

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



**ESTUDIO EN PLÁNTULAS DE LECHUGA (*Lactuca sativa* var.
Salinas) INOCULADAS CON *Azospirillum* sp Y CUBIERTAS
PLÁSTICAS DE COLORES**

Por:

Diana María Sifuentes Saucedo

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Junio de 2007

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA**

ESTUDIO EN PLÁNTULAS DE LECHUGA (*Lactuca sativa* var. Salinas)
INOCULADAS CON *Azospirillum* sp Y CUBIERTAS PLÁSTICAS DE
COLORES.

TESIS

Presentada por:

SIFUENTES SAUCEDO DIANA MARÍA

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito
parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Aprobado por:

Dr. José Hernández Dávila
Asesor principal

Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal
Sinodal

MC. Luís Rodríguez Gutiérrez
Sinodal

Dr. Rubén López Cervantes
Sinodal

M. C. Arnoldo Oyervides García
Coordinador de la División de Agronomía

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Junio de 2007

Junio de 2007.

El presente trabajo de investigación derivó del proyecto 02-03.0304-2358, con financiamiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, siendo la responsable la Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal, quién fue la directora de tesis de la alumna Diana María Sifuentes Saucedo, del trabajo titulado:

“Estudio en plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* var. *salinas*) inoculadas con *Azospirillum* sp y cubiertas plásticas de colores”

Presentado como requisito para obtener el título de Ingeniero Agrónomo en Horticultura.

Por este conducto se extiende la presente constancia.

M. C. Arnoldo Oyervídes García
Coordinador de la División de Agronomía

Buenavista, Saltillo, Coahuila.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES

Eustacio e Irma Quiero empezar dándoles las gracias por haberme heredado el tesoro más grande que se le puede dar a una hija: AMOR.

Mami: No se como agradecer todo lo que has hecho por nosotras, te admiro por ser como eres una buena madre, pero mas que eso; mi mejor amiga. Tú con tus consejos y comprensión has podido guiarme. Gracias mami por confiar en mi y por todos esos momentos bellos que hemos compartido, y por todo eso. Te quiero.

Papi: Tu has sido un ejemplo para mi, luchas día a día para salir adelante tu tienes un gran tesoro que somos tus hijas y nosotras te tenemos a ti, gracias por confiar en mi y por apoyarme para salir adelante, por tu comprensión y paciencia. Te quiero.

A MIS HERMANAS

Caro: Tu has sido un ejemplo a seguir, te agradezco por ser mi fortaleza para salir adelante, te admiro como hermana, amiga y mejor persona.

Ale: A ti que has sido más que una hermana para mi solo me queda decirte... Gracias.

A RAMIRO HERNANDEZ BADILLO

Por su amistad incondicional, por integrarse a mi familia dando amor y comprensión a una de las personas que más quiero, y porque juntos han dado vida a un nuevo ser. Gracias.

A MIS AMIGOS

A todos mis compañeros y amigos, Nina, Midiam, Berta, Cleiver, Raquel, Rosemberg, Marcos, Toño, Rudy, Coki, Orbelio, Mario, Paco, Galileo, Maynor, Ismael, Jacobo, Isaías, Amilkar, Isaí, Emilio, Osmar, Martín, Arturo, Víctor y Dover. Quienes me enseñaron el valor de la amistad, alegrías, tristezas, que siempre llevaré en mi corazón, por tantos momentos compartidos, y en especial a la generación CII.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por que gracias a el he podido ser y construir lo que hasta ahora soy, por darme salud y guiarme por el mejor camino en todo momento, pero sobre todo darme la fe de creer en él.

A MI ALMA TERRA MATER

Por haber permitido que me formara y creciera profesionalmente, y durante todo este tiempo compartir y conocer otras culturas y personas que nunca olvidaré, estaré eternamente agradecida.

A MIS ASESORES

DRA. ROSALINDA MENDOZA VILLARREAL

DR. JOSE HERNANDEZ DAVILA

M.C. LUIS RODRIGUEZ GUTIERREZ

DR. RUBEN LOPEZ CERVANTES

ING. JUAN MANUEL RODRIGUEZ CERDA

Gracias por haberme permitido realizar el presente trabajo de investigación; proporcionándome sus conocimientos y experiencia. Por su apoyo y amistad, de igual forma por la paciencia que tuvieron hacia mí, nuevamente gracias.

INDICE DE CONTENIDO

	Pagina
I. INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO.....	3
HIPÓTESIS.....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Origen e Importancia de la Lechuga.....	4
Lugar de Domesticación.....	4
Clasificación Botánica.....	4
Características botánicas.....	4
Raíz.....	6
Tallo.....	6
Hoja.....	6
La Flor.....	6
El Fruto.....	7
La Semilla.....	7
Requerimiento climáticos.....	7
Temperatura.....	7
Altitud.....	7
Latitud.....	7
Importancia Económica.....	8
Producción Nacional.....	8
Importancia de las cubiertas plásticas.....	8

Materiales usados.....	9
Plásticos de uso agrícola.....	9
Propiedades físicas de los plásticos.....	1
Propiedades ópticas de los plásticos utilizados en la	
Agricultura.....	11
Trabajos de investigación realizados por fotoselectivos...	13
Historia del Azospirillum sp.....	15
Clasificación Taxonómica.....	17
Distribución.....	17
Aislamiento.....	18
Interacción.....	19
Producción de hormonas de crecimiento.....	20
Cambios morfológicos en raíz por Azospirillum.....	21
III.MATERIALES Y METODOS.....	24
Localización geográfica.....	24
Macrotuneles.....	24
Materiales.....	24
Material biológico.....	24
Preparación de sustrato y semilla.....	24
Sustrato.....	24
Inoculación.....	25
Siembra.....	25
Diseño experimental.....	25
Variables evaluadas.....	26

Longitud de raíz.....	26
Área foliar.....	26
Peso fresco de hojas y raíz.....	26
Peso seco de hojas y raíz.....	
IV RESULTADOS Y DISCUSION.....	26
Area foliar.....	28
Longitud de raíz.....	30
Peso fresco del tallo.....	32
Peso seco del tallo.....	34
Peso fresco de raíz.....	35
Peso seco de raíz.....	38
V.CONCLUSIONES.....	40
VI.RESUMEN.....	41
VII. LITERATURA CITADA.....	43

INDICE DE CUADROS

Pagina

Cuadro 4.1. Cuadrados medios del ANVA para área foliar en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de <i>Azospirillum sp.</i> Bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.	28
Cuadro 4.2 Comparación de medias del Factor A, B y de la Interacción en la variable área foliar en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de <i>Azospirillum sp.</i> bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.....	29
Cuadro 4.3. Cuadrados medios del ANVA para longitud de raíz en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de <i>Azospirillum sp.</i> bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.....	30
Cuadro 4.4. Comparación de medias del Factor A, B y de la Interacción en la variable longitud de raíz en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentración es de <i>Azospirillum sp.</i> bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.....	31
Cuadro 4.5. Cuadrados medios del ANVA para peso fresco del tallo en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de <i>Azospirillum sp.</i> bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN, 2006.....	32
Cuadro 4.6. Comparación de medias del Factor A, B y de la Interacción en la variable peso fresco del tallo en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de <i>Azospirillum sp.</i> bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.....	33
Cuadro 4.7. Cuadrados medios del ANVA para peso seco del tallo en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de <i>Azospirillum sp.</i> bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.....	34
Cuadro 4.8. Comparación de medias del Factor A, B y de la Interacción en la variable peso seco del tallo en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de <i>Azospirillum sp.</i> bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006	35

Cuadro 4.9. Cuadrados medios del ANVA para peso fresco de raíz en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de <i>Azospirillum sp.</i> bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.....	36
Cuadro 4. 10. Comparación de medias del Factor A, B y de la Interacción en la variable peso fresco de raíz en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de <i>Azospirillum sp.</i> bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006	37
Cuadro 4.11. Cuadrados medios del ANVA para peso seco raíz en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de <i>Azospirillum sp.</i> bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.	38
Cuadro 4.12. Comparación de medias del Factor A, B y de la Interacción en la variable peso seco de raíz en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de <i>Azospirillum sp.</i> bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.....	39

I. INTRODUCCIÓN

Las hortalizas suelen ser un alimento básico en la gastronomía de cualquier país o cultura. Dentro de éstas, la lechuga es pieza fundamental en el arte culinario por su utilización en todo tipo de comida; aunado a la gran demanda que tiene en la actualidad por sus características de alto valor nutritivo y equilibrio orgánico. La lechuga se encuentra en el mercado en cualquier época del año y como el resto de las hortalizas, es un buen abastecedor de vitaminas, minerales y sales, indispensables para el organismo.

Tan amplia como la historia de la lechuga en América, es la de nuestros productores, quienes han mantenido sus tradiciones en el manejo y la comercialización, con diferencias abismales en los sistemas de producción de las diferentes regiones del país.

Dado que el crecimiento y desarrollo de los cultivos es afectado fuertemente por la temperatura, su magnitud determinará la rapidez con que se logre establecer un volumen de follaje fotosintético, afectando por lo tanto el rendimiento, al modificar el período durante el cual un cultivo podrá captar la energía solar. Por lo general, interesa anticipar la fecha típica de inicio de cosechas, lo cual se consigue proporcionando condiciones térmica mas favorables. Es el caso conocido de los cultivos protegidos, donde los invernaderos representan la mayor expresión de esta condición, y los túneles altos son medios efectivos para incrementar la temperatura para el desarrollo de las plantas.

No obstante, se sabe que en la producción de cultivos bajo cubierta también se modifica la temperatura del suelo, observándose efectos aun más drásticos al aplicar medidas que incrementen la producción anticipada. En la

actualidad el polietileno (PE) es la opción más frecuentemente utilizada como cubierta de este tipo de estructuras, por su bajo costo, fácil aplicación y remoción. Aunque se discute su impacto ambiental, debido a su lenta degradación. Actualmente se utilizan diferentes tipos de plásticos para las cubiertas en cuanto a su espesor y color (negro, gris, rojo, amarillo, azul, transparente verde, blanco, entre otros) que tienen efectos básicos, pero algunos también modifican el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Por otra parte, en años recientes, se ha retomado el interés de bacterias promotoras de crecimiento en la producción de cultivos. Estas bacterias se han aplicado a semillas, tubérculos o raíz, y son capaces de colonizar las raíces de las plantas y estimular el crecimiento y rendimiento de cultivos.

Se conoce un gran número de bacterias de vida libre o asociativa que fijan N_2 , pero sólo algunas destacan por su potencial como biofertilizantes o promotoras de crecimiento.

El género *Azospirillum* se ha clasificado dentro del grupo de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB), habiéndose aislado diferentes especies y cepas de un amplio rango de hábitats y en asociación con numerosas especies vegetales, incluyendo hortalizas cultivables. Se ha propuesto que el principal mecanismo por el cual *Azospirillum* estimula el crecimiento vegetal es a través de la producción de fitohormonas tales como giberelinas, auxinas y citoquininas, producidas por la bacteria y/o por la planta, en respuesta a la inoculación

Actualmente son reconocidas seis especies en el género *Azospirillum*, esta es una bacteria mas asociada a las plantas y se dice que los mecanismos del efecto de las bacterias promotoras de crecimiento no son bien comprendidos; sin embargo, se ha sugerido un amplio rango de posibilidades que incluye efectos directos o indirectos. El efecto directo consiste en un aumento en la

movilización de nutrientes solubles, seguido por el mejoramiento de absorción de las plantas. Los efectos indirectos incluyen el aumento de fijación de N₂, al mejorar la longitud de la raíz y el aumento de la actividad nitrogenasa, los cuales inducen resistencia sistémica a la planta.

OBJETIVOS

1.- Evaluar la respuesta de lechuga al uso de *Azospirillum sp.* (Inoculado en semilla) y su interacción con el color del polietileno del macrotúnel.

2.- Evaluar la longitud de raíz, área foliar, peso fresco y seco del tallo y raíz, al inocular con cuatro concentraciones de *Azospirillum sp.*

HIPOTESIS

Al inocular la semilla de *Azospirillum sp* se incrementa el área foliar, longitud de raíz y la biomasa, por que la bacteria promueve el crecimiento de la planta, dicho efecto se potencializa con macrotúneles de polietileno de color amarillo, blanco y rojo.

II. REVISION DE LITERATURA

Origen e importancia de la lechuga

El origen de la lechuga no parece estar muy claro, aunque algunos autores afirman que procede de la India, hoy día los botánicos no se ponen de acuerdo, ya que existe un seguro antecesor de la lechuga, *Lactuca scariola* L., que se encuentra en estado silvestre en la mayor parte de las zonas templadas, siendo las variedades cultivadas actualmente una hibridación entre especies distintas. Se ha propuesto diferentes hipótesis sobre el origen de la lechuga (Lindquist, 1960):

- 1.- La lechuga cultivada podría provenir de una forma silvestre de *L. sativa*. Esta hipótesis no se puede mantener, ya que no se conoce ninguna forma silvestre.
- 2.- Podría pensarse que la lechuga cultivada se originó directamente de *L. scariola* (Ryder y Whitaker, 1976), con la introgresión simultánea de otras especies o de un pool genético más grande (De Vries y Van Raamsdonk, 1994).

Lugar de Domesticación

Este cultivo se remonta a una antigüedad de 2,500 años, siendo conocida por griegos y romanos. Las primeras lechugas de las que se tiene referencia son las de hoja suelta, aunque las acogolladas eran conocidas en Europa en el siglo XVI. Los egipcios las empezaron a cultivar 2400 años antes de esta era y se supone que la utilizaban para extraer el aceite de las semillas así como para forraje; en pinturas encontradas en tumbas egipcias, aparecen plantas que se asemejan a las lechugas romanas o tipo con hojas alargadas y terminadas en punta.

Sin embargo, De Vries (1997) argumenta que el mayor número de especies silvestres relacionadas se encuentra entre las riberas del Tigris y Eufrates,

mientras que el valle del Nilo solamente se encuentra la especie relacionada con *L. serviola*. Por otra parte, en Mesopotamia se conoce la existencia de culturas cerealistas con anterioridad a las correspondientes de Egipto, lo cual hace probable que esta zona sea el centro de origen.

Clasificación botánica

División----- Embriophita sipponogamea

Subdivisión----- Angioespermae

Clase----- Dicotyledoneae

Orden-----Asterales

Familia----- Asteraceae

Sub-Familia-----Ligubidaceae

Género----- *Lactuca*

Especie----- *sativa* L.

Características botánicas

La lechuga es una planta anual que pertenece a la familia Asteraceae y corresponde a la especie *Lactuca sativa*, presenta una gran diversidad genética ya que existen diferentes tipos de especies caracterizados por sus diferentes tipos de hojas y hábito de crecimiento de la planta. Por lo anterior, las lechugas se clasifican en diferentes especies dentro de las cuales se encuentran la de hoja suelta *Lactuca sativa* L. var. *Crispa* L., conocidas como escarolas ya que sus hojas son numerosas y de borde irregularmente recortado (crespo), se cultiva para consumo en ensalada y también para forraje. Dentro de esta variedad se engloban el tipo iceberg y el tipo batavia. Y las lechugas de cabeza *Lactuca sativa* L. var. *Capitata* (L.) Janchen que presentan hojas lisas, orbiculares y de textura suave o mantecosa con hojas internas que forman un cogollo amarillento al envolver a las más nuevas formando una cabeza; se caracteriza por presentar hojas suaves y muy tiernas. Durante su etapa

fenológica presenta dos periodos; en el primero, el crecimiento es vegetativo y en el segundo se da la fase reproductiva. Y la *Lactuca sativa* L. var. Longifolia Lam., estas plantas forman un cogollo erecto, apretado, columnar, de hojas obtusas y con la nervadura central muy ancha. Se cultiva por las hojas que se consumen como verdura. Pertenecen a esta variedad el tipo romana o “latin group” y el tipo cos, de cogollos más grandes y compactos. Ambos tipos de plantas tienen hojas oblongas rígidas con un nervio principal muy marcado. Las hojas tienen una textura crujiente.

La raíz. Nunca llega a sobrepasar los 25 centímetros de profundidad, es pivotante, corta y con ramificaciones.

El tallo. Es comprimido y en éste se ubican las hojas muy próximas entre sí, generando el hábito de roseta típico de la familia. Es cilíndrico y ramificado.

Las hojas. Las hojas son grandes, simples, sésiles, brillantes, de forma redondeada, oblonga, de superficie glabra, lisa u ondulada, de color verde, pasando por amarillo hasta rojo y con margen irregularmente sinuoso, recortado, cesposo o denticulado. La disposición de las hojas en el tallo es variable; como se mencionó anteriormente, en algunas especies las hojas se mantienen desplegadas y abiertas y en otras, en cierto momento del desarrollo, las hojas se expresan de tal manera que forman una cabeza o cogollo más o menos consistente y apretado.

La flor. Cuando la lechuga está madura emite el tallo floral, que se ramifica y alcanza una altura de hasta 1.20 metros, se observa una diferencia de hojas abrasadoras, sagitadas, auriculadas y progresivamente más pequeñas hacia su extremo distal, en que se produce un capítulo terminal y una serie de ramas con muchos capítulos pequeños agrupados en paniculas o corimbos. Cada capítulo se compone de entre 10 y 20 flores perfectas, linguladas, de corola color amarillo o blanco amarillento.

El fruto. Después de la autofecundación se producen frutos secos, indehiscentes y uniseminados llamados aquenios, generalmente con pelos apicales formando el valino; los que son comprimidos, agudos de 2 a 3 mm de largo, blancos o negros, y son conocidos en términos prácticos como la “semilla” de la especie.

La semilla. En algunas variedades de lechuga las semillas tienen un periodo de latencia después de su recolección, que es inducido por altas temperaturas. Muchas variedades germinan mal en los primeros dos meses después de su recolección.

Requerimientos climáticos

Temperatura

Es un cultivo de clima templado (fresco), la temperatura mínima requerida en el suelo para la germinación es de 1.7 ° C con un rango óptimo de 4.4° a 26° C y 29.4° C como máximo. Para la etapa vegetativa requiere una temperatura mínima de 7.2° C, el rango óptimo es 15.5° a 18.3° C y un máximo de 24° C.

Altitud

Este cultivo se desarrolla desde una altitud de 1 hasta 2200 msnm, son plantas que se adaptan principalmente a los climas templados, aunque también prosperan en climas cálidos y fríos, siempre y cuando se realicen en estaciones propicias y con temperaturas constantes (Lerma, 1975).

Latitud

Es una hortaliza que presenta un gran número de variedades conocidas como primavera, verano, otoño e invierno por lo tanto se puede cultivar en cualquier clima y época del año (Mainardi, 1978).

Importancia Económica

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es uno de los cultivos hortícolas más importantes a nivel mundial. Se utilizan fundamentalmente sus hojas tiernas, que frecuentemente tienden a formar cogollo. En algunas variedades se utiliza el tallo engrosado. También existen variedades oleíferas, cuyas semillas pueden contener hasta un 35% de aceite.

La importancia del cultivo de la lechuga ha ido incrementándose en los últimos años, debido tanto a la diversificación de tipos varietales como al incremento de la superficie sembrada.

Producción Nacional

De acuerdo a los datos de Sagarpa en el resumen nacional por delegación del año 2003 en el cultivo de lechuga incluyendo los de riego y temporal, los estados con mayor superficie sembrada y superficie cosechada son: Guanajuato, Puebla, Zacatecas y Sonora. El estado de Puebla es el que tiene mayor producción con 55,106 ton. Seguido por Guanajuato con 50,863 ton y Zacatecas con 35,487 ton. El estado que obtuvo mayor rendimiento promedio fue Aguascalientes con 36,487 Kg. /ha seguido por San Luis Potosí con 29,595 Kg. /ha y en tercer lugar Tlaxcala con 28,950 Kg. /ha.

Importancia de las cubiertas plásticas en la agricultura

Robledo y Martín (1988) mencionan que las aplicaciones más importantes que tienen los plásticos en la agricultura son: Acolchado del suelo, Microtúneles, Macrotúneles, Invernaderos, Mallas, Riego por goteo, Cubiertas flotantes.

En algunas zonas de México como en otros países, el uso de los plásticos en la agricultura aplicados en diversas formas (invernaderos, macro y microtúneles, etc.) proporcionan condiciones mas adecuadas para el desarrollo de los cultivos obteniéndose cantidad y calidad de productos (Ibarra, 1997).

Los macrotúneles, junto con el acolchado son las dos técnicas tradicionales de forzado de cultivos, las láminas de plástico flexible de polietileno o copolimero EVA principalmente, por su ligereza y flexibilidad se adaptan perfectamente a estructuras semicirculares y sencillas que producen el efecto invernadero deseado en los cultivos de bajo porte. La insolación incrementa la temperatura y la humedad bajo estas pequeñas estructuras mejorando el microclima (Papaseit *et al.*, 1997)

Materiales usados en la agricultura

Poliolefinas, Policloruro de vinilo, Copolimero de etileno-acetato de vinilo (EVA), Poliésteres no saturados, reforzados con fibra de vidrio o de nylon, Polimetacrilato de metilo y policarbonatos, Polietilenos de diversos tipos, Espumas diversas.

Plásticos de uso agrícola

Los materiales plásticos utilizados en la agricultura son muy versátiles en sus aplicaciones, son ligeros, flexibles o rígidos según los casos, de fácil

manipulación, resistentes a heladas y granizo y los gastos de inversión no son, en general prohibitivos (Robledo y Martín, 1988).

Papaseit *et al.* (1997) mencionan que la plasticultura a contribuido ha mejorar la eficiencia del empleo de los factores de producción, mostrando su gran potencial en el aumento de los rendimientos de los cultivos, especialmente en los hortícolas y en general, ha contribuido a mejorar la productividad en el sector agrario.

El PVC aprovecha mejor la radiación incidente y deja pasar un mayor porcentaje de los rayos solares recibidos e impide el paso de gran cantidad de radiación infrarroja, por lo que proporciona un mejor “efecto de abrigo”, propiciando que las plantas se desarrollen mejor y la producción sea mayor que la lograda al utilizar polietileno (Piña, 1991).

Propiedades físicas de los plásticos

Serrano en 1990 propone que las propiedades físicas de los plásticos son:

Ligereza: el material plástico como cobertura se acepta por su poco peso, facilidad de montaje y por sus buenos resultados.

Flexibilidad: considera que el material plástico de cobertura es de importancia por su adaptación a cualquier forma.

Estanqueidad: menciona que las laminas de plásticos utilizados como cubiertas tienen buena aceptación de cualquier forma, logrando así un fácil montaje del microtúnel.

Duración: indica que la vida útil de las láminas plásticas como cubiertas dependan de los siguientes factores: Luminosidad ambiental (a mayor luz, mas degradación) por los rayos ultravioleta; orientación de la lámina en la exposición del sol; tratamiento del plástico con inhibidores (si el material esta tratado con productos antioxidantes e inhibidores a la acción de los rayos U.V. la duración es mayor); espesor de la lámina (mas duración cuanto mas grueso es el

plástico); tipo de estructura y sujeción del plástico (la degradación es mayor en un plástico que se apoya en una estructura de hierro que sobre una de madera; régimen de vientos (la consistencia y aumento de velocidad del viento aumenta la degradación).

Propiedades ópticas de los plásticos utilizados en la agricultura

Desde hace unos años han aparecido en el mercado diferentes tipos de plásticos para invernadero, desarrollados para acondicionar la radiación que incide sobre el material vegetal, intensificado o filtrando determinadas longitudes de onda. Un material ideal para dejar pasar las radiaciones comprendidas entre 300 y 3,000 nm, debe ser opaco a radiaciones de mayor longitud de onda, que corresponden a la radiación infrarroja emitida por el suelo y las plantas; para estas radiaciones la atmósfera es transparente en días propicios a las heladas.

La radiación solar es heterogénea en cuanto a longitudes de onda, pudiendo separarse en radiación ultravioleta (UV), radiación visible (LUZ) y radiación infrarroja (IR). Serrano (1990) menciona que las radiaciones UV actúan desfavorablemente sobre las forma de las plantas dando lugar a hojas frondosas y plantas rechonchas, mientras que las radiaciones IR tienen poca influencia sobre el crecimiento, en cambio la acción térmica que producen estas radiaciones si tienen influencia, en tanto que los menores resultados de crecimiento y formación de la planta se obtiene con las longitudes de onda que más se acerquen a la composición espectral que necesita la fotosíntesis.

La luz tiene importantes efectos morfogénicos en las plantas como son, entre muchos otros, la tolerancia a la luz, de acuerdo a la intensidad de la luz, las plantas pueden clasificarse como plantas heliofilas o de sol, plantas umbrófilas o de sombra, por regla general, las hojas de estas plantas son mas

transparentes que las hojas de las plantas heliófilas, y como plantas indiferentes (Torres, 1984).

Cada especie vegetal requiere de una cantidad específica luminosa para desarrollar la fotosíntesis y expresar su potencial productivo. Si les falta luz, las plantas tienden a alargarse y crecen con tallos y ramas débiles. Por el contrario, si una planta tiene mas iluminación de la requerida, crecerá lentamente, presentará tallos duros y hojas arroquetadas. Algunos trabajos de investigación están basados en estudios hechos en películas de PVC fotoselectivo, azul y rojo desarrolladas para cubiertas de invernadero, ambos reducen la transmisión de las radiaciones verde-amarilla e incrementan las azules y rojas, en las que encontraron que la película azul controla mejor la temperatura reduciendo de uno a dos grados la temperatura en el interior con respecto a la máxima externa y los mismos que incrementa por la noche con respecto a la mínima exterior registrada. Recomendando las películas azules para semilleros, cultivos de hoja y tubérculos, mientras que las rojas para cultivos precoces como sandía, berenjena, tomate, pimiento, fresón y flores.

Características de algunos colores de plástico

El color rojo trasmite una longitud de onda desde 825 a 800 nm en respuesta a la fotosíntesis, germinación y desarrollo vegetativo de las plántulas (Orzolek *et al.*, 1995). El plástico blanco, no permite el paso a la luz, debido a la reflexión de la capa blanca. Por el color del film, refleja el mayor porcentaje de la radiación incidente, lo cual permite que la temperatura dentro de la estructura, por lo general sea más fresca.

Las radiaciones azules y rojas son más favorables para el desarrollo horizontal de las plantas (tallos menos largos, mayor peso de hojas, mayor peso de raíces, etc.) Además, se consigue reducir la temperatura a uno o dos °C en las horas de máxima luminosidad (Serrano, 1990). También, Bidwell (1990) reportó

que la calidad de la luz en las bandas violetas, azul oscuro y azul son óptimas para germinación, el tamaño de las hojas y para el enraizamiento; en cambio, la luz en las bandas verde y amarilla es regular para estos mismos procesos. El color anaranjado es óptimo para germinación.

Aplicación de los plásticos en la agricultura

Una de las diferencias fundamentales desde un punto de vista económico entre el sector primario, la agricultura, y los sectores secundarios, la industria y los servicios, es la dependencia considerable de la mayoría de las actividades agrícolas de los factores climáticos, que tienen una incidencia a menudo decisiva de los resultados. Una de las aplicaciones más conocidas y más positivas de la tecnología en la agricultura ha sido la consecución de condiciones de cultivo independientes de los factores climáticos y de los riesgos a los que están expuestos. Desde hace mucho tiempo los agricultores se han ingeniado para producir bajo algún tipo de protección las condiciones óptimas de cultivo de determinadas plantas, consiguiendo éxitos relativamente notables (Bernart, 1987).

Trabajos de investigación realizados por plásticos fotoselectivos

Hoyos (1996) con el cultivo del pepino cultivado durante 45 días en invernadero con distintas cubiertas de películas fotoselectivas encontró que en peso seco de tallo, raíz y hoja, el plástico rojo y testigo fueron los mejores; en longitud de tallo el mejor fue el plástico rojo; en diámetro del tallo fue el testigo seguido por la cubierta roja.

Hernández *et al.*, (2004) encontraron que los trasplantes de mejor calidad del cultivo de Brócoli por su crecimiento horizontal, fueron obtenidos al cubrir el microtúnel con policloruro de vinilo de color blanco y violeta, seguidos por los

transplantes producidos en microtúnel cubierto con polietileno de color amarillo y anaranjado.

Daza (1994) encontró que los mejores resultados al producir plántulas de coliflor (*Brassica oleracea*) var. Botrytis, en microtúneles con cubiertas plásticas de colores, fueron obtenidas al utilizar cubiertas de PVC blanco y PVC violeta.

Robledo *et al.*, (2004) de sus resultados se muestra que la cubierta de color amarillo y celeste son los colores que mas favorecen en el desarrollo del peso fresco y seco de la parte aérea de plántulas de lechuga, pero el peso fresco y seco de raíz se favoreció con los colores amarillo, rojo y blanco, esto permite concluir que estos tipos de colores de cubierta promovieron una mayor acumulación de materia fresca y seca, probablemente como resultado de una actividad fotosintética superior.

Domínguez (2005) concluye que las cubiertas de color transparente influyen favorablemente en el aumento de biomasa logrando plantas de mayor calidad en tomate de cáscara y con resultados similares el amarillo y blanco; las cubiertas de color amarillo inducen un crecimiento de tallo y parte aérea y altos pesos frescos y secos, originando plantas de alta calidad, sin embargo el color rojo influyo en altos pesos frescos de raíz, y el transparente presentó altos pesos frescos de raíz y materia seca total, la cubierta amarilla es la que origina las plántulas de mayor calidad en cuanto a características de altura y materia seca total, indicando una alta cantidad de acumulación de fotosintatos y resistencia durante el transplante.

Sánchez (2005), concluye que al utilizar cubiertas color amarillo y blanco, en relación a variables agronómicas, y que fueron los que influyeron favorablemente en el aumento de biomasa.

Muñiz (1994) concluyó en la producción de la planta de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill), bajo cubiertas plásticas de colores, acortan los días para el trasplante en plántulas de tomate. El mejor tratamiento para las variables evaluadas fue el PVC blanco seguido por el PE violeta. Encontró que el PVC blanco es mejor para la producción de plántula de tomate.

Historia del *Azospirillum* sp

En años recientes, se ha retomado el interés de bacterias promotoras de crecimiento en la producción de cultivos. Estas bacterias se han aplicado a semillas, tubérculos o raíz, y son capaces de colonizar las raíces de las plantas y estimular el crecimiento y rendimiento de cultivos (Chanway *et al.*, 1989).

Aún cuando *Spirillum lipoferum* fue descrito en 1925 por Beijerinck, esta bacteria estuvo olvidada por varias décadas. Son las observaciones de Peña-Cabriales y Dübereiner en 1973 y los estudios taxonómicos de *S. lipoferum* realizados por Krieg y Tarrand en 1978 que conducen a su reclasificación en un género nuevo, *Azospirillum* (Tarrand *et al.*, 1978).

Actualmente son reconocidas seis especies en el género *Azospirillum*. Las dos primeras en ser descritas fueron *A. lipoferum* y *A. brasilense* (Tarrand *et al.*, 1978), siendo éstas las mas ampliamente estudiadas. Posteriormente fueron descritas las especies *A. amazonense* (Magalhães *et al.*, 1983), *A. halopraeferans* (Reinhold *et al.*, 1987), *A. irakense* (Khammas *et al.*, 1989) y *A. largomobile* (Ben Dekhil *et al.*, 1997) siendo el nombre de esta especie corregido a *A. largimobile* (Sly y Stackebrandt, 1999).

Los mecanismos del efecto de las bacterias promotoras de crecimiento no son bien comprendidos; sin embargo, se ha sugerido un amplio rango de posibilidades que incluye efectos directos o indirectos. El efecto directo consiste en un aumento en la movilización de nutrimentos solubles, seguido por el mejoramiento de absorción de las plantas (Lifshitz *et al.*, 1987). Los efectos

indirectos incluyen el aumento de fijación de N₂, al mejorar la longitud de la raíz y el aumento de la actividad nitrogenasa (Zhang *et al.*, 1996), los cuales inducen resistencia sistémica a la planta (Chanway, 1997).

Se conoce un gran número de bacterias de vida libre o asociativa que fijan N₂, pero sólo 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 de aerobias; en las aerobias facultativas se presentan *Enterobacter*, *Pseudomonas* y *Bacillus*; y los géneros de bacteria anaerobia *Metanobacterium*, *Clostridium* y *Desulfovibrio* (Beringer, 1984; Ferrera-Cerrato, 1995; Rodríguez, 1995).

La mayoría de los microorganismos se encuentran interactuando en la rizosfera (región del suelo alrededor de la raíz de la planta influenciada por su metabolismo), donde el ambiente es distinto del resto de la zona edáfica. Uno de los fenómenos importantes que se produce en la rizosfera es la presencia de una gran variedad de sustancias orgánicas, como aminoácidos, ácidos orgánicos, carbohidratos, derivados de ácidos nucleicos, factores de crecimiento y enzimas que, directa o indirectamente, tienen influencia positiva o negativa sobre los microorganismos que ahí habitan (Ferrera-Cerrato, 1995).

En la actualidad su uso comercial comienza a extenderse en diferentes países, incluido México.

Clasificación Taxonómica de *Azospirillum*

Según el manual de Bergey (1984) la clasificación es:

Reino: Procaryote

División: Glacilicute

Clase: Scotobacteria

Familia: No existe

Género: *Azospirillum*

Especie: *lipoferum* y *Brasilense*

Distribución

Los *Azospirilla* muestran una muy amplia distribución geográfica alrededor del mundo. Aún cuando son más abundantes en las regiones tropicales, también se les encuentra en las regiones templadas, frías y desérticas (Dübereiner *et al.*, 1976; Tyler *et al.*, 1979; Átela *et al.*, 1981; De Coninck *et al.*, 1988).

Un estudio en el que se evaluaron 23 tipos de suelos con características diferentes mostró que algunos factores abióticos tales como porcentaje de arcilla, contenido de materia orgánica, capacidad de retención de agua y contenido de nitrógeno afectan positivamente la sobrevivencia de *A. brasilense* (Bashan *et al.*, 1995), en tanto que el tamaño de las partículas de arena y especialmente la alta concentración de carbonato de calcio afectan negativamente la sobrevivencia de esta especie en ausencia de plantas. No obstante, la sobrevivencia de *A. brasilense* en la rizosfera es independiente de la aridez del suelo.

Las bacterias del género *Azospirillum* han sido aisladas de la superficie de la raíz de una muy amplia variedad de plantas y de su rizosfera, incluyendo cereales como maíz, trigo, arroz, sorgo, avena (Wong, 1979; Kulinska, 1983; Ladha, 1987; Sawicka, 1987; Shawky, 1989; Paredes-Cardona, 1988;

Khammas, 1989), pastos forrajeros como *Cynodon dactylon* (Nur, 1980; Caballero-Mellado y Valdés, 1983), *Poa pratensis*, *Festuca arundinacea* (Sundaram, 1988), de diferentes especies de *Pennisetum* (Tyler *et al.*, 1979; Kosslak y Bohlool, 1983) y *Panicum* (Tyler *et al.*, 1979; Magalhães, 1984; López-Reyes *et al.*, 1989; Caballero-Mellado y Valdés, 2000.). Especies de *Azospirillum* fueron aisladas incluso del henequén [*Agave fourcroydes* (López-Reyes *et al.*, 1989)], y plantas cactáceas que incluyen diferentes especies de *Opuntia* y *Stenocereus* (Rao y Venkateswarlu 1982; Mascarúa-Esparza *et al.*, 1988).

Aislamiento e Identificación

El género *Azospirillum* pertenece a la subclase alfa de las proteobacterias (Young, 1992), siendo *A. lipoferum* la especie tipo (Tarrand *et al.*, 1978). Características útiles en la identificación rutinaria son la forma vibroide, el pleomorfismo y su movilidad en espiral (Döbereiner, 1992). Las células contienen cantidades elevadas de poli-β-hidroxibutirato (PHB), hasta 50% del peso seco celular (Okon *et al.*, 1976), observándose al microscopio las células jóvenes con abundantes gránulos refringentes. En cultivos semigelificados y gelificados con más de 24 h de incubación se presentan frecuentemente células refringentes con forma ovoide y de paredes gruesas similares a quistes (Lamm y Neyra, 1981).

El aislamiento de las bacterias del género *Azospirillum* resulta en lo general muy simple, ya sea a partir de suelo rizosférico o de la superficie de las raíces (rizoplano) de numerosas plantas hospederas. También se le aísla del interior de las raíces o tallos de algunas plantas. El medio de cultivo usado por excelencia para el enriquecimiento de las especies de *Azospirillum* ha sido el NFb semigelificado “libre” de nitrógeno y con malato como fuente de carbono (Döbereiner *et al.*, 1976). No obstante, en este medio de cultivo son aisladas predominantemente cepas de las especies *A. lipoferum* y *A. brasilense*. El

medio NFb con algunas modificaciones en su composición y pH permiten el aislamiento predominante de otras especies de *Azospirillum* (Döbereiner, 1983).

Una de las características fenotípicas más ampliamente usada como criterio para el reconocimiento tentativo del género *Azospirillum* es el color rojo escarlata que toman las colonias al crecer en un medio adicionado del colorante rojo Congo (Rodríguez- Cáceres, 1982). No obstante, en este medio pueden hallarse colonias mutantes de *Azospirillum* de color blanco debido a la incapacidad de producir polisacáridos no identificados (Bastarrachea *et al.*, 1987).

Adicionalmente, la diferenciación de especies del género *Azospirillum* se logra la capacidad de usar diversos aminoácidos y su efecto sobre la fijación de nitrógeno (Hartmann *et al.*, 1988), recomendándose el uso de la histidina para la caracterización y aislamiento selectivo de la especie *A. lipoferum*.

Interacción con la planta

Probablemente, una vez que las células de *Azospirillum* se han adaptado a las condiciones del ambiente rizosférico y han logrado llegar a la superficie de las raíces, iniciará el establecimiento de la asociación. Diferentes estudios han mostrado que *A. brasilense* tiene la capacidad para adherirse a las raíces de plantas gramíneas como el mijo (*Pennisetum purpureum*) y *Digitaria decumbens* (Umali-García *et al.*, 1980), trigo (Jain y Patriquin, 1984), maíz (Gafny *et al.*, 1986), así como a las raíces de plantas de otras familias que incluyen al algodón y tomate (Levanony y Bashan, 1991), e incluso a superficies inertes como poliestireno y arena (Bashan *et al.*, 1991; Bashan *et al.*, 1991; Levanony y Bashan, 1991).

La capacidad de *Azospirillum* para adherirse a las raíces, al menos a las de mijo, es significativamente mayor que la mostrada por otras bacterias de la

comunidad rizosférica como *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Klebsiella* o *Pseudomonas*, e incluso que *E. coli* (Umali-García *et al.*, 1980). La asociación de *Azospirillum* con las raíces de las plantas se desarrolla en dos etapas completamente independientes (Michiels *et al.*, 1991). La primera consiste en una adsorción rápida, débil y reversible, la cual es dependiente de proteínas de la superficie bacteriana del tipo de las adhesinas en conjunto con la participación del flagelo polar (Croes *et al.*, 1993; Michiels *et al.*, 1991). La segunda fase consiste de un anclaje lento pero firme e irreversible que alcanza su máximo nivel 16 h después de la inoculación, el cual parece ser dependiente de un polisacárido extracelular de *Azospirillum* (Michiels *et al.*, 1991).

Producción de hormonas de crecimiento

Se conoce que algunos géneros de *Azospirillum* y *Azotobacter* penetran la corteza de la raíz y producen fitohormonas como giberelinas, auxinas (ácido indolacético), citoquininas, ácido abscísico y fijan N₂ (Curl y Truelove, 1986; Lynch, 1990), lo que estimula el crecimiento, la producción de raíces laterales y pelos radicales que, a su vez, favorecen la absorción de nutrimentos (De Freitas y Germida, 1992) e incrementan el rendimiento en gramíneas (Taller y Wong, 1989; Bashan *et al.*, 1993).

La utilización de semilla de mediana calidad trae aparejado problemas en la germinación e implantación, por lo que se han buscado alternativas para mejorar la tasa y la uniformidad del proceso de germinación. Desde el punto de vista tecnológico la herramienta tradicional consiste en un sistema de pretratamiento osmótico de las semillas como paso previo a la emergencia de la radícula.

El género *Azospirillum* se ha clasificado dentro del grupo de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB), habiéndose aislado diferentes especies y cepas de un amplio rango de hábitats y en asociación con numerosas especies vegetales, incluyendo hortalizas cultivables. Se ha

propuesto que el principal mecanismo por el cual *Azospirillum* estimula el crecimiento vegetal es a través de la producción de fitohormonas tales como giberelinas, auxinas y citoquininas, producidas por la bacteria y/o por la planta, en respuesta a la inoculación ⁽¹⁾. En este sentido, poco se ha investigado sobre la posibilidad que esta propiedad se manifieste en un estadio fenológico altamente dependiente de la concentración hormonal como lo es la germinación y el crecimiento inicial de plántulas.

Se ha demostrado que la inoculación de semillas con *A. brasilense* mejora el crecimiento y estado hídrico de cereales como trigo y maíz, forrajeras como falaris y grama rhodes, y en las hortalizas lechuga y zanahoria frente a condiciones de estrés hídrico o salino. En el caso de forrajeras y hortalizas se han observado incrementos en la germinación bajo condiciones de estrés por NaCl.

Cambios morfológicos en raíz por *Azospirillum*

La inoculación de diversas plantas con *Azospirillum* ha mostrado que los principales sitios de colonización son las áreas de elongación celular y las bases de los pelos radicales (Levanony y Bashan, 1991, Kapulnik *et al.*, 1985). Sólo algunas células de *Azospirillum* llegan a adherirse a la cofia o a los pelos radicales (Kapulnik *et al.*, 1985). Sin embargo, fue observada la presencia de *Azospirillum* dentro del mucigel que se acumula en la cofia (Umali-García *et al.*, 1980). La inoculación de raíces de trigo con una cepa de *Azospirillum* que expresa constitutivamente el gen reportero *gusA* mostró que en los primeros días de la asociación las células bacterianas colonizan específicamente los sitios de emergencia de las raíces laterales y las regiones de los pelos radicales, tanto de la raíz primaria como de las raíces secundarias y posteriormente la superficie de la raíz (Vande Broek *et al.*, 1993).

En plantas de trigo fue observado que la inoculación de *Azospirillum* induce

cambios en la morfología de los pelos radicales, siendo éstos cambios significativamente mayores que los causados por *Rhizobium leguminosarum* o *Azotobacter chroococcum*, los cuales son mínimos (Jain y Patriquin, 1984; Kapulnik *et al.*, 1985). Además, fue observado que la inoculación con 10^5 a 10^6 células de *Azospirillum* causa tanto la elongación como el aumento de la superficie total de la raíz, en tanto que la inoculación de 10^8 a 10^9 células causa la inhibición del desarrollo de ésta (Kapulnik *et al.*, 1985).

Aparentemente, el incremento del tamaño del sistema radical se debe, al menos parcialmente, al aumento de la división celular y al intenso crecimiento de la zona de elongación de las raíces (Levanony y Bashn, 1991). Es de interés señalar que los sitios que coloniza *Azospirillum lipoferum* son diferentes, dependiendo de la variedad de la planta, al menos en el caso del arroz (Murthy y Ladha, 1987). La capacidad de *Azospirillum* para colonizar las raíces de las plantas es variable dependiendo de la cepa.

Díaz *et al.*, (2001) en su trabajo de investigación mencionan que todas las cepas de bacterias inoculadas (a excepción de la P-25) tuvieron influencia positiva en el desarrollo de las plantas, en comparación con el testigo sin inocular. Las cepas bacterianas que estimularon una mayor área foliar fueron: R1B, *P. fluorescens* S2PS, *Beijerinckia indica* (S5-BE y R2P2B) con un promedio que varió de 253.8 a 209.2 cm² contra 74.62 cm² de área foliar en el testigo, esto a los 60 dds

Díaz, *et al.* (2001) reportaron que las cepas que estimularon mayor desarrollo de área foliar fueron las mismas que causaron el incremento más alto en el peso fresco de la planta, con valores de 7.0 a 10.26 g contra 2.7 g del testigo. El número de tratamientos que no mostraron diferencias significativas en comparación con el testigo para peso fresco fue mayor que el obtenido para la variable área foliar.

Díaz *et al.*, (2001), los valores más altos obtenidos en la variable peso seco, correspondieron a las plantas inoculadas con las cepas R1B, *B. indica* R2P2B y S5-BE, *P. cepacia* P-26, *P. fluorescens* S2PS y *P. aeruginosa* 5PS cuyo peso seco fue de 0.38 a 0.66 g y estadísticamente diferente al testigo que tuvo un peso de 0.14 g. También hubo tratamientos que no presentaron diferencias estadísticas con el testigo.

El desarrollo de las raíces, se favoreció por efecto de la inoculación de las bacterias, y se manifestó directamente en mayor crecimiento de la parte aérea del cultivo; es importante destacar que las variables agronómicas evaluadas en la parte aérea y en la raíz del cultivo, registraron correlaciones altamente significativas, concuerdan con lo reportado por Pereira *et al.*, (1988) y Kloepper *et al.*, (1991), quienes mencionaron que las bacterias promotoras de crecimiento como *Pseudomonas fluorescens*, se caracterizan por incrementar el desarrollo radical, lo que repercute directamente en el rendimiento del cultivo.

Díaz *et al.*, (2001) citaron que algunas cepas no mostraron efectos benéficos en el desarrollo de las raíces, como es el caso de Hafnia Alves P-25 que indujo un volumen radical de 0.16 cm³ y un peso seco de raíz de 0.008 g contra 0.007 g del testigo.

También en maíz, Bellone *et al.* (1999) registraron mejoras en el peso seco del sistema radicular y en los parámetros de la parte aérea. Creus, Cataneo, Bariffi, sueldo y Barassi (1996) encontraron que la presencia de *Azospirillum sp* 245, mejora el estado hídrico de plántulas de trigo.

A. brasilense tiene la capacidad para adherirse a las raíces debido a sus características químicas y aerotácticas, por ejemplo en gramíneas como el mijo (*Pennisetum purpureum*) y *Digitaria decumbens*, trigo, maíz, así como de otras familias que incluyen al algodón y tomate, e incluso a superficies inertes como poliestireno y arena.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización geográfica

El experimento se realizó durante el ciclo agrícola primavera-verano de 2006 en los terrenos del departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro que se encuentra situado a 25°22' latitud norte y 101° latitud oeste a una altura de 1742 msnm (Mendoza, 1983).

Macrotúneles

Se construyeron cuatro macrotúneles con medidas de 12 m de largo por 4 de ancho y 2 metros de alto con ventila lateral de 1 m de ancho. Fueron cubiertos con polietileno de distintos colores para evaluar el efecto que causan; los colores fueron rojos, amarillos y blancos cada uno de calibre 300.

Materiales

- Charolas de poliestireno de 200 cavidades
- Sustrato peat moss y perlita
- Regadera
- Regla métrica
- Tubos galvanizados con diámetro de media pulgada
- Madera de 1 x 2.5 x 5
- Cajas petri
- Bolsas de papel
- Pipetas
- Cuter
- Medidor portátil de área foliar (portable area meter Li-cor mod. LI- 3000^a)
- Estufa de secado (mod. Lindberg/blue. M)

- Balanza analítica
- Fungicida
- Fertilizante

Material biológico

Se utilizó semilla de lechuga variedad Salinas inoculada con la bacteria *Azospirillum* sp.

Preparación de sustrato y semilla

Sustrato

Se preparó una mezcla homogénea con 50% de peat moss y 50% de perlita, posteriormente se humedeció hasta capacidad de campo y después se realizó la siembra.

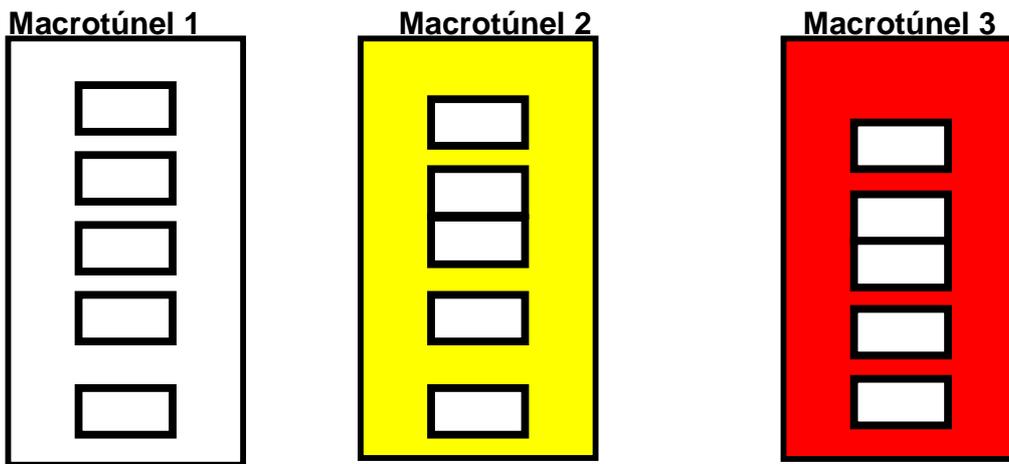
Inoculación

Se preparó biofertilizante nitrogenado con una cepa de *Azospirillum* sp aislada de trigo en el campo experimental de Buenavista, Coahuila desarrollada en medio Nfb y rojo congo, la cepa fue caracterizada previamente y el concentrado líquido se cuantificó por el método de dilución, encontrando 10^{15} bacterias ml^{-1} .

La emulsión líquida concentrada se diluyó 1000 veces cada vez, obteniendo concentraciones de 10^{12} , 10^9 , 10^6 y se utilizó como testigo agua destilada. Se aplicaron 4 ml de cada dilución en 800 semillas mezclando para la impregnación de la bacteria a la semilla, se dejaron reposar por 16 h.

Siembra

Se sembró una semilla por orificio en las charolas de poliestireno de 200 cavidades. Se colocaron 200 semillas inoculadas con 4 concentraciones de *Azospirillum* sp. (10^{15} , 10^{12} , 10^9 , 10^6 bacterias.ml⁻¹ y un testigo) en un total de 5 charolas por macrotúnel. Cada charola se dividió en tres partes iguales que se constituyeron en las repeticiones.



Diseño Experimental

Se estableció bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial, con 15 tratamientos que resultaron de combinar 5 niveles del Factor A (concentraciones de bacteria: 10^{15} , 10^{12} , 10^9 , 10^6 , 10^0 bacterias.ml⁻¹), con 3 niveles del Factor B (colores de cubierta: blanco, amarillo y rojo). Las repeticiones fueron tres. En el experimento, se hicieron 3 evaluaciones; la primera se hizo cuando había un 80% de plantas germinadas, la segunda y tercera cada 8 días después de la primera.

Variables Evaluadas

Longitud de raíz

En cada evaluación se extrajo una planta completa la cual se limpió eliminando todo el sustrato posible sin dañar la raíz; se evaluó 3 veces consecutivas midiendo con una regla métrica desde la base hasta el ápice de la raíz más larga.

Área foliar

A la planta que se muestreo para evaluar la variable anterior, se le separaron las hojas las cuales, fueron analizadas con un equipo portátil medidor de área foliar (portable area meter Li-cor mod. LI 3000^a). Al igual que la variable anterior se realizaron tres evaluaciones.

Peso fresco de hojas y raíz

Una vez que se evaluaron las variables anteriores, se pesaron por separado la parte aérea y el sistema radical de la planta que se constituyeron en dos nuevas variables: peso fresco de hojas y peso fresco de raíz.

Peso seco de hojas y raíz

Después de pesar las hojas y la raíz, se colocaron por separado, en bolsas de papel estraza y se colocaron en estufa a 70° C para eliminar la humedad y después determinar el peso seco.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Área foliar

A continuación en el Cuadro 4.1, se pueden observar los cuadrados medios del análisis de varianza (ANVA) para los diferentes muestreos en la variable área foliar. En el se pueden apreciar diferencias con $P \leq 0.01$ entre las diferentes concentraciones (Factor A) a los 15 y 31 dds, en cambio a los 23 dds no existe nivel de significancia; para el color de cubierta (Factor B) a los 15 y 23 dds existe diferencia a $P \leq 0.05$ y a los 31 dds hay diferencia a $P \leq 0.01$. En la interacción entre los Factores a los 15 dds existe diferencia a $P \leq 0.05$, a los 23 y 31 dds existe diferencia a $P \leq 0.01$.

Cuadro 4.1. Cuadrados medios del ANVA para área foliar en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de *Azospirillum sp.* Bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.

FV	GL	CUADRADOS MEDIOS		
		15 dds	23 dds	31 dds
Factor A	4	0.428670 **	0.336586 NS	2.909676 **
Factor B	2	0.250286 *	1.431717 *	5.469131 **
Interacción	8	0.169553 *	1.096674 **	2.783722 **
Error	30	0.068489	0.168813	0.209377
C.V., %		23.51	22.83	14.43

dds = días después de siembra, C. V. = coeficiente de variación, NS =no significativo, ** altamente significativo y * significativo.

En el cuadro 4.2, se muestra la comparación de medias (DMS) de los resultados obtenidos en la variable área foliar a los 15 dds donde se encontró que en el Factor A la concentración 10^6 , 10^9 , 10^{12} y el testigo son estadísticamente iguales aunque, la concentración de 10^9 superó al testigo con 24.63 %, en el Factor B el comportamiento del área foliar es similar en los tres colores de cubierta aunque, numéricamente, el mejor color fue el amarillo. La mejor interacción con un valor de 1.7167 cm^2 , resultó ser la concentración de 10^9 y el color amarillo como cubierta del macrotúnel.

A los 23 dds la interacción entre los Factores A y B mostró que la mayor área foliar se encontró en la cubierta color amarillo y la concentración 10^{12} bacterias ml^{-1} con un valor de 3.1500 cm^2 . Este mismo comportamiento se observó en la evaluación realizada a los 31 dds con valor de 6.0133 cm^2 sin embargo, la cubierta color también obtuvo buenos resultados.

Díaz *et al.* (2001), encontraron un incremento en el área foliar al inocular con *Pseudomonas* y Beijerinck a los 60 días después de la inoculación, esto concuerda con los resultados obtenidos en éste trabajo donde la mayor área foliar se obtuvo con concentraciones de 10^9 y 10^{12} bacterias ml^{-1} .

Cuadro 4.2. Comparación de medias del Factor A, B y de la Interacción en la variable área foliar en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de *Azospirillum sp.* bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.

FACTOR A	FACTOR B			MEDIA
	BLANCO	AMARILLO	ROJO	
Evaluación a los 15 dds				
0	a 0.8600 A	a 1.1633 ABC	a 1.2367 A	1.0867 AB
10^6	a 1.1233 A	a 0.9167 BC	a 0.9367 A	0.9922 AB
10^9	ab 1.4333 A	a 1.7167 A	b 0.9133 A	1.3544 A
10^{12}	a 1.1633 A	a 1.6267 AB	a 1.1200 A	1.3033 A
10^{15}	a 0.9467 A	a 0.8067 C	a 0.7333 A	0.8289 B
Media	1.1053 A	1.2460 A	0.9880 A	
Evaluación a los 23 dds				
0	a 1.5900 A	a 1.6533 B	a 2.3733 A	1.8722 A
10^6	a 1.8300 A	a 1.8000 B	a 1.7767 AB	1.8022 A
10^9	ab 2.0333 A	a 2.6667 AB	b 1.1233 B	1.9411 A
10^{12}	b 1.3300 A	a 3.1500 A	b 1.2667 AB	1.9155 A
10^{15}	a 1.5033 A	a 1.5000 B	a 1.3967 AB	1.4666 A
Media	1.6573 B	2.1540 A	1.5873 B	
Evaluación a los 31 dds				
0	a 2.7167 A	a 3.3167 BC	a 3.7900 A	3.2744 A
10^6	a 2.7100 A	a 3.4133 B	a 3.1267 A	3.0833 A
10^9	b 2.9633 A	a 4.5467 B	b 2.7533 AB	3.4211 A
10^{12}	b 2.5100 A	a 6.0133 A	b 2.8833 AB	3.8022 A
10^{15}	a 3.0300 A	ab 2.0400 C	b 1.7367 B	2.3689 B
Media	2.7860 B	3.8660 A	2.8580 B	

Longitud de raíz

Los cuadrados medios del análisis de varianza (ANVA) muestra las diferencias que hay en los tres muestreos que a continuación se describirán, donde la concentración (Factor A) se comportó con diferencias a $P \leq 0.05$ en los muestreos a 15 y 23 dds y en el último muestreo a los 31 dds las diferencias son a $P \leq 0.01$. En el color de cubierta (Factor B) hay diferencias a $P \leq 0.01$ a los 15 y 23 dds y a los 31 dds las diferencias son a $P \leq 0.05$; en la interacción hubo diferencias a $P \leq 0.01$ en el muestreo a los 23 y 31 dds y en el primer muestreo a los 15 dds no hubo diferencias significativas se observa en el Cuadro 4.3.

Cuadro 4.3. Cuadrados medios del ANVA para longitud de raíz en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de *Azospirillum sp.* bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.

FV	GL	CUADRADOS MEDIOS		
		15 dds	23 dds	31 dds
Factor A	4	2.873306 *	3.001831 *	24.559723 **
Factor B	2	10.87707 **	15.37874 **	10.865295 *
Interacción	8	1.405518 NS	5.577332 **	21.091736 **
Error	30	0.646165	1.078577	2.487679
C.V., %		19.52	17.68	25.06

dds = días después de siembra, C. V. = coeficiente de variación, NS = no significativo, ** altamente significativo y * significativo.

El Cuadro 4.4 engloba los resultados obtenidos de la comparación de medias (DMS) en las tres evaluaciones realizadas en la variable longitud de raíz. Así, a los 15 dds, se puede ver que la mejor concentración (Factor A) fue la 10^6 , 10^{12} , 10^{15} bacterias ml^{-1} y el testigo son estadísticamente iguales aunque la concentración 10^6 supero al testigo con un 22.47%; el Factor B el mejor color de cubierta es el rojo, en la interacción entre ambos factores la mejor, numéricamente, resultó ser la concentración de 10^6 bacterias ml^{-1} y la cubierta color rojo con valor de 6.2500 cm^2 .

A los 23 dds la interacción entre los factores A y B muestran que la mayor longitud de raíz se presentó en la cubierta color rojo y el testigo con un valor numérico de 9.0000 cm². Este mismo comportamiento sucedió a los 31 dds con un valor de 14.6333 cm²

Esto concuerda con lo que menciona Hoyos (1996) en el cultivo del pepino donde durante 45 días en invernadero, el plástico rojo y el testigo fueron los mejores en longitud de raíz.

Cuadro 4.4. Comparación de medias del Factor A, B y de la Interacción en la variable longitud de raíz en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de *Azospirillum sp.* bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.

FACTOR A	FACTOR B			MEDIA
	BLANCO	AMARILLO	ROJO	
Evaluación a los 15 dds				
0	a 4.4333 A	a 3.0667 A	a 4.7333 A	4.0778 AB
10 ⁶	a 4.0000 A	a 4.3333 A	a 6.2500 A	4.9944 A
10 ⁹	a 2.1667 A	a 3.8333 A	a 4.2667 A	3.4222 B
10 ¹²	a 2.7667 A	a 3.5667 A	a 5.5667 A	3.9667 AB
10 ¹⁵	a 3.9333 A	a 3.8000 A	a 4.6667 A	4.1333 AB
Media	3.5400 B	3.7200 B	5.0967 A	
Evaluación a los 23 dds				
0	b 5.9467 AB	b 3.8333 A	a 9.0000 A	6.2600 A
10 ⁶	a 5.1833 B	a 4.8667 A	a 5.1000 B	5.0500 A
10 ⁹	a 8.3000 A	b 5.1333 A	ab 6.1667 AB	6.5333 A
10 ¹²	ab 6.1333 AB	b 4.3000 A	a 7.3333 AB	5.9222 A
10 ¹⁵	a 4.6000 B	a 5.8333 A	a 6.4000 AB	5.6111 A
Media	6.0327 A	4.7933 B	6.8000 A	
Evaluación a los 31 dds				
0	b 7.5833 A	b 5.2333 A	a 14.6333 A	9.1500 A
10 ⁶	a 5.5333 A	a 5.8333 A	a 6.0667 B	5.7667 B
10 ⁹	a 4.4000 A	a 7.5667 A	a 4.0000 B	5.3222 B
10 ¹²	a 4.3667 A	a 6.6333 A	a 7.5000 B	6.1667 B
10 ¹⁵	a 5.6000 A	a 5.7000 A	a 3.7500 B	5.0611 B
Media	5.4967 A	6.1933 A	7.1900 A	

Peso Fresco del Tallo

Para esta variable los cuadrados medios del análisis de varianza para la concentración (Factor A) muestra diferencias a $P \leq 0.01$ a los tres muestreos, en el color de cubierta (Factor B) hay diferencias a $P \leq 0.01$ en los muestreos a los 23 y 31 días después de siembra, y a los 15 días después de siembra hay diferencias a $P \leq 0.05$. En la interacción hay diferencias a $P \leq 0.01$ Cuadro 4.5).

Cuadro 4.5. Cuadrados medios del ANVA para peso fresco del tallo en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de *Azospirillum sp.* bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN, 2006.

FV	GL	CUADRADOS MEDIOS		
		15 dds	23 dds	31 dds
Factor A	4	0.000351**	0.000362**	0.003915**
Factor B	2	0.000075*	0.000507**	0.003643**
Interacción	8	0.000077**	0.001049**	0.002592**
Error	30	0.000016	0.000028	0.000052
C.V., %		14.39	11.80	7.13

dds = días después de siembra, C. V. = coeficiente de variación, NS = no significativo, ** altamente significativo y * significativo.

El Cuadro 4.6 describe los resultados de la comparación de medias (DMS) de los tres muestreos en la variable peso fresco de tallo, donde a los 15 dds la mejor concentración 10^9 fue la que presentó mejores resultados superando al testigo con un 38.80%, el color de la cubierta fue el amarillo teniendo gran similitud entre las demás cubiertas, sin embargo en la interacción la cubierta blanca interactúa con la concentración 10^6 bacterias ml^{-1} con un valor de 0.0395 cm^2 , superando satisfactoriamente al testigo.

A los 23 dds la interacción entre los factores A y B muestran que la mejor concentración fue la 10^{12} bacterias ml^{-1} con la cubierta plástica color amarillo con valor numérico de 0.0825 cm^2 . Este mismo comportamiento se presenta a los 31 dds con un valor de 0.1821 cm^2 .

Concuenda con los resultados de Díaz *et al.* (2001) fue en la inoculación con *Pseudomonas* y *Beijerinck* a los 60 días después de la inoculación, mostraron mayor desarrollo en área foliar pero también en peso fresco superando al testigo, para esta variable presento mejores resultados con valores más altos que en área foliar. En el color de cubierta coinciden con los resultados de Robledo *et al.* , (2004) Donde según los resultados el color amarillo y celeste favorecen en el desarrollo del peso fresco y seco de la parte aérea de plántulas de lechuga.

Cuadro 4.6. Comparación de medias del Factor A, B y de la Interacción en la variable peso fresco del tallo en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de *Azospirillum sp.* bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.

FACTOR A	FACTOR B			MEDIA
	BLANCO	AMARILLO	ROJO	
Evaluación a los 15 dds				
0	b 0.0180 C	a 0.0284 AB	a 0.0287 A	0.0250 CD
10 ⁶	a 0.0306 AB	a 0.0244 B	a 0.0250 A	0.0267 BC
10 ⁹	a 0.0395 A	a 0.0384 A	b 0.0262 A	0.0347 A
10 ¹²	a 0.0329 AB	a 0.0374 A	a 0.0286 A	0.0330 AB
10 ¹⁵	a 0.0217 BC	a 0.0186 B	a 0.0176 A	0.0193 D
Media	0.0285 A	0.0294 A	0.0252 A	
Evaluación a los 23 dds				
0	b 0.0393 A	b 0.0286 C	a 0.0572 A	0.0417 BC
10 ⁶	a 0.0466 A	a 0.0469 B	a 0.0465 A	0.0467 AB
10 ⁹	b 0.0465 A	a 0.0717 A	c 0.0203 B	0.0462 AB
10 ¹²	b 0.0371 A	a 0.0825 A	b 0.0425 A	0.0540 A
10 ¹⁵	ab 0.0350 A	b 0.0291 C	a 0.0469 A	0.0370 C
Media	0.0409 B	0.0518 A	0.0427 B	
Evaluación a los 31 dds				
0	b 0.0778 C	a 0.1052 C	a 0.1131 A	0.0987 B
10 ⁶	a 0.1185 A	a 0.1175 BC	a 0.1105 A	0.1142 A
10 ⁹	b 0.0898 BC	a 0.1359 B	b 0.0797 B	0.1018 B
10 ¹²	c 0.0824 BC	a 0.1821 A	b 0.1057 A	0.1234 A
10 ¹⁵	a 0.0989 AB	b 0.0558 D	b 0.0507 C	0.0685 C
Media	0.0927 B	0.1193 A	0.0920 B	

Peso seco de tallo

Los cuadrados medios del análisis de varianza (ANVA) de esta variable, se describen en el Cuadro 4.7 que indica que las concentraciones (Factor A) tiene diferencias a $P \leq 0.01$ en los tres muestreos, sin embargo estadísticamente el color de cubierta a los 15 dds no tiene nivel de significancia, y para los 23 y 31 dds hay diferencias a $P \leq 0.01$, en la interacción no hay nivel de significancia para los 15 dds, y en los muestreos realizados a los 23 y 31 dds hay significancia a $P \leq 0.01$.

Cuadro 4.7. Cuadrados medios del ANVA para peso seco del tallo en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de *Azospirillum sp.* bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.

FV	GL	CUADRADOS MEDIOS		
		15 dds	23 dds	31 dds
Factor A	4	0.000003**	0.000036**	0.000039**
Factor B	2	0.000001NS	0.000016**	0.000026**
Interacción	8	0.000001NS	0.000022**	0.000032**
Error	30	0.000000	0.000002	0.000003
C.V., %		18.77	17.21	12.44

dds = días después de siembra, C. V. = coeficiente de variación, NS = no significativo, ** altamente significativo y * significativo.

El cuadro 4.8 muestra los resultados de la comparación de medias (DMS) de la variable peso seco de tallo en los tres muestreos donde, a los 15 días después de siembra las concentraciones 10^6 , 10^9 , 10^{12} bacterias ml^{-1} y el testigo son estadísticamente iguales aunque, la concentración de 10^9 bacterias ml^{-1} superó al testigo con 8.57 %, en el Factor B el comportamiento del peso seco de tallo es similar en los tres colores de cubierta aunque, numéricamente, el mejor color fue el blanco. La mejor interacción con un valor de 0.0050 cm^2 , resultó ser la concentración de 10^9 bacterias ml^{-1} y el color amarillo como cubierta del macrotúnel.

El segundo muestreo en la interacción entre los factores A y B a los 23 dds, resulta que la mejor concentración fue la 10^{12} bacterias ml^{-1} en conjunto con el color de cubierta amarillo logrando a si un valor numérico de 0.0148 cm^2 . De igual forma sucede con el tercer muestreo a los 31 dds donde hay similitud con un valor numérico de 0.0203 cm^2 .

Los resultados concuerdan con los de Domínguez (2005), que menciona que las cubiertas de color amarillo inducen un crecimiento de tallo y parte aérea y altos pesos frescos y secos, originando plantas de alta calidad, y también es la que origina las plántulas de mayor calidad en cuanto a características de altura y materia seca total, indicando una alta cantidad de acumulación de fotosintatos y resistencia durante el transplante.

Cuadro 4.8. Comparación de medias del Factor A, B y de la Interacción en la variable peso seco del tallo en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de *Azospirillum sp.* bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006

FACTOR A	FACTOR B			MEDIA
	BLANCO	AMARILLO	ROJO	
Evaluación a los 15 dds				
0	a 0.0031 A	a 0.0042 A	a 0.0032 A	0.0035 AB
10^6	a 0.0043 A	a 0.0035 A	a 0.0036 A	0.0038 A
10^9	a 0.0050 A	a 0.0039 A	a 0.0036 A	0.0042 A
10^{12}	a 0.0036 A	a 0.0037 A	a 0.0040 A	0.0038 A
10^{15}	a 0.0027 A	a 0.0027 A	a 0.0024 A	0.0026 B
Media	0.0037 A	0.0036 A	0.0033 A	
Evaluación a los 23 dds				
0	a 0.0062 A	a 0.0042 D	a 0.0076 A	0.0060 B
10^6	a 0.0084 A	a 0.0085 BC	a 0.0065 B	0.0077 B
10^9	b 0.0081 A	a 0.0119 AB	c 0.0045 B	0.0082B
10^{12}	c 0.0067 A	a 0.0148 A	b 0.0110 A	0.0108 A
10^{15}	a 0.0065 A	a 0.0056 CD	a 0.0058 B	0.0060 B
Media	0.0072 B	0.0089 A	0.0071 B	
Evaluación a los 31 dds				
0	a 0.0116 B	a 0.0156 B	a 0.0146 A	0.0139 A
10^6	a 0.0163 A	b 0.0115 BC	b 0.0119 A	0.0132 A
10^9	a 0.0137 AB	a 0.0142 B	a 0.0130 A	0.0136 A
10^{12}	b 0.0111 B	a 0.0203 A	b 0.0107 AB	0.0140 A
10^{15}	a 0.0127 AB	b 0.0081 C	b 0.0065 B	0.0091 B
Media	0.0131 AB	0.0139 A	0.0114 B	

Peso Fresco de raíz

El cuadro 4.9, muestra los cuadrados medios del análisis de varianza (ANVA) realizados para la variable peso fresco de raíz muestra diferencias a $P \leq 0.01$ en las concentraciones (Factor A), en el color de cubierta (Factor B) hay diferencias a $P \leq 0.01$; en la interacción entre ambos factores hay también diferencias a $P \leq 0.01$.

Cuadro 4.9. Cuadrados medios del ANVA para peso fresco de raíz en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de *Azospirillum sp.* bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.

FV	GL	CUADRADOS MEDIOS		
		15 dds	23 dds	31 dds
Factor A	4	0.000258 **	0.000150 **	0.000575 **
Factor B	2	0.000392 **	0.001241 **	0.001810 **
Interacción	8	0.000360 **	0.000192 **	0.000411 **
Error	30	0.000012	0.000019	0.000061
C.V., %		22.33	19.90	15.41

dds = días después de siembra, C. V. = coeficiente de variación, NS = no significativo, ** altamente significativo y * significativo.

El cuadro 4.10 muestra la comparación de medias (DMS) realizada para la variable peso fresco de raíz a los 15 dds, nos muestra los resultados donde dice que el testigo es el mejor interactuando con el color de cubierta rojo, teniendo un valor numérico de 0.0489 cm^2 .

A los 23 dds la concentración 10^9 , 10^{12} bacterias ml^{-1} y el testigo son estadísticamente iguales, sin embargo la concentración 10^9 bacterias ml^{-1} supera al testigo con un 13.99 %, el color de cubierta fue el rojo superando satisfactoriamente a los otros; en la interacción el testigo supera a la concentración 10^9 bacterias ml^{-1} en conjunto con la cubierta plástica color rojo con un valor de 0.0419 cm^2 . Los resultados del tercer muestreo a los 31 dds tienen el mismo resultado con un valor numérico de 0.0818 cm^2 .

En el color de cubierta los resultados coinciden con lo reportado por Robledo *et al.* (2004) donde mencionan que el peso fresco y seco de raíz se favoreció con los colores amarillo, rojo y blanco, esto permite concluir que estos tipos de colores de cubierta promovieron una mayor acumulación de materia fresca y seca, probablemente como resultado de una actividad fotosintética superior. Para la concentración coincide con los resultados que reporta Kapulnik *et al.* (1985) que menciona que la inoculación con 10^5 a 10^6 células de *Azospirillum* causa tanto la elongación como el aumento de la superficie total de la raíz, en tanto que la inoculación de 10^8 a 10^9 bacterias ml^{-1} células causa la inhibición del desarrollo de ésta.

Cuadro 4. 10. Comparación de medias del Factor A, B y de la Interacción en la variable peso fresco de raíz en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de *Azospirillum sp.* bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006

FACTOR A	FACTOR B			MEDIA
	BLANCO	AMARILLO	ROJO	
Evaluación a los 15 dds				
0	b 0.0136 B	b 0.0115 A	a 0.0489 A	0.0247 A
10^6	a 0.0171 B	a 0.0137 A	a 0.0158 B	0.0155 B
10^9	b 0.0068 B	b 0.0096 A	a 0.0171 B	0.0112 B
10^{12}	a 0.0088 B	a 0.0135 A	a 0.0137 B	0.0120 B
10^{15}	a 0.0287 A	b 0.0075 A	b 0.0110 B	0.0157 B
Media	0.0150 B	0.0112 B	0.0213 A	
Evaluación a los 23 dds				
0	b 0.0234 AB	c 0.0076 A	a 0.0419 A	0.0243 AB
10^6	ab 0.0216 AB	b 0.0106 A	a 0.0236 BC	0.0186 B
10^9	a 0.0303 A	b 0.0183 A	a 0.0344 AB	0.0277 A
10^{12}	b 0.0117 B	b 0.0122 A	a 0.0396 A	0.0212 AB
10^{15}	a 0.0193 AB	a 0.0172 A	a 0.0172 C	0.0179 B
Media	0.0213 B	0.0132 C	0.0313 A	
Evaluación a los 31 dds				
0	0.0384 A	0.0302 A	0.0818 A	0.0502 AB
10^6	0.0449 A	0.0514 A	0.0661 AB	0.0541 AB
10^9	0.0587 A	0.0503 A	0.0785 A	0.0625 A
10^{12}	0.0458 A	0.0443 A	0.0400 C	0.0434 B
10^{15}	0.0448 A	0.0362 A	0.0496 BC	0.0435 B
Media	0.0465 B	0.0465 B	0.0632 A	

Peso seco de raíz

A continuación en el Cuadro 4.11. Se observan los cuadrados medios del análisis de varianza (ANVA), donde las concentraciones (Factor A) muestran diferencias a $P \leq 0.01$ en los tres muestreos a los 15, 23 y 31 dds. En la cubierta plástica hay diferencia a $P \leq 0.01$, a los 15 y 23 dds, a los 31 dds no hay diferencias significativas.

Cuadro 4.11. Cuadrados medios del ANVA para peso seco raíz en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de *Azospirillum sp.* bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006.

FV	GL	CUADRADOS MEDIOS		
		15 dds	23 dds	31 dds
Factor A	4	0.000047 **	0.000047 **	0.000013 **
Factor B	2	0.000034 **	0.000085 **	0.000005 NS
Interacción	8	0.000012 **	0.000023 **	0.000052 **
Error	30	0.000002	0.0000001	0.000002
C.V., %		29.10	18.01	14.12

dds = días después de siembra, C. V. = coeficiente de variación, NS =no significativo, ** altamente significativo y * significativo.

En el Cuadro 4.12 se muestra la comparación de medias (DMS) en la variable peso seco de raíz a los 15, 23 y 31 dds. A los 15 dds según los resultados obtenidos el testigo supera a las concentraciones interactuando con la cubierta plástica color rojo, con un valor de 0.0135 cm^2 . En cambio, a los 23 dds la mejor concentración resulta ser la 10^9 interactuando con el color blanco, dando un valor de 0.0141 cm^2 .

A los 31 dds la mejor concentración es la 10^6 bacterias ml^{-1} , el color de cubierta con mayor valor numérico es el blanco, sin embargo en la interacción hay una gran similitud entre colores siendo el amarillo el que interactúa con la concentración 10^6 bacterias ml^{-1} con un valor numérico de 0.0141 cm^2 . El testigo con el color rojo muestra el mismo valor numérico que la concentración 10^6 bacterias ml^{-1} con el color amarillo.

Díaz *et al.* (2001) reportaron que los valores más altos obtenidos en la variable peso seco, correspondieron a las plantas inoculadas con las cepas R1B, *B. indica* R2P2B y S5-BE, *P. cepacia* P-26, *P. fluorescens* S2PS y *P. aeruginosa* 5PS.

Cuadro 4.12. Comparación de medias del Factor A, B y de la Interacción en la variable peso seco de raíz en tres muestreos de plántulas de lechuga inoculadas con cuatro concentraciones de *Azospirillum sp.* bajo cubiertas plásticas de colores, UAAAN 2006

FACTOR A	FACTOR B			MEDIA
	BLANCO	AMARILLO	ROJO	
Evaluación a los 15 dds				
0	b 0.0058 AB	b 0.0049 A	a 0.0135 A	0.0081 A
10 ⁶	a 0.0061 A	a 0.0044 A	a 0.0056 B	0.0054 B
10 ⁹	a 0.0022 BC	a 0.0029 A	a 0.0036 B	0.0029 C
10 ¹²	a 0.0020 C	a 0.0030 A	a 0.0049 B	0.0033 BC
10 ¹⁵	a 0.0034 ABC	a 0.0015 A	a 0.0033 B	0.0027 C
Media	0.0039 B	0.0033 B	0.0062 A	
Evaluación a los 23 dds				
0	b 0.0082 BC	c 0.0041 A	a 0.0125 A	0.0083 A
10 ⁶	a 0.0060 BC	a 0.0032 A	a 0.0032 B	0.0041 C
10 ⁹	a 0.0141 A	b 0.0031 A	a 0.0115 A	0.0096 A
10 ¹²	a 0.0050 C	a 0.0040 A	a 0.0059 B	0.0050 BC
10 ¹⁵	a 0.0087 B	b 0.0051 A	b 0.0046 B	0.0062 B
Media	0.0084 A	0.0039 B	0.0075 A	
Evaluación a los 31 dds				
0	a 0.0105 A	b 0.0067 B	a 0.0141 A	0.0104 AB
10 ⁶	a 0.0131 A	a 0.0141 A	b 0.0073 B	0.0115 A
10 ⁹	b 0.0052 B	a 0.0134 A	a 0.0131 A	0.0106 AB
10 ¹²	a 0.0138 A	b 0.0085 B	b 0.0050 B	0.0091 B
10 ¹⁵	a 0.0103 A	a 0.0079 B	a 0.0075 B	0.0086 B
Media	0.0105 A	0.0101 A	0.0094 A	

V. CONCLUSIONES

1. La concentración 10^{12} bacterias ml^{-1} inoculadas a semillas de lechuga combinada con polietileno amarillo como cubierta de macrotúnel induce a una mayor área foliar.
2. La cubierta roja incrementa la mayor longitud radicular pero la concentración no ayuda para el desarrollo de esta.
3. El mayor incremento en peso fresco y seco del tallo se obtuvo con la concentración 10^{12} bacterias ml^{-1} y la cubierta amarilla.
4. El mayor incremento en peso fresco de raíz es con la concentración 10^9 bacterias ml^{-1} con el color de cubierta rojo.
5. El mejor incremento para peso seco de raíz fue con la concentración 10^6 bacterias ml^{-1} , con la cubierta de polietileno color amarilla, sin embargo, el testigo tiene el mismo valor con la cubierta color rojo.
6. Considerando las variables evaluadas los mejores trasplantes de lechuga se obtiene a una concentración de 10^{12} bacterias ml^{-1} utilizando cubierta plástica amarilla.

VI. RESUMEN

Esta investigación se realizó en los macrotúneles del departamento de horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. La cual se hizo con el propósito de estudiar el comportamiento de la planta de lechuga al ser inoculada con la bacteria *Azospirillum sp.* Producidas bajo condiciones de macrotúnel con cubiertas de polietileno con tres colores diferentes (blanco, amarillo y rojo), en cada macrotúnel fueron colocadas cinco charolas las cuales cuatro de ellas contenían semilla tratada con diferentes concentración de *Azospirillum sp.* y una de ellas portaba al testigo. Después de germinada la plántula se realizaron tres evaluaciones, el primer muestreo se realizo cuando ya había un 80% de plántulas, y los dos siguientes cada ocho días, en los tres muestreos se midieron: longitud de raíz, área foliar, peso fresco y seso seco de follaje, peso fresco y seco de raíz, bajo un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial, con 4 tratamientos y un testigo (A), con 3 cubiertas plásticas (B). Las concentraciones 10^{12} bacterias ml^{-1} con el polietileno amarillo inducen una mejor área foliar, en peso seco y fresco del tallo, la cubierta roja con el testigo inducen a una mejor longitud de raíz, la concentración 10^9 bacterias ml^{-1} con el color de cubierta rojo presentaron buenos resultados en el peso fresco de raíz el mejor incremento para peso seco de raíz fue con la concentración 10^6 bacterias ml^{-1} , con la cubierta de polietileno color amarilla, sin embargo, el testigo tiene el mismo valor con la cubierta color rojo. Estos fueron los resultados obtenidos en la investigación,

con los cuales puedo concluir que las variables evaluadas los mejores trasplantes de lechuga se obtienen a una concentración de 10^{12} bacterias ml^{-1} utilizando cubierta plástica amarilla.

VII. LITERATURA CITADA

- Bashan, Y., and H. Levanony, and R. E. Whitmoyer. 1991. root surface colonization of non-cereal crop plants by pleomorphic *Azospirillum brasilense* Cd. J. Gen. Microbiol. 137:187-196
- Bashan, Y., Mitiku, R. E. Whitmoyer, and H. Levanony. 1991. Evidence that fibrillar anchoring is essential for *Azospirillum brasilense* cd attachment to sand. Plant Soil 132: 73-83.
- Bashan, Y., M. E. Puente, M. Rodríguez- Mendoza, G. Toledo, G. Holguin, R. Ferrera- Cerrato, and S. Pedrin. 1995. Survival of *Azospirillum brasilense* in the bula soil and rhizosphere of 23 soil types. Appl. Environ. Microbiol. 61:1938-1945.
- Bastarrachea, F., M. Zamudio, and R. Rivas. 1987. Non-encapsulated mutants of *Azospirillum brasilense* and *Azospirillum lipoferum*. Can. J. Microbiol. 34: 24-29.
- Ben Dekhil, S., M. Cahil, E. Stackebrandt, and L. I. Sly. 1997 Transfer of Conglomeromonas largomobilis subsp. Largomobilis to the genus *Azospirillum* as *Azospirillum largomobile* comb. Nov., and elevation of conglomeromonas largomobilis subsp. Parooensis to the Bidwell, R. G. S. 1990. Plant Physiology. Ed. MacMillan Publishing Co. , Inc. New York. 643 p.
- Bergey' S Manual. 1984 Bacteriología sistemática. Ed. I, Vol. I sección 2.
- Bernat J., Carlos Andrés V., Juan J. y Martínez R., José 1987 invernaderos, construcción, manejo y rentabilidad. Editorial Aedos España.
- Bidwell, R. G. S. 1990. Plant Physiology. Ed. Mac Millan Publishing Co., Inc New York. 643 pp
- Caballero-Mellado, J., and Valdés.1983.Incidencia de *Azospirillum* en algunas gramíneas del trópico subhúmedo calido de Mexico.Turrialba33:83-88.35
- Croes, C.L., S.Moens, E.VanBastelaere, J.Vanderleyden, and K.W.Michiels.1993.The polar flagellum mediates *Azospirillum brasilense* adsorption to wheat roots.J.Gen.Microbiol.139:2261-2269.

- Daza O., C. A. 1994. Respuesta de plántulas de coliflor *Brassica oleracea* var. *Botrytis* bajo cubiertas plásticas de colores en microtúneles. Tesis de Licenciatura. UAAAN, Saltillo, Coahuila México.
- Dazzo, F.B., and J.R. Milam. 1975. Serological studies of *spirillum lipoferum*. *Proc. Fla. Soil. Crop Sei*, 35:121-126.
- De Coninck, K., S. Horemans, S. Rombaut, K. Vlassak. 1988. Occurrence and survival of *Azospirillum* spp, in temperate regions. *Plant Soil* 110:213-218.
- De Freitas, J.R. y J.J. Germida. 1992. Growth promotion of winter wheat by *Pseudomonas fluorescens* under growth chamber conditions. *Soil Biol. Biochem.* 24:1127-1135.
- De-polli, H., B.B. Bohlool, and J. Dübereiner. 1980. Serological differentiation of *Azospirillum* species belonging to different host-plant specificity groups. *Arch. Microbiol.* 126:217-222.
- Díaz, V. P., Ferrera- Cerrato, R., Almaraz- Suárez, J.J. y Alcanzar G. G. 2001. Inoculación de bacterias de crecimiento en lechuga. *Terra* 19:327-335.
- Domínguez R., A. 2005. Uso de cubiertas fotoselectivas para la producción de plántulas de hortalizas. Tesis Maestría. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México.
- Dübereiner, J. 1978. Influence of environmental factors on the occurrence of *spirillum lipoferum* in soils and roots. *Ecol. Bull. (Stockholm)* 26:343-352
- Dübereiner, J. 1983. Ten years *Azospirillum*, p.9-23. En W. Klingmüller (ed.), *Azospirillum* II: Genetics, phylogeny, and ecology. Birkhauser, Basel Switzerland. (Experientia supplementum, 48)
- Dübereiner, J. 1992. The genera *Azospirillum* and *Herbaspirillum*, p.2236-2253. En a Balows, H.G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder and K.-H. Schleifer (ed.), *The prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications*. Springer-Verlag. New-York.

- Dübereiner, J., I. E. Marriel, and M. Nery. 1976. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. *Can. J. Microbiol.* 22:1464-1473.
- Falk, E. C., J. L. Johnson, V. L. D. Baldani, J. Dübereiner, and N. r. Krieg. 1986. Deoxyribonucleic and ribonucleic acid homology studies of the genera *Azospirillum* and *Conglomeromonas*. *Int. J. Syst. bacteriol.* 36:80-85.
- F. Nuez, P. Fernández de Córdova, S. Soler, J. V. Valcárcel, J. Montalt 2000. Colección de semillas de lechuga del centro de conservación y mejora de la Agro diversidad Valenciana. Madrid.
- Gafny, R., Y. Okon, Y. Kapulnik, and M. Fischer. 1986 Adsorption of *Azospirillum brasilense* to corn roots. *Soil Boil. biochem.* 18:69-75.
- Garza, J. M. 1985. Las hortalizas cultivadas en México: su importancia, fisiotecnia UACH Chapingo, México.
- Guenkow, G. 1974 fundamentos de la horticultura Cubana. Instituto Cubano del libro. La Habana Cuba.
- Hartmann, A., H. Fu, and R. H. Burris. 1988. Influence of amino acids on nitrogen fixation ability and growth of *Azospirillum* spp. *appl. Environ. Microbiol.* 54:87-93.
- Hartmann, A., M. Stoffels, B. Eckert, G. Kirchhof, and M. Schloter. 2000. Analysis of the presence and diversity of diazotrophic endophytes, p. 727-740. In E. W. Triplett (ed.), *Prokaryotic nitrogen fixation: a model system for analysis of a biological process*. Horizon Scientific Press, Wymondham, UK.
- Hernández D., J., Robledo T. V.; Benavides M.A; Flores V., J. 2004. Producción de transplantes de brócoli (*Brassica oleracea*. Var. Itálica) con cubiertas fotoselectivas. UAAAN. Buenavista Saltillo, Coahuila Mexico.
- Hoyos E., P. 1995. Parámetros de calidad en plántulas horticolas. En : II Jornada sobre semillas y semilleros horticolas. Ed. Dirección general de la producción agraria 35/96. Congreso y Jornadas. Almeria 89:31 Mayo, 1995.
- Ibarra, J. L. 1997. Acolchado del suelo con películas plásticas. Editorial limusa primer reimpresión.

- Jain, D.K., and Patriquin. 1984. Root hair deformation, bacterial attachment, and plant growth in wheat-*Azospirillum* associations. *Appl. Environ. Microbiol.* 48:1208-1213.
- J. V. Maroto Borrego, A. Miguel Gamez, C. Baixauli Soria. *La lechuga y la Escarola*. ED. Mundi Prensa 2000.
- Kapulnik, Y., M. Feldman, Y. Okon, and Y. Henis. 1985. Contribution of nitrogen fixed by *Azospirillum* to the N nutrition of spring wheat in Israel. *Soil Biol. Biochem.* 17:509-515.
- Khammas, K.M., E. Ageron, P.A.D. Grimont, and P. Kaiser. 1989. *Azospirillum irakense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. *Res. Microbiol.* 140:679-693.
- Kosslak, R.M., and B.B. Bohlool. 1983. Prevalence of *Azospirillum* spp. in the rhizosphere of tropical plants. *Can. J. Microbiol.* 29:649-652.
- Kloepper J. w., M. N. Schroth y T. D. Miller 1980. Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathol.* 70:1078-1082.
- Krieg, N.R., and J.J. Tarrand. 1978. Taxonomy of the root-associated nitrogen-fixing bacterium *Spirillum lipoferum*. p.317-333. En J Dübereiner, R.H. Burris, A. Hollander, A.A. Franco, C.A. Neyra and D.B. Scott (ed.), *Limitations and potential for bacteriological nitrogen fixation in the tropics*. Plenum Press. New York.
- Kulinzka, D. 1983. Occurrence of *Azospirillum* in Polish soils. *Acta Microbiol. pol.* 32:265-268.
- Ladha, J., W.L. Barraquio, and I. Watanabe. 1987. Composition of *Azospirillum* species associated with wetland rice. *Can. J. Microbiol.* 28:478-485.
- Ladha, J.K., R.B. So, and I. Watanabe. 1987. Composition of *Azospirillum* species associated with wetland rice plant grown in different soils. *Plant Soil* 102: 127-129.
- Lamm, R.B., and Neyra, C.A. 1981. Characterization and cyst production of *Azospirilla* isolated from selected grasses growing in New Jersey and New York. *Can. J. Microbiol.* 27:1320-1325.
- Lerna, G.A. 1975. *Lechuga*, enciclopedia de la huera editorial mundo técnico Buenos Aires, primera edición.

- Levanony, H., and Y. Bashan. 1988. Enhancement of cell division in wheat root tips and growth of root elongation zone induced by *Azospirillum brasilense*. *Can. J. Bot.* 67:2213-2216.
- Levanony, H., Y. Bashan and Z. E. Kahana. 1987. Enzyme-linked immunosorbent assay for specific identification and enumeration of *Azospirillum* in cereal roots. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:358-364.
- Li, C. Y., and M. A. Castellano. 1987. *Azospirillum* isolated from within sporocarp of the mycorrhizal fungi *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata*, and *Rhizopogon vinicolor*. *Trans. Br. mycol. Soc.* 88:563-565.
- Linedición editorial coln, C. P. 1987. Vegetables, characteristics, production and marketing.
- Lynch, J. M. 1990. The rhizosphere. John Wiley. New York.
- Lopez-Reyes, L., L. Soto-Urzuá, M. A. Mascarúa-Esparza, I. Herrera-Camacho, and J. Caballero-Mellado. 1989. Antibiotic resistance and β -lactamase activity in *Azospirillum*. *Soil Biol. Biochem.* 21: 651-655
- Magalhaes, F. M. M. 1984. Ocorrência de *Azospirillum* amazonense em alguns ecossistemas da Amazonia. *Rev. Microbiol. Sao Paulo* 15:246-252.
- Magalhaes, F. M., J. I. Baldani, S. M. Souto, J. R. Kuykenlandl, and J. Döbereiner. 1983. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. *An. Acad. Brasil. Cienc.* 55:417-430.
- Martínez M., F. 1995, Manual Básico de diseño, construcción y operación de invernaderos y viveros. Oasis, consultoría. Morelos, México.
- Mainardi, F. F. 1978. Hortalizas de hoja, flor, tallo, editorial Devecchi, S. A. Barcelona, España.
- Mascarúa-Esparza, M. A., R. Villa-Gonzalez, and J. Caballero Mellado. 1988. Acetylene reduction and indoleacetic acid production by *Azospirillum* isolates from Cactaceous plants. *Plant soil* 106:91-95.
- Mendoza H., J. M. 1983. Diagnóstico climático para la zona de influencia inmediata a la UAAAN. Pp. 1-5

- Michiels, K.W., C.L. Croes, and J. Vanderleyden. 1991. Two different modes of Attachment OF *Azospirillum* brasilense Sp7 to wheat roots. *J.Gen.Microbiol.* 137:2241-2246.
- Murthy, M.G., and J.K. Ladha. 1987. Differential colonization of *Azospirillum* lipoferum on roots of two varieties of rice (*Oryza sativa* L.). *Biol.Fertil.Solis* 4:3-7.
- New, P.B., and I.R. Kennedy. 1989. Regional distribution and pH sensitivity *Azospirillum* associated with wheat roots in Eastern Australia. *Microb.Ecol.* 17:299-309.
- Nur, L., Y. Okon, and Y. Henis. 1980. Comparative studies of nitrogen-fixing bacteria associated with rasses in Israel with *Azospirillum* brasilense. *Can.J.Microbiol.* 26:714-718.
- Okon, Y., L. Albrecht, and R.H. Burris. 1976. Factors affecting growth and nitrogen fixation of *Spirillum* lipoferum. *J.Bacteriol.* 127:1248-1254.
- Orsolek, M. d. 1995. Is there a difference in red mulch? *Proc. Natl. Agr. Plastic Congr.* 26:120.126.
- Papaseit, P., J. Badiola y E. Armaguel. 1997. Los plásticos y la agricultura. Editorial de Hortalizas.
- Paredes-Cardona, E., M.G. Carcaño-Montiel, M.A. Mascarua-Esparza, and J. Caballero-Mellado. 1988. Respuesta del maíz a la inoculación con *Azospirillum* brasilense. *Rev.Lat-amer.Microbiol.* 30:351-355.
- Piña, R. A. 1990. Semiforzados de cultivos mediante el uso de plásticos. Editorial limusa primer edición México.
- Rao, A.V., and B. Venkateswarlu. 1982. Associative symbiosis of *Azospirillum* lipoferum with dicotyledonous succulent plant of the Indian desert. *Can.J.Microbiol.* 28:778-782.
- Reinhold, B., T. Hurek, I. Fendrik, B. Pot. M. Gillis, K. Kersters, S. Thielemans, and J. De Ley. 1987. *Azospirillum* halopraeferens sp.nov., a nitrogen-fixing organism associated with roots of Kallar grass (*Leptochloa fusca* (L.) Kunth). *Int.J.Syst.Bacteriol.* 37:43-51.
- Robledo, F. P. y V. L. Martín. 1938. Aplicación de plásticos en la agricultura segunda edición editorial mundi-prensa. Madrid –España.

- Robledo T. V., Hernández D. J., Benavides M. A., Ramírez M. H., Ramírez G. F. 2004. El uso de plásticos de colores sobre la producción lechuga (*Lactuca sativa* L.) Avances de investigación. UAAAN Buenavista, Saltillo, Coahuila México.
- Rodriguez-Caceres, E.1982.Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp.Appl.Environ.Microbiol.44:990-991.
- Sánchez V., F. 2005. Estudio en plántulas de lechuga desarrolladas en microtúneles con cubiertas plásticas fotoselectivas. Tesis de Licenciatura UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Serrano C., Z. 1990. Técnicas de Invernadero. ED. P. A. O. Suministros Gráficos S:A: Sevilla, España. 644 p.
- Sawicka,A.1987.Biological nitrogen fixation in soil under cereals.Acta Microbiol.Pol.36:119-125.
- Shawky, B.T.1989.Studies on the occurrence of asymbiotic nitrogen-fixing *Azospirillum* species in the soils and rhizosphere of some plants in Egypt.Zentralbl.Mikrobiol.144:581-594.
- Sivori M., E., E. R. Montaldi y O. H. Caso. 1980. Fisiología Vegetal. ED. Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires, Argentina. 680 p.
- Sly,L,I., and E.Stackebrandt.1999.Description of *Skermanella* *paroensis* gen.nov.,to accommodate *Conclomeromonas* *largomobilis* subsp.*paroensis* following the transfer of *Conglomeromonas* *largomobilis* subsp.*largomobilis* to the genus *Azospirillum* .Int.J.Syst.Bacteriol.49:541-251.
- Tarrand,J.J.,N.R.Krieg.and J.Dúbereiner.1978.A taxonomic study of the *Spirillum* *lipoferum* group,with descriptions of a new genus,*Azospirillum* gen.nov.and two species.*Azospirillum* *brasilense* sp. Nov.Can.J.Microbiol.24: 967-980.
- Taiz, L. y E. Zeiger. 1991. Plant Physiology. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. Redwood city California. 559 p.
- Tyler,M.E.,J.R.Milam.R.L.Smith,S.C.Schank,and D.A.Zuberer.1979.Isolation of *Azospirillum* from diverse geographic regions.Can.J.Microbiol.25:693-697.

- Umali-Garcia, M., D.H. Hubbell, M.H. Gaskins, and F.B. Dazzo. 1980. Association of *Azospirillum* with grass roots. *Appl. Environ. Microbiol.* 39:219-226.
- Vande Brock, A., J. Mchiel, A. Van Gool, and J. Vanderleyden. 1993. Spatial-temporal colonization patterns of *Azospirillum* brasilense on the wheat root surface and expression of the bacterial nifH gene during association. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 6:592-600.
- Wong, P.P., and N.E. Stenberg. 1979. Characterization of *Azospirillum* isolated from nitrogen-fixing roots of harvested sorghum plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 38:1189-1191.
- Young, J.P.W. 1992. Phylogenetic classification of nitrogen-fixing organisms. p. 43-86. In G. Stacey, R.H. Burris, and H.J. Evans (ed.), *Biological Nitrogen Fixation*, Chapman and Hall, New York, N.Y.

