejorando el rendimiento, pero por ser un patógeno oportunista se ha restringido su uso en la agricultura. Aun que fijar nitrógeno atmosférico es una característica común del género *Burkholderia*. La colonización de *Burkholderia tropica*, *Burkholderia kururiensis*, *Burkholderia unamae*, *Burkholderia silvatlantica*, *Burkholderia phytofirmans* y *Burkholderia acidipaludis*, en diferentes especies de plantas, han mostrado un impacto positivo en las plantas, como son la mejora pronunciada del sistema de raíces, una mayor área foliar, mejora la eficiencia del uso del agua, lo que les confiere un gran potencial para su uso como biofertilizantes (Boliva-Anillo *et al.*, 2016).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio experimental

Se estableció el experimento en las áreas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) ubicada en Buenavista, Saltillo Coahuila, México, con coordenadas geográficas 25° 23'42" latitud norte y 101° longitud oeste, con una altitud de 1753 msnm. El establecimiento del cultivo calabacita var. Grey Zucchini, se realizó en condiciones campo abierto, durante el periodo de agosto a octubre del 2018.

Preparación de camas y establecimiento del sistema de riego

Primero se determinó el espacio donde se establecería cultivo, se prosiguió a la limpieza del área para la eliminación de malezas. Se elaboraron de las camas de (6 metros de largo y 0.80 de ancho), con la ayuda de un azadón. Una vez terminada las camas se colocó el sistema de riego por cintilla, utilizando tubos PVC para las líneas principales y después se utilizó manguera de polietileno de 16 mm con 30 cm de espaciamiento entre goteros, se colocaron 2 cintillas por cama.

Siembra

La siembra se realizó el día 14 de agosto del 2018, colocando las semillas a una profundidad de 2 cm a una distancia entre plantas de 50 cm, obteniendo un total de 27 plantas por cama. Al tercer día se realizó un riego inicial para promover la germinación. Posteriormente se realizaron riegos de auxilio, cuando el cultivo lo requería.

Fertilización e inoculación con las bacterias fijadoras de N₂

En este experimento se realizaron ocho aplicaciones de fertilización química del 100% y 2 inoculaciones del complejo bacteriano (principalmente a base de *Azospirillum* sp.) fijadora de N₂. Las diferentes dosis aplicadas es 0, 30 y 60 mL equivalente a 0, 20 y 40 L ha⁻¹. Con la finalidad de promover un buen crecimiento de las plantas, las aplicaciones de fertilización e inoculación fueron aplicadas manualmente. La primera fertilización química y la inoculación de la bacteria se realizaron 24 días después de la siembra (dds). La fertilización inorgánica consistió en aplicar la fórmula 200-125-300 (N-P₂O₅-K₂O) durante todo el ciclo del cultivo, este se realizó una vez a la semana (Cuadro 2).

Cuadro 2. Cuadro de tratamientos aplicados.

Tratamientos	Fertilización (%)	Biofertilización con bacterias fijadoras de N ₂ (mL/planta)
Testigo	100	0
2	100	30
3	100	60

Diseño experimental

Los tratamientos se establecieron en un diseño completamente al azar con 3 tratamientos con 3 repeticiones y cada repetición contó con 3 plantas, en cada tratamiento, se realizará un análisis de varianza (ANOVA) (P = 0.05), con la ayuda del paquete estadístico SAS Ver. 9.0 (SAS Institute Inc. 2010).

Control de plagas y enfermedades

En el periodo que se estuvo el experimento se presentaron algunas plagas, como gallina ciega (*Phyllophaga* sp), chapulines (*Caelifera* sp), aunque no presentaron un gran impacto y no influyeron en los resultados del experimento, ya que fueron controladas con los siguientes insecticidas: FITOSAM M Dosis: 2 a 4 billones de esporas suspendidas en 400 litros por hectárea y MALATION 500

CE. Dosis: 2 – 2.5 l/ha, ambos insecticidas son de etiqueta verde (ligeramente toxico), se aplicaron con la ayuda de una bomba de aspersión manual. Con respecto a las enfermedades se presentó cenicilla polvoriente (*Sphaerotheca sp* y *Eryshipe sp*), se utilizó control químico utilizando el fungicida: Myclobutanil+Quinoxifen Dosis: 1.0 1.5 y 2.0 l/ha, por lo que no tuvo mucho impacto en el cultivo, ya que las plantas tenían una avanzada madurez fisiológica por lo que los frutos no se vieron afectados.

Control de malezas

Esta actividad se realizó manualmente con la ayuda de un azadón, eliminando las malezas que podrían afectar al cultivo, ya que estos podrían competir por el agua y los nutrientes; y al mismo tiempo al eliminar las malezas se reduce la probabilidad de la presencia de plagas y enfermedades.

Cosecha

La cosecha se realizó una vez que el fruto alcanzaba la calidad deseada (longitud de 12 a 15 cm aproximado), para su consumo en fresco, ya que se consumen en estado tierno. Ésta actividad se realizó manualmente, la primera cosecha fue a los 45 dds (28 de septiembre) y cada tercer día, subsecuentemente, hasta la última que fue el 19 de octubre.

Variables agronómicas

Altura de la planta: Consistió en medir desde la base del tallo hasta la yema vegetativa de la planta, utilizando una cinta métrica, registrando en centímetros los valores resultantes.

Biomasa total: peso seco total de cada uno de los órganos, hoja, tallo, peciolo y parte aérea, para obtener cada peso de cada uno de estos órganos, se colocarán en bolsas previamente marcadas en una estufa de secado a 65° C por 72 horas, y cada uno de los pesos secos serán registrados.

Variables de rendimiento

Rendimiento: Esta variable se obtuvo mediante la sumatoria aritmética del peso de los frutos cosechados en todo el ciclo del cultivo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La altura, peso seco de los órganos y el rendimiento de las plantas de calabacita fueron afectados significativamente por las bacterias fijadoras de nitrógeno (BFN) a excepción del peso seco de tallo, pues no fue influenciado por estas (Cuadro 3). La mayor altura de planta se obtuvo con 30 ml de BFN en comparación de aquellas que recibieron 60 ml, pues, a esta dosis este disminuyó (Cuadro 3). El aumento de la altura puede ser debido a que estas bacterias hayan promovido mayor crecimiento radicular. Según Martínez-Toledo *et al.* (1988), señalan que algunas bacterias como *Azospirillum brasilense* induce un mayor crecimiento radical en las plantas mediante la producción de fitohormonas como el ácido indol acético (AIA), y este modifica la morfología y aumenta la biomasa radical, permitiéndoles un mayor anclaje, mejorando el aprovechamiento de los nutrientes y el agua (Okon *et al.* 1988; Aguirre-Medina *et al.* 2011). Sin embargo, el exceso del suministro influyo de manera negativa lo que sugiere que estas fungieron como fitopatógenos. Según Hernández *et al.*, (2005), señalan que las bacterias fijadoras no simbióticas, en condiciones de alta concentración de nitrógeno en el suelo, reprimen la fijación del mismo desde la atmósfera.

Peso seco de hoja y peciolo

El peso seco de la hoja fue mayor con 30 ml de BFN en comparación de aquellas plantas que se les aplicó 60 ml de BFN pues, a esta dosis el peso seco de la hoja disminuyó (Cuadro 3), esto se lo podría atribuir al crecimiento foliar de la planta ya que presentaron hojas más pequeñas, disminuyendo su capacidad fotosintética, siendo la fotosíntesis el proceso principal en la producción de materia orgánica vegetal encargado del proceso respiratorio afectando el balance de carbono y la acumulación de materia orgánica (Mosquera-Sánchez *et al.*, 1999). Según Porter, (2002) en el sistema radical de las plantas hay un incremento de arbusculos encargados de la transferencia de nutrientes hacia

células del sistema radical. Las plantas que crecieron con 30 ml de BFN, presentaron un aumento de biomasa en las hojas por gramo de peso seco, presentando hojas más grandes y más succulentas. Estos valores implican que la hoja invierte menos biomasa por unidad de área, lo cual se correlaciona fuertemente con una gran cantidad de procesos fisiológicos (Porter, 2002). La disminución de la biomasa seca de hoja podría asumirse que poseen mayor contenido de componentes de pared celular, especialmente lignina generando hojas más duras y menos lamina foliar, considerando que el grosor de la hoja determina la disponibilidad de espacio para acomodar cloroplastos por lo que las hojas gruesas presentan espacios vacantes a lo largo de las células del mesófilo que no son ocupadas por cloroplastos y por lo tanto bajas tasas de actividad fotosintética (Oguchi *et al.*, 2003).

El peso seco el peciolo fue mayor con 30 y 60 ml BFN, en comparación con aquellas plantas que no se le aplicó BFN, pues al no aplicarles a las plantas la biomasa del peciolo se ve afectada disminuyendo su peso seco (Cuadro 3).

Peso seco de la parte aérea

La producción de biomasa en la parte aérea de la planta fue afectada significativamente por la aplicación de BFN (Cuadro 3). La mayor biomasa aérea se presentó en plantas inoculadas con 30 ml de BFN, en comparación de aquellas que recibieron 60 ml de BFN pues esta se redujo, esta disminución puede ser debido a una menor altura, hojas delgadas y más pequeñas (Cuadro 3). Esto se podría deberse a que la biomasa aérea producida por la planta es asignada principalmente a las hojas (Sedano-Castro *et al.*, 2005). Este incremento de biomasa podría deber a una mayor concentración de nitrógeno (N) y de clorofila, ya que, Calderon-Medellin *et al.*, (2016) encontró que el crecimiento de las plantas de orégano “Griego”, medido a través de la biomasa seca de la parte aérea, también presentó una respuesta dependiente del incremento de la cantidad de nitrógeno que le fue aportado a través de la solución nutritiva, el contenido de clorofila también incremento con el aumento el aporte de nitrógeno

en la solución nutritiva. Según Benjamin *et al* (1997) reporta que, el nitrógeno es un elemento estructural de la clorofila y por esta razón es almacenado en el cloroplasto para posteriormente apoyar en el crecimiento reproductivo del cultivo. Una dosis de BFN adecuada tiene un efecto positivo en la producción de fitohormonas promoviendo un efecto directo en el crecimiento radicular en las plantas, pues, una dosis excesiva puede inducir una inhibición del crecimiento de las raíces (Chiang *et al.*, 2019).

En el cultivo de calabacita la parte aprovechable durante todo su crecimiento vegetativo es el fruto, por lo que, existe una competencia constante entre el fruto y el tallo, hoja y peciolo, por esta razón los asimilados producidos por la actividad fotosintética de la planta se concentran en el fruto y no en la hoja. Lo anterior fue señalado por Suojala (2000) este autor afirma que en cultivos de raíz carnosa (Zanahoria) es la parte aprovechable durante todo su crecimiento vegetativo se presenta una competencia constante con la raíz fibrosa y la parte aérea por los asimilados producidos por la fotosíntesis.

Rendimiento

El rendimiento de fruto tuvo efectos significativos con la inoculación de BFN (Cuadro 3). En general este se incrementó con forme se aumentó la dosis de inoculación de la BFN, aunque, aquellas plantas que recibieron 60 ml de BFN fue aún más marcada el incremento del rendimiento de fruto en comparación de aquellas que recibieron 30 ml de estos microorganismos benéficos (Cuadro 3). Esto concuerda con los resultados obtenidos de Konda *et al.*, (1993); Dartayet (1997), la aplicación de bacterias fijadoras de nitrógeno en campos de producción debe aplicarse con una fertilización mineral del 100% de lo contrario el rendimiento se reduciría hasta un 33%. El incremento del rendimiento de fruto puede ser debido a que las BFN tienen capacidad de sintetizar fitohormonas para la proliferación de raíces e inducir el crecimiento radical y mayor absorción de nutrientes, pues de acuerdo con Gravel *et al.* (2006) encontró que en cepas de *Pseudomonas putida* son capaces de sintetizar AIA a partir de diferentes

precursores, encontrando además un incremento en el peso seco de la raíz y en la producción de frutos de plantas de maíz. Además, la inoculación de las BFN favorece la producción de frutos ya que, ayudan a que compuestos fosfatados orgánicos no disponibles para las plantas lo hacen disponibles para estas (Sanches *et al.*, 2012).

Cuadro 3. Efectos de las diferentes dosis de bacterias fijadoras de nitrógeno, aplicado a los tratamientos y las diferentes respuestas en las variables: altura de planta, PST, PSH, PSP, PSPA Y Rendimiento.

Bacterias (ml)	Altura de planta (cm)	PST (g)	PSH (g)	PSP (g)	PSPA (g)	Rendimiento (g planta ⁻¹)
0	69.57 ab	25.00 a	108.33 c	76.67 b	210.00 c	1083.67 b
30	72.00 a	29.00 a	170.67 a	83.67 ab	283.33 a	1337.33 b
60	65.00 b	29.00 a	139.67 b	90.00 a	255.67 b	1698.33 a
ANOVA	0.05	0.07	0.003	0.04	0.003	0.0026
C.V. (%)	3.39	5.73	6.40	4.76	2.36	6.36

Letras distintas indican diferencias significativas al 5% de acuerdo con Tukey. PST= Peso Seco de Tallo, PSH= Peso Seco de Hoja, PSP= Peso Seco Pecíolo, PSPA= Peso Seco de la Parte Aérea, ANOVA= Análisis de Varianza, CV= Coeficiente de Variación.

Una dosis de 30 ml de BFN influye en el aumento de la biomasa de la parte aérea, pero no en el rendimiento, ya que es menor, una dosis de 60 ml de BFN, la acumulación de biomasa en la parte aérea es menor, contrario a una dosis de 30 ml de BFN, sin embargo, el rendimiento aumenta en base que se aumenta la dosis de BFN. Esto se podría deber a que el nitrógeno entre los primeros días después de la siembra, se concentra en las hojas de las plantas, estos datos

coinciden con los descrito por Baldivia *et al.*, 2017 quien señala que entre los 19 DDE, la acumulación de N al igual que la de materia seca (MS) es baja, dado a que el N absorbido por la planta se acumula principalmente en la PA (87% del N total acumulado); el resto, (13%) se encontró en la PR (RC+RF), en el cultivo de rábano. La biomasa producida y los nutrientes que son absorbidos durante esta fase se utilizan para el establecimiento de la PA, porción donde 95% de la MS producida y los nutrientes son acumulados (Sosa *et al.*, 2017)

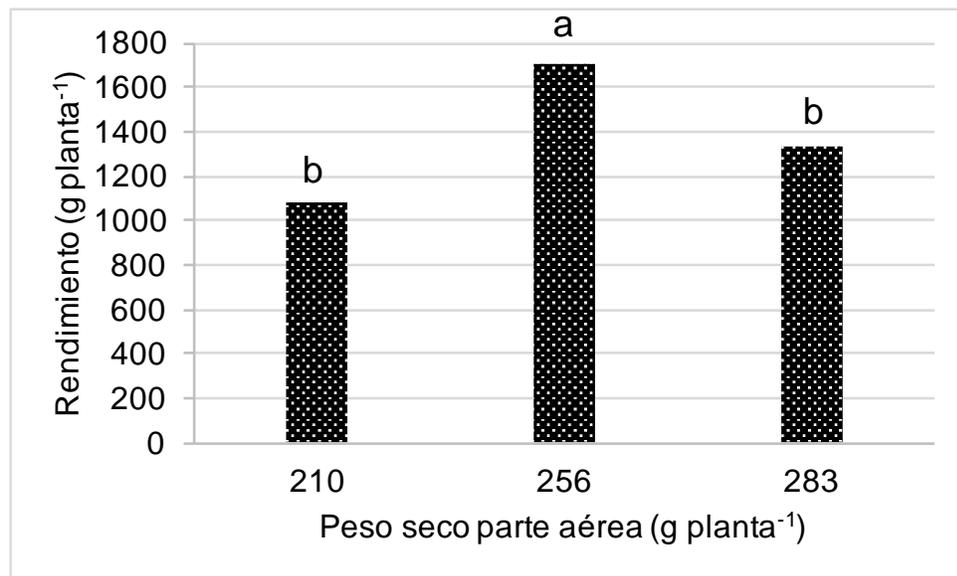


Figura 1.- Relación entre biomasa seca y rendimiento de las plantas de calabacita. Las letras a y b son las categorías obtenidas de la comparación de medias con Tukey al 0.05.

Una dosis de 40 L.ha⁻¹ de BFN influye de manera positiva en el aumento del rendimiento en comparación de una dosis de 20 L.ha⁻¹, pues a esta dosis el rendimiento se ve afectado, esto se podría deber a la elevada acumulación de biomasa seca total producida por las plantas, puesto que una vez que las plantas superan el margen de fotoasimilados durante el ciclo vegetativo y reproductivo el rendimiento por fruto decrece (Figura 2). Esto concuerda con los resultados obtenidos por Torriente, 2010, quien señala que la utilización de BFN, en especial

Azospirillum brasilense en la producción de cultivos agrícolas de intereses económicos puesto que aumenta el rendimiento, gracias al aporte de las fitohormonas vegetales, dosificaciones entre 30 y 45 L.ha⁻¹ producen tendencias a incrementar los rendimientos en el cultivo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*).

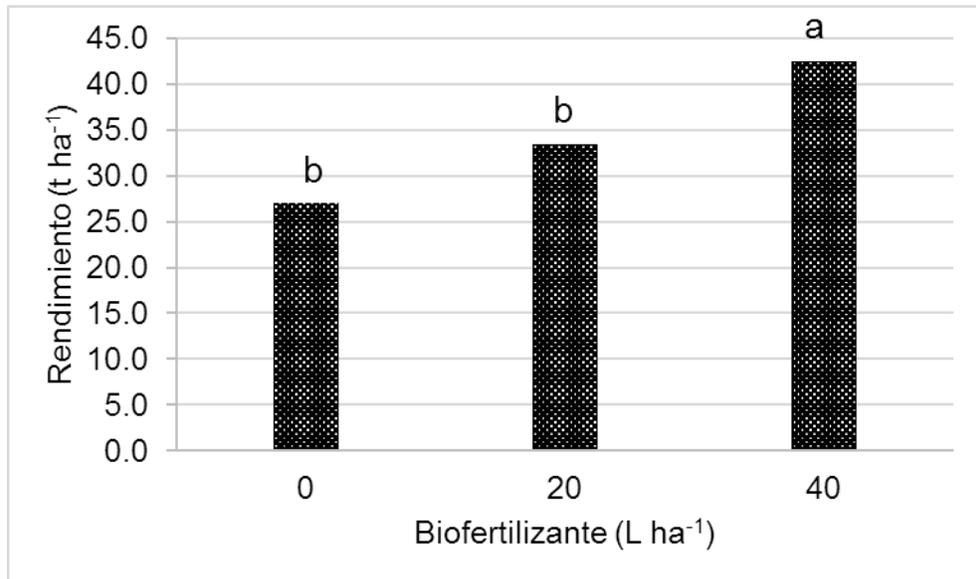


Figura 2.- Efecto del biofertilizante en el rendimiento de fruto de calabacita por hectárea, considerando 25 000 plantas por hectárea. Las letras a y b son las categorías obtenidas de la comparación de medias con Tukey al 0.05.

CONCLUSIÓN

Una adecuada dosis de BFN influye de manera positiva en la producción de biomasa seca total de cada órgano y en el rendimiento de las plantas, debido a la gran capacidad de las bacterias en la producción de fitohormonas responsables del crecimiento radical en las plantas, modificando su morfología y aumentando la biomasa, permitiéndoles un mayor anclaje, mejorando el aprovechamiento de los nutrientes y el agua. A si mismo dosis bajas no alcanzan a tener un efecto positivo, y dosis excesivas pueden inducir una inhibición del crecimiento de las raíces.

Para un mayor aumento en el rendimiento debe existir una relación entre lo vegetativo con lo productivo.

El mejor resultado se obtuvo cuando se aplicó una dosis de 30 ml de BFN, para la altura y la producción de biomasa, pero disminuye a una dosis de 60 ml de BFN, sin embargo, esta elevada dosis tiene un efecto positivo directo en el rendimiento, aunque ambas dosis no influyen en el peso seco del tallo.

LITERATURA CITADA

- Amer, K. H. (2011). Effect of irrigation method and quantity on squash yield and quality. *Agric. Water Manage.* 98:1197-1206.
- Amézquita, E., Friesen D. y Sanz J. I. (1999). Indicadores de Sostenibilidad: Parámetros Edafoclimaticos y Diagnostico del Perfil Cultural. Edición 313. CIAT. Cali, Colombia. Pp. 49-64
- Armenta-Bojórquez, A. D., García-Gutiérrez C., Camacho-Báez R. J., Apodaca-Sánchez M. A., Gerardo-Montoya L., y Nava-Pérez E. (2010). Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Ra Ximhai.* 6 (1): 51- 56.
- Ardila, L. (2007). Fijación de Nitrógeno atmosférico. *Agricultura Sensitiva.* Disponible en: http://www.agriculturasensitiva.com/n_atmosferico.htm. Citado 24 de octubre del 2018.
- Azevedo, J.L. (1998). Biodiversidad Microbiana y Potencial Biotecnológico. In: Melo, I.S.de e Azevedo, J.L.(ed.). *Ecología Microbiana.* EMBRAPA CNPMA, Jaguariúna.
- Bergh, R. G. (1997). Dinámica del nitrógeno, crecimiento y rendimiento de trigo bajo siembra directa y labranza convencional. Tesis MSc. Facultad de Ciencia Agrarias, Un. Nac. Mar del Plata. Balcarce, Buenos Aires. 75 p.
- Bethlenfalvai, G.J. (1993). The mycorrhizal plant-soil system in sustainable agriculture. Pp. 127 – 133. In: R. Ferrera-Cerrato y R. Quintero Lizaloe (eds). *Agroecología,* Un. Nac. Mar del Plata. Balcare, Buenos Aires. 75 p.
- Barea, J. M., Pozo M. J., Azcón-Aguilar. (2005). Microbial cooperation in the rhizosphere. *J Exp Bot.* 56(417):1761-1776.
- Brown, D. (2010). A mathematical model of the Gac/ Rsm quorum sensing network in *Pseudomonas fluorescens*. *Biosystems.* 101: 200-212.
- Bolivar-Anillo, H. J., Contreras-Zentella M. L., y Teherán-Sierra L. G. (2016). *Burkholderia tropica* una bacteria con gran potencial para su uso en la agricultura. *Revista Especializada en ciencias químico-biológicas.* 19 (2): 102–108.

- Carvajal, M. J. S., Y Mera B. A. C. (2010). Fertilización biológica: técnicas de vanguardia para el desarrollo agrícola sostenible. *Producción + Limpia*. 5(2): 79-96.
- Clavijo, C., Chipana V., Centeno J., Zuñiga D., Carlos G. (2012). Aislamiento, caracterización e identificación de bacterias diazotróficas de la rizosfera del cultivo de *Olea europea* (Olivo) en Tacna, Perú. *Revista Ecología Aplicada*. 11(2): 89-102.
- Celaya-Michel H., y Castellanos-Villegas A. E. (2011). Mineralización de nitrógeno en el suelo de zonas áridas y semiáridas. *Revista Terra latinoamericana*. 29(3): 343 –356.
- Carvajal, C. F. J. (1960). Estudio de las deficiencias de nitrógeno, potasio, magnesio, boro y manganeso, en plantas de café (*Coffea arabica* Var. Typica). *Biología tropical*. 8 (2): 165 -179.
- Castaño, M. C. A., Morales L C. S., y Obando M. F. H. (2008). Evaluación de las deficiencias nutricionales en el cultivo de la mora (*Rubus glaucus*) en condiciones controladas para bosque montano bajo. 16(1): 75 – 88.
- Calvo, V. P., Reymundo M. L., Zuñiga D. D. (2008). Estudio de las poblaciones microbianas de la rizosfera del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en zonas altoandinas. *Rev. Ecología aplicada*. 7 (1, 2): 141 – 148.
- Celaya-Michel, H. y Castellanos-Villegas A. E. (2011). Mineralización de nitrógeno en el suelo de zonas áridas y semiáridas. *Rev. Terra latinoamericana*. 29 (3):343 – 356.
- Cano, M. A. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma spp.* y *Pseudomonas spp.* *Rev. U.D.C.A. (Actualidad y divulgación científica)*. 14 (2): 15 – 31.
- Calvo, P., y Zuñiga D., (2010). Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus spp.* Aisladas de la rizosfera de papa (*Solanum tuberosum*). *Rev. Ecología aplicada*. 9 (1): 31 – 39.
- Chatli, A.S., Beri, V. y Sidhu, B.S. (2008). Isolation and characterisation of phosphate solubilising microorganisms from the cold desert habitat of Salix

- alba Linn. in trans Himalayan region of Himachal Pradesh. Rev. Indian Journal of Microbiology. 48: 267-273.
- Díaz, V. P., Ferrera C. R., Almaraz S. J., y Alcántar G. G. (2001). Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. Rev. Terra Latinoamericana. 19 (4): 327 – 335.
- De Freitas, J.R. y J.J. Germida. (1992). Growth promotion of winter wheat by *Pseudomonas fluorescens* under growth chamber conditions. Rev. Soil Biol. Biochem. Vol. 24: 1127-1135.
- Dibut, B. (1994). Dimargon nuevo medio de cultivos para la producción industrial de biopreparados a base de *Azotobacter chroococcum*. Rev. Cultivos Tropicales. Vol. 15 (1): 12-14.
- Elliott, L.F., Lynch JM, Papendick RI. 1996. The microbial component of soil quality. In: Stotzky G, Bollag JM (eds) Soil biochemistry. Marcel Dekker, New York, pp 1–21.
- Escobar, C., Horna Y., Carreño C., y Mendoza G. (2011). Caracterización de cepas nativas de *Azotobacter* spp. y su efecto en el desarrollo de *Lyocopersicum esculentum* Mill. “tomate” en Lambayeque. Rev. Scientia agropecuaria. Vol. 2: 39 – 49.
- Fabrizzil K., Pionce L., Berardo A., Garcia F. (1998). efecto de la fertilización nitrogenada y fosfatada en las propiedades químicas de un agriudol típico. Rev. Ciencia del Suelo. Vol. 16: 71 – 76.
- Felipe-Morales, C. (2002). Manejo agro ecológico del suelo en sistemas andinos. En Agroecología: el camino hacia una agricultura sustentable, Ediciones Científicas Americana, Argentina
- Falotico, J. L., Studder T. F. A., y Echeverria H. E. (1999). Nutrición nitrogenada del trigo bajo siembra directa y labranza convencional. Rev. Ciencia del suelo. Vol. 17 (2): 9 – 20.
- Ferreras, L. (1996). Efecto de los sistemas de labranza sobre las propiedades físicas de un suelo del Sudeste Bonaerense. Tesis MSc. Facultad de Agronomía, Un. Buenos Aires, Buenos Aires. 62 p.

- García, V. D., Mamani, G. G., Román C. N., Suarez S. L., Contreras, M. A., Malca J. J. (2011). Efecto de la adición de materia orgánica sobre la dinámica poblacional bacteriana del suelo en cultivos de papa y maíz. *Rev. Peruana de biología*. Vol. 18 (3): 355 – 360.
- García-González, M.M., Farías-Rodríguez R., Peña-Cabriales J.J. y Sánchez-Yáñez J.M. (2005). Inoculación del trigo var. Pavón con *Azospirillum* spp. y *Azotobacter beijerinckii*. *Rev. Terra Latinoamericana*. 23 (1): 65 – 72.
- Girvan, M. S., Bullimore J., Pretty J. N., Osborn A. M., and Ball A. S. (2003). Soil type is the primary determinant of the composition of the total and active bacterial communities in arable soils. *Appl Environ Microbiol*. 69:1800-1809.
- Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*. 41: 109-117.
- Grazia, De J., Tittonell, P. A., y Chiesa, A. (2001). Efecto de la época de siembra, radiación y nutrición nitrogenada sobre el patrón de crecimiento y el rendimiento del cultivo de lechuga *Lactuca sativa* L. *Rev. Researchgate*. Vol. 16 (3): 356 – 365.
- Guevara., Hernández, A., San Juan A. N., y Gómez E. (2014). NITROFIX: Alternativa para la agricultura orgánica y sostenible. *Revista. Agricultura Orgánica*. Vol. 20 (2): 14-15.
- González, M. y López, J. (1986). Production of auxinas, gibberellins and cytokinins by *Azotobacter vinelandii*. ATCC1283, in chemically defined media and dialyzed soil media. New York, Eun. McGraw-Hil: 119 – 120.
- Hernández, A. E., Ferrera-Cerrato R., y Rodríguez V. R. (2003). Bacterias de vida libre fijadoras de nitrógeno atmosférico en rizósfera de frijol contaminada con queroseno. *Rev. Terra Latinoamericana*. Vol. 21 (1): 81-89.
- Jeffrey, C. (1990). Appendix. An Outline classification of the Cucurbitaceae, In: Bates, D. M., W. R. Robinson y C. Jeffrey (eds.). *Biology and utilization of the Cucurbitaceae*. Cornell University Press, Ithaca, Nueva York. Pp. 449 – 463.
- Jeffrey, C. (1978). Cucurbitaceae. In: V. H. Heywood (ed.). *Flowering plants of the World*. Mayflower Books. Nueva York. pp. 115 – 117.

- 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. *Rev. Phytopathology*. 70:1078-1082.
- Killham, K. (1994). *Soil Ecology*. Cambridge University Press, United Kingdom, pp 242.
- Keeney, D. R. (1982). Nitrogen management for maximum efficiency and minimum pollution. *Farmed soils, fertilizer, agroecosystems. Agronomy. Rev. A series of monographs*. 22: 605-649.
- Knowles, T. C., Hipp, B. W., Graff, P. S., Marshall, D. S. (1993). Nitrogen nutrition of rainfed winter wheat in tilled and no-till sorghum and wheat residues. *Agronomy Journal*. 85: 886-893.
- Kurek, E. y J. Jaroszuk-Scisel. (2003). Growth promotion by *Pseudomonas fluorescens* strains and their interactions with *Fusarium culmorum* under various soil conditions. *Biologica Control*. 26: 48-56.
- Lara, C., Villalba, M., Oviedo, L. (2007). Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la Zona agrícola de San Carlos. Córdoba, Colombia. *Colombiana de Biotecnología*. 9 (2): 6 – 14.
- Lira, R., Jiménez R. C., Alvarado, J., Rodríguez I., Castrejón J., y Domínguez M. A. (1998). Diversidad e importancia de la familia Cucurbitaceae en México. *Acta Botanica Mexicana*. 42: 43 – 77.
- Lira, R., Rodríguez J, C., Alvarado J., Rodríguez I., Castrejón J., y Domínguez M. A. (1998). Diversidad e importancia de la familia Cucurbitaceae en México. *Acta Botánica mexicana*. 42: 43 – 77.
- López-Mtz., J. D., Estrada A. D., Antonio., Rubin E. M., & Valdez C. R. D. 2001. Abonos orgánicos y su efecto en propiedades físicas y químicas del suelo y rendimiento en maíz. *Terra Latinoamericana*. 19(4): 293-299
- Lucy, M., Reed E., Glick B. R. (2004). Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 86: 1-25.
- Lynch, J.M. (1990). *The rhizosphere*. John Wiley. New York.

- Martínez-Viera, R., Dibut B., y Yoania Ríos. (2010). Efecto de la integración de aplicaciones agrícolas de biofertilizantes y fertilizantes minerales sobre las relaciones suelo-planta. *Cultivos tropicales*. 31(3): 00-00
- Millar, C. E. (1964). *Fertilidad del suelo*. Salvat, Barcelona. 477 p.
- Mays-Figueroa J. (2004). Fijación biológica de nitrógeno. *UDO Agrícola*. 4 (1): 1-20.
- Nannipieri, P., Ascher J., Ceccherini M.T., Landi L., Pietramellara G. E y Renella G. (2003). Microbial Diversity and Soil Functions. *European Journal of Soil Science*. 54(4):655–670.
- Olalde P. y Aguilera L. (1998). Microorganismos y Biodiversidad. *Revista Terra*. 16: 289–292.
- Obando, C. D. M., Burgos Z. L. B., Rivera B. D. M., Rubiano G. M. F., Divan B. V. L., y Bonilla B. R. R. (2010). Caracterización de bacterias diazotróficas asimbióticas asociadas al eucalipto (*Eucalyptus sp.*) en codazzi, Cesar (Colombia). *Acta Colombiana*. 15(3): 107 – 120.
- Pineda, S. L. D. y Suárez H. J. E. (2014). Elaboración de un SIG orientado a la zonificación agroecológica de los cultivos. *Revista Ingeniería Agrícola*. 4(3): 28-32
- Rodas-Gaitán, H. A., Rodríguez -Fuentes H., Ojeda-Zacarías Ma. del C., Vidales-Contreras J. A., y Luna-Maldonado A. I. (2012). Curvas de absorción de macronutrientes en calabacita italiana (*Cucurbita pepo L.*). *Revista Fitotecnia Mexicana*. 35 (5): 57 – 60.
- Ramanathan, V., Cicerone R. J., Singh H. B. and Kiehl (1985). Trace gas trends and their potential role in climate change. *J. Geophys. Res.* 90: 5547-5566
- Referencia bibliográfica QUINTERO DURÁN, R. Fertilización y nutrición. En: CENICAÑA. *El cultivo de la caña en la zona azucarera de Colombia, Cali*, CENICAÑA, 1995. p.153-177.
- Russell, E. J. y Russell E. W. (1968). *Las condiciones del suelo y el crecimiento de las plantas*. Aguilar, Madrid. 801 p.
- Ruiz, C., Russian T., Tua D. (2007). Efecto de la fertilización orgánica en el cultivo de la cebolla. *Agronomía Tropical*. 57 (1): 7 -14

- Riser-Roberts, E. (1998). Monitoring bioremediation. In: Remediation of petroleum contaminated soils. Biological, physical and chemical processes. Lewis Publishers. Boca Raton, FL. p. 542.
- Rodríguez, M., M.N. (1995). Microorganismos libres de nitrógeno. In: R. Ferrera-Cerrato y J. Pérez-Morreno (eds.). Agromicrobiología, elemento útil en la agricultura sustentable. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. pp. 105-126.
- Romero, L., María del R., Trinidad A. S., García R. E. y Ferrara R. C. 2000. Producción de papa y biomasa microbiana en suelo con abonos orgánicos y minerales. *Agrociencia* 34: 261-269.
- Rueda-Puente, E., Beltrán-Morales F., Ruíz-Espinoza F., Valdez-Cepeda R., García-Hernández J., Ávila-Serrano N., Partida-Ruvalcaba L., y Murillo-Amador B. (2011). opciones de manejo sostenible del suelo en zonas árida: aprovechamiento de la halófito *salicornia bigelovii* (torr.) y uso de biofertilizantes en la agricultura moderna. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 13(2): 157-167.
- Reis, V.M., Baldani J.I., Baldani V.L.D. y Döbereiner J. (2000). Biological dinitrogen fixation in gramineae and palm trees. *Crit. Rev. Plant Soil*. 19: 227-247
- Rosas, S.B., Vanzini G., Carlier E., Pasluosta C., Pastor N. y Rovera M. (2009). Root colonization and growth promotion of wheat and maize by *Pseudomonas aurantiaca* SR1. *Soil Biology & Biochemistry*. 41:1802-1806.
- Sánchez, C., R. Rivera C., González y Cupull R. (1998). Efectos de las aplicaciones de *Azotobacter* sobre la germinación y el desarrollo las posturas de café. en *Programas y Reuniones XI Sem. Científico, INCA, La Habana, MES*. pp 182
- SAS Institute. (2010). *User's Guide: Estadistics, versión 9.1*. SAS Inst. Inc., Cary, North Caroline, USA.
- Sedano-Castro, G., González-Hernández V., Engleman E., y Villanueva-Verduzco C. (2005). Dinámica del crecimiento y eficiencia fisiológica de la planta de calabacita. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 11(2): 291-297.

- Sedano-Castro, G., González-Hernández V.A., Saucedo-Veloz C., Soto-Hernández M., Sandoval-Villa M., y Carrillo-Salazar J.A. (2011). Rendimiento y calidad de frutos de calabacita con altas dosis de N y K. *Terra latinoamericana*. 29(2): 133–142.
- Sorensen, J., Johansen, A., y Poulsen, S. (1994). Influence of growth conditions on the value of crisphead lettuce: 1. Marketable and nutritional quality as affected by nitrogen supply, cultivar and plant age. *Plant-Foods for Human Nutrition*. 46: 1-11.
- Larrea, O. (2001). Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Rev. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*. 62: 96-100.
- Tisdale, S. L. y Nelson W. L. (1966). *Soil fertility and fertilizers*. MacMillan, Nueva York. 694 p.
- Taller, G.J. y Wong T. (1989). Cytokinins in *Azotobacter vinelandii* culture medium. *Appl. Environmental Microbiology*. 55: 266-267.
- Tien, T. M., Gaskins M. H. And Hubbell D. H. (1979). Plant Growth Substances Produced by *Azospirillum brasilense* and Their Effect on the Growth of Pearl Millet (*Pennisetum americanum* L. *Applied and Environmental Microbiology*. 37 (5): 1016 – 1024.
- Villalobos, R., E. (2001). *Fisiología de la producción de cultivos tropicales*. EUCR. San José, Costa Rica.
- Vessey, J. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*. 255: 571-586.
- Velez B.L., y Orellana A. H. (2010). Evaluación de cepas de *azotobacter* spp en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* var. Green Salad Bowl). Tuambaco, Pichincha. *Congresos ecuatorianos de la ciencia del suelo*. 1 – 8.
- Vessey, J.K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*. 255: 571-586.
- Zink, F.W., Yamaguchi M., (1962). Studies on the growth rate and nutrient absorption of head lettuce. *Hilgardia*. 32: 471-485.

Citas Web

Disponible en: <http://hidroponia.mx/calabaza-uno-de-los-principales-cultivos-en-mexico/> Citado: 20 de octubre del 2018.

Disponible en:
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/71237/MargenesComer_Calabacitalaliana_Marzo2016.pdf, Citado: 21 de octubre del 2018

Disponible en: <http://www.infoagro.com/hortalizas/calabacin.htm> Citado: 22 de octubre del 2018.

Disponible en: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2018. Citado el 25 de octubre del 2018.

Disponible en:
http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/bioseseguridad/pdf/20870_sg7.pdf
el 15 de octubre de 2018.