

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**

**DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA**



Evaluación de Minerales en Tomate (*Solanum lycopersicum* L.) Inoculado con  
*Azospirillum* y Selenio en Invernadero

Por:

**ERIK CANALES RUELAS**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

Saltillo, Coahuila, México.

Abril del 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISION DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Evaluación de Minerales en Tomate (*Solanum lycopersicum* L.) Inoculado con  
*Azospirillum* y Selenio en Invernadero

Por:

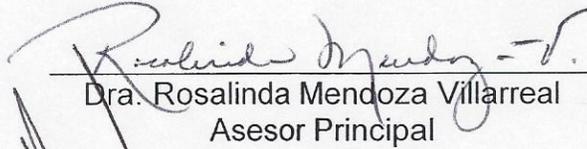
**ERIK CANALES RUELAS**

TESIS

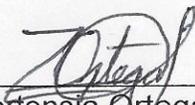
Presentada como requisito parcial para obtener el título de

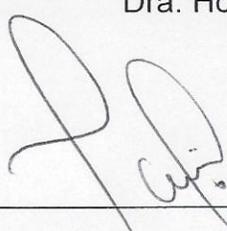
**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

Aprobada:

  
Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal  
Asesor Principal

  
Dr. Alberto Sandoval Rangel  
Coasesor

  
Dra. Hortensia Ortega Ortiz  
Coasesor

  
Dr. Leobardo Bañuelos Herrera  
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.

Abril, 2014

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la oportunidad de vivir y concluir esta etapa tan importante en mi vida

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por abrirme sus puertas y darme la oportunidad de formarme profesionalmente.

A la **Fundación Avanza Campeche, A. C.** por el apoyo con la beca que me otorgaron, y gracias porque pude terminar mis estudios.

A la **Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal**, por darme la confianza para realizar esta investigación, así como los conocimientos y tiempo que me compartió.

A la **Dra. Hortensia Ortega Ortiz**, por su valiosa aportación para la realización de este proyecto y su tiempo invertido.

Al **DR. Alberto Sandoval Rangel**, por su apoyo en estos últimos momentos para culminar mi carrera.

A la **Ing. Gloria Laura Nuncio Orta** por su apoyo y su paciencia gracias por su ayuda y su tiempo.

Gracias a las laboratoristas **Martina de la Cruz Casillas** y **Laura María Durón Ochoa** del Departamento De Horticultura por su apoyo en los análisis y material utilizado.

A la **Biol. Silvia Guerrero Martínez** y a la **Lic. María del Socorro Mireles Vasquez**, por el apoyo en el trabajo de laboratorio en el departamento de riego.

A la **Lic. Irma Oralía Solís De la Peña** por la determinación de selenio por espectroscopía de absorción atómica (ICP).

## DEDICATORIA

**A mi madre Ana Luisa Ruelas Coba** que sin ella no estaría aquí a ella le dedico mi futuro, más que un futuro mi vida.

**A mi padre** por darme motivos para seguir adelante y ser mejor profesionalista que el.

### **A mis abuelos**

Gracias a **María Timotea Estrada Cruz**, mi abuela paterna que me motivo y me dio todo su apoyo para seguir estudiando con el sueño de que yo sea un profesionalista.

Mi segunda madre que ahora sé que me está cuidando desde el cielo y que me da fuerzas para seguir adelante.

A mi abuelo **Apolinar Canales Cruz**, mi abuelo paterno que su apoyo y sus enseñanzas en la vida están dando resultados, años de esfuerzo y dedicación dieron resultados

Muchas gracias por todo.

### **A mis hermanas.**

**Luisa Lizbeth Canales Ruelas y Erika Janet Canales Ruelas** agradezco a DIOS por tenerlas a mi lado y el compartir momentos buenos y malos, ustedes fueron y serán mi inspiración para seguir adelante este trabajo se las dedico, que han sido mi motivo y ojala se sientan orgullosas de su hermano como yo me siento orgulloso de ustedes las amo y que DIOS las bendiga, las quiero mucho. Gracias hermanitas.

A mis compañeros y amigos del equipo de futbol americano de la universidad, con los que pase triunfos y derrotas. Lágrimas que derrame con ellos, al defender los colores de la universidad, los entrenadores que siempre nos motivan a salir adelante y que todo se puede con esfuerzo y dedicación.

Por siempre buitres de la narro...

## ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIA.....	ii
INDICE DE CONTENIDO.....	iii
INDICE DE CUADROS.....	v
INDICE DE FIGURAS.....	v
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
Objetivo.....	4
Hipótesis.....	4
REVISION DE LITERATURA.....	5
Origen e historia.....	5
Clasificación taxonómica.....	5
Descripción botánica.....	6
Requerimientos climáticos.....	9
Microorganismos en el suelo.....	10
Biofertilizantes.....	10
Género <i>Azospirillum</i> .....	11
Ventajas del uso de <i>Azospirillum sp</i> y respuesta agronómica.....	12
La rizósfera.....	14
Actividad de la bacteria.....	15
Distribución y aislamiento.....	15
Identificación.....	16
Inoculación y respuesta agronómica.....	16
Fósforo.....	19
Absorción y transporte de fósforo.....	19
Potasio en plantas.....	20
Selenio.....	22
Selenio en el suelo.....	24
Selenio en plantas.....	25
Capacidad antioxidante.....	26

MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
Localización del área experimental.....	29
Descripción del experimento.....	29
Descripción de tratamientos.....	31
Variables evaluadas.....	32
Diseño experimental.....	32
Modelo estadístico.....	33
Análisis de datos.....	33
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
CONCLUSIÓN.....	39
LITERATURA CITADA.....	40
Apéndice.....	49

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Niveles de elementos en tomate.....	20
Cuadro 2. Componentes de la solución nutritiva de steiner.....	30
Cuadro 3. Tratamientos establecidos en invernadero en el cultivo de tomate con la inoculación de <i>Azospirillum</i> y selenio en plántulas de tomate saladette variedad Río Grande.....	31
Cuadro 4 Prueba de comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) de Minerales con tres dosis de selenio aplicado a plantas de Tomate var. Río Grande, en invernadero, 2013.....	34
Cuadro 5. Prueba de comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) de minerales con tres dosis de <i>Azospirillum</i> aplicado a plántulas de tomate var. Río Grande, en invernadero, 2013.....	35
Cuadro 6. Prueba de comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) de minerales en la interacción de concentración de selenio y <i>Azospirillum</i> aplicados a plántulas de tomate var. Río Grande, en invernadero, 2013.....	36
Cuadro 1A. Análisis de varianza de Fósforo con aplicación de selenio y <i>Azospirillum</i> en plantas de tomate saladette var. Río Grande en invernadero, 2013.....	49
Cuadro 2A . Análisis de varianza de potasio con aplicación de selenio y <i>Azospirillum</i> en plantas de tomate saladette var. Río Grande en invernadero, 2013.....	49
Cuadro3A. Análisis de varianza de selenio con aplicación de selenio y <i>Azospirillum</i> en plantas de tomate saladette var. Río Grande en invernadero, 2013.....	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de tomate.....	6
Figura 2. Estructura de una raíz y la rizosfera correspondiente.....	15

## RESUMEN

Este estudio se llevó a cabo para determinar el efecto de la inoculación en plantas de tomate con diferentes concentraciones de *Azospirillum sp.* y selenio en las variables de respuesta; concentración de minerales

El experimento consistió en estudiar las combinaciones de las concentraciones de 0,1,5 y 10 ppm de selenio y diluciones de 0,  $10^4$ ,  $10^6$ , y  $10^8$  ufc ml<sup>-1</sup> de *Azospirillum*, con 16 tratamientos, utilizando 3 repeticiones por tratamiento. Se utilizó un diseño factorial A x B y completamente al azar, de acuerdo a la prueba de comparación de medias no se encontró diferencia significativa en las concentraciones de *Azospirillum* y la concentración de selenio afecto en la disponibilidad de los nutrientes. De acuerdo con esta metodología se pudo encontrar el punto óptimo de los factores que inducen un cambio en las variables estudiadas, esto contesta el objetivo del trabajo en el cual se encontró que a concentraciones bajas de selenio y *Azospirillum sp.*, se afecta de manera positiva la absorción de minerales en tomate.

**Palabras clave:** *Azospirillum*, inoculación, rizóbacterias, selenio, tomate.

## INTRODUCCIÓN

El Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Es una de las principales hortalizas cultivadas en el mundo, además de ser un cultivo de muy alto valor económico. De acuerdo con la organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación (FAO) la producción mundial de tomate se ubicó en 141. Millones de toneladas durante 2009. Lo anterior, ante el aumento que ha reportado la superficie cosechada de países como Egipto, China, Turquía e India. México se ubica en el décimo lugar de la producción mundial después de China, Estados Unidos, Turquía, India, Egipto e Italia, cuya producción en conjunto representa más del 60 % del total global.

Según las estadísticas de la FAO, durante el período comprendido entre 2005 y 2009, el promedio de superficie cosechada fue de 112 mil 567 hectáreas, y el rendimiento obtenido fue de 25.7 toneladas por hectárea.

Es un cultivo muy importante para México, pues representa su principal producto de exportación. En 2009 se exportaron 1 millón 111 mil toneladas, de las cuales el 99.2% fueron a parar a los mercados de Estados Unidos y el resto a Canadá y Japón. Sin embargo, aproximadamente 49 mil 770 toneladas fueron reintroducidas al país en forma de ensaladas, jugos, preparaciones alimenticias y comidas enlatadas.

A través del tiempo el hombre se ha visto en la necesidad de hacer más eficientes los sistemas de producción, para obtener el mayor rendimiento posible y así satisfacer las demandas del mercado en cuanto a cantidad y calidad, con la mínima inversión. Entre las tecnologías que se utilizan destacan la utilización de biofertilizantes, la aplicación de bacterias fijadoras de nitrógeno. Por otro lado ha sugerido la necesidad de sustituir la agricultura a base de agroquímicos por una forma de cultivo orgánico, esto ha llevado a la investigación y el desarrollo de nuevos productos con un impacto mínimo para

el ambiente y que permita mantener o aumentar los rendimientos de los cultivos.

Las bacterias fijadoras de nitrógeno han sido objetivo de numerosos estudios, en diversos cultivos de importancia agronómica, estas se han utilizado para aumentar la germinación y crecimiento, fijar nitrógeno, producir sideróforos para asimilar nutrientes.

Se utiliza de forma inoculada a la semilla y a la raíz  $5.10^{+06}$  ufcml<sup>-1</sup> de la cepa C-5 de *Azospirillum* sp. ya que afectan de manera positiva la calidad fisiológica de semillas de tomate.

La planta lo toma al selenio como iones selenato ( $\text{SeO}_4^{=}$ ) o Selenito ( $\text{SeO}_3^{=}$ ). El contenido en las plantas varía entre 0.01 y 1 ppm. El contenido de selenio en plantas varía mucho; algunas Plantas alcanzan niveles de hasta 15 ppm de la materia seca (MS), pero el promedio se encuentra entre 0.01 y 1.0 ppm de MS. Para los rumiantes, los niveles tóxicos de selenio son mayores de 5 mg/kg de MS. Pero el contenido de selenio en forrajes y granos es menor a 0.05 mg/kg de MS.

Las concentraciones recomendables para evitar este trastorno deben de ser iguales o mayores a 0.1 ppm Se/MS. El contenido de selenio en plantas en el altiplano de México hasta La península de Yucatán es bajo y estrechamente asociado con las concentraciones de elemento en el suelo. Sin embargo la cantidad diaria de consumo para adulto es de 55 a 400 microgramos.

## **OBJETIVO**

Encontrar la concentración de selenio y *Azospirillum* que facilite la asimilación de fósforo y potasio en plantas de tomate.

## **HIPÓTESIS**

Es posible que al menos una de las de las concentraciones de *Azospirillum* sp y selenio, incrementen la disponibilidad de fósforo y potasio en plantas de tomate.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Origen e historia

El tomate (*Lycopersicon esculentum* mill.) es una planta cuyo origen se localiza en la región andina que se extiende desde el sur de Colombia, al norte de Chile y desde la costa del pacífico (incluidas las islas galápagos) a las estribaciones orientales de los andes, comprendiendo los países de Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Chile. México está considerado a nivel mundial como el centro más importante de domesticación del tomate. (Rodríguez *et al*, 2001).

### Clasificación taxonómica

El jitomate (*Solanum lycopersicum* L. = *Lycopersicon esculentum* Mill.) Es una planta dicotiledónea perteneciente a la familia de las solanáceas; la taxonomía generalmente aceptada es (Peralta, *et al* 2005 y 2007):

Reino: Vegetal

Clase: Magnoliopsida

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Subfamilia: Solanoideae

Tribu: Solaneae

Género: Solanum

Especie: *lycopersicum* L

## Descripción botánica



**Figura 1.** Planta de tomate.

### **Raíz**

El cultivo se descompone de una raíz principal de las que surgen raíces laterales que forman un conjunto de un radio de 1.5m la mayor parte del sistema radical se ubica entre los 5 y 45 cm de profundidad (rodríguez, *et al.* 2001).

El sistema radicular del tomate consta de una raíz principal y gran cantidad de ramificaciones secundarias. En los primeros 20 cm de la capa de suelo se concentra el 70 % de la biomasa radical. No obstante, bajo condiciones de cultivo sin suelo se le confina en contenedores de diferente volumen, geometría y disposición. Usualmente confiere a las plantas gran ramificación de raíces y vigor a la planta. Por lo que hay que tener cuidado con las variedades

vigorosas. Las raíces de cultivos en sustratos, prácticamente carecen de pelos absorbentes y las raíces tienden a ser más gruesas y de gran parte de estas se encuentran en torno a la salida del emisor y la parte baja de los contenedores (Muños y Castellanos, 2003).

## **Tallo**

El tallo es herbáceo en su etapa de desarrollo es erecto y cilíndrico, cubierto de pelos glandulares que expulsan una sustancia de color verde amarillo con un olor característico que desempeña el papel de repelente para algunos insectos. El tamaño es determinado por características genéticas así como por otros factores (rodríguez *et al*, 2001).

La planta de tomate es herbácea, perene y relativamente de vida corta, cultivada es anual, ramificada, de tallo sarmentoso y pubescente en toda superficie, semileñosa sin dominancia apical, con crecimiento indeterminado o determinado por un racimo floral, predominando el primero. El tallo es el eje sobre el cual se desarrollan las hojas, flores y frutos, por ello es importante vigilar su vigor y sanidad; el diámetro puede ser de 2 a 4 cm y el porte puede ser de crecimiento determinado (tallos que al llegar a cierto número de ramilletes detienen su crecimiento) e indeterminado (tallos que no detienen su crecimiento). En las axilas de las hojas del tallo principal surgen de los tallos secundarios que son eliminados mediante poda para una buena conformación de la planta. El desbrote debe ser oportuno, cuando los brotes desarrollen unos 5 cm. De esta manera las cicatrices son pequeñas y con ello menor riesgo de enfermedades. Por cuestiones hormonales en la planta el brote inmediato al racimo es más vigoroso y por ello hay que vigilar que su desbrote sea oportuno (Muñoz y Castellanos, 2003).

## **Hojas**

Son sencillas, pecioladas de limbo muy hendido, parecen compuestas sin serlo, de foliolos lobulados, ovales y acuminados, con brotes dentados, de color verde intenso en el haz y verde claro en el envés. Sobre el tallo las hojas surgen de

modo alterno. Al igual que el tallo, también están recubiertas de pelos glandulares. Normalmente aparecen tres hojas por simpodio, es decir entre ramilletes. Las hojas son las responsables de la fotosíntesis por lo que deben tener una buena disposición para una mayor intercepción de la radiación. Por ello es importante que el emparrillado para un entutorado quede simétricamente establecido y además que no interfiera con las labores de manejo del cultivo (Muñoz y Castellanos, 2003)

### **Flor**

Las flores son pequeñas, pedunculadas de color amarillo, formando corimbos axilares: el cáliz tiene 5 pétalos, corola soldada inferiormente, con 5 pétalos que conforman un tubo pequeño, los 5 estambres están soldados estilo único que a veces sobresale de los estambres, el ovario contiene muchos óvulos (Muñoz y Castellanos, 2003).

### **Frutos**

Los frutos de tomate son bayas carnosas con diferencias en formas (lisos, asurcados, aperado, etc.) e intensidad de coloración; de rojiza o amarillo en caso de ciertas variedades, en donde se desarrollan las semillas de forma reniforme y aplanadas (Muñoz y Castellanos, 2003).

### **Semillas**

Las semillas del tomate son de forma lenticular con dimensiones de 5x4x2 mm y está constituida por el embrión, el endospermo y la testa o cubierta seminal. El embrión lo forman una yema apical, dos cotiledones, el hipocotilo y la radícula. La testa o cubierta seminal es el tejido duro o impermeable. La germinación de las semillas ocurre de manera relativamente fácil (Muñoz y Castellanos, 2003).

## **Requerimientos climáticos**

A la planta de tomate le favorecen los climas cálidos, sin embargo bajo condiciones de baja luminosidad, las temperaturas de la noche y del día se deben mantener bajas, de lo contrario, se tendrá una planta raquílica y de floración pobre, como consecuencia de que la energía que proporciona la fotosíntesis es inadecuada para la velocidad de crecimiento. Una planta joven utiliza productos disponibles de la fotosíntesis, en primer lugar para mantenimiento y crecimiento y en segundo, para las raíces y tercero para formar el fruto (León, 2001).

## **Temperaturas**

La temperatura influye en todas las funciones vitales de la planta, como son la transpiración, fotosíntesis, germinación, etc., para el tomate las temperaturas óptimas son: nocturnas de 15 a 18 °C, diurnas de 24 a 25 °C y para su desarrollo vegetativo entre 22 y 23 °C, aunque el cultivo de tomate se adapta a climas con temperaturas entre los 18 y 26 °C y las óptimas durante el día y las noches son de 22 y 16 °C respectivamente y el tomate no resiste las heladas.

Con temperaturas entre 10°C y 15°C se originan problemas en el desarrollo y germinación. A temperaturas superiores a 25°C, e inferiores a los 12°C, la fecundación es defectuosa o nula. La maduración del fruto está influenciada por la temperatura en lo referente tanto a la precocidad como a la coloración, valores cercanos a los 10°C y superiores a los 30°C originan tonalidades amarillentas en el fruto. (Burgueño, 2001).

## **Humedad relativa**

La humedad relativa influye sobre el crecimiento de los tejidos, transpiración, fecundación de las flores, siendo preferible la humedad media no superior al 50% y suelos no encharcados. Burgueño, (2001) señala que cuando la humedad relativa 90 % está en exceso, existe un menor desarrollo vegetativo

por que se disminuye la transpiración, además de un incremento en el aborto de flores, aumenta la incidencia de enfermedades y persiste una condensación de humedad provocando el goteo.

### **Microorganismos en el Suelo**

Se conocen muchos microorganismos del suelo, y se pueden distinguir claramente en procariotas (bacterias y algas azul verdosas) y eucariotas (hongos, algas y protozoos). Son los componentes más importantes del suelo, siendo la parte viva y los responsables de la dinámica de transformación y desarrollo. Entre los beneficios del uso de microorganismos en la agricultura están: su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, la descomposición de residuos orgánicos, la desintoxicación con plaguicidas, la supresión de enfermedades en las plantas, el aporte de nutrientes al suelo y la producción de compuesto bioactivos como vitaminas y hormonas que estimulan el crecimiento de las plantas (Martínez, 2002).

### **Biofertilizantes**

El campo necesita utilizarse de forma responsable y sustentable a través de tecnologías que favorezcan la productividad y la calidad de los cultivos, utilizando de forma óptima los insumos requeridos, reduciendo costos. Todos estos aspectos pueden ser impactados a través del uso de los biofertilizantes.

Los biofertilizantes se clasifican en dos grupos: de acción directa e indirecta. Los primeros agrupan microorganismos que habitan en algún componente de los tejidos vegetales, y por ellos la acción benéfica se realiza en la planta y no en su medio circundante, es el caso de la fijación biológica de nitrógeno (FBN) y las micorrizas. En tanto, en la acción indirecta la biofertilización es aprovechada primero por el suelo y lo transmite hacia los cultivos, por medio de la solubilización de nutrientes como el fósforo.(Pizzani, *et al.* 2009).

En la agricultura el nitrógeno es el principal nutriente para el crecimiento de las plantas. A pesar de que el 78 por ciento del aire sea nitrógeno gaseoso, no puede ser aprovechado por las plantas, por lo que se requiere de un proceso para que sea transformado en una presentación de fácil asimilación para la raíz de la planta como son: nitritos, nitratos y amonio. La enzima nitrogenasa se encarga de transformar (fijar) el nitrógeno gaseoso en amonio, este proceso es conocido como fijación biológica de nitrógeno (FBN) de acuerdo a Elein, 2005. Al respecto la bacteria *Azospirillum*, tiene capacidad para fijar nitrógeno gaseoso a las raíces, que conlleva a mayor superficie de absorción de nutrientes y por consecuencia mejor crecimiento de las plantas realizando diversos experimentos para evaluar sus efectos en distintos cultivos, suelos y condiciones climáticas, y los resultados son alentadores, con éxitos de 60 a 70 por ciento de los casos y con rendimientos en los cultivos de cinco a 30 puntos porcentuales mayores. (Pereyra *et al.* 2010).

### **Género *Azospirillum***

Esta especie fue descubierta en 1922 por Beijerinck y se le llamó inicialmente *Spirillum lipoferum*. Estas bacterias son bacilos ligeramente curvados a menudo con puntos en los extremos, gram negativos, móviles, es microaerofílicas con diámetro celular es de 1  $\mu\text{m}$  y pH de crecimiento entre 6.8 y 7.8 (Madigan y Pereyra *et al.*, 2009). Actualmente son reconocidas siete especies en el género *Azospirillum*; *lipoferum*, *A. brasilense*, *A. amazonense*, *A. halopraeferans*, *A. irakense* y *A. largimobile* *A. dobereinereae* (Ecker *et al.*, 2001). Katzy E. (2001) reportaron que esta bacteria puede ser de vida libre o asociada con las raíces de los cereales, pastos y plántulas tuberosas. *Azospirillum sp* ha sido el objetivo de numerosos estudios por su capacidad de fijar nitrógeno asociado con las raíces de diversos cultivos de importancia agronómica, (Russo. *et al.*, 2008; Pereyra. *et al.*, 2009; Cohen. *et al.*, 2008).

## **Ventajas del uso de *Azospirillum sp* y respuesta agronómica**

- Son una alternativa emergente a los fertilizantes químicos inorgánicos para incrementar la fertilidad y producción de los cultivos en agroecosistemas sustentables (Wu. *et al.*, 2005).
- Los efectos benéficos del *Azospirillum* en el rendimiento y la reducción de la fertilización química, incluyendo la fertilización nitrogenada es importante para la agricultura y significativo en el cuidado del ambiente (Fisher *et al.*, 2007; Spaepen. *et al.*, 2008).
- Producen reguladores de crecimiento como auxinas, ácido Indolacético (AIA), citocininas, y proteínas como poliamina, fijan nitrógeno, incrementan el crecimiento radicular, además son capaces de acelerar y potenciar el crecimiento de las plantas (Villegas, *et al.*, 2010; Cassán. *et al.*, 2009a).
- Participan en la formación de los microagregados rizosféricos ricos en metabolitos microbianos principalmente del tipo aminoácidos y polisacáridos (Caesar *et al.*, 2007).
- Favorecen la tasa de germinación (Bashan y Bashan, 2005).
- Al permanecer vivas durante años y reproducirse en el suelo, contribuyen en la degradación de moléculas orgánicas de origen vegetal y animal que son fuente de carbono y energía (Rivera *et al.*, 2010). Además participan en diversos procesos del ecosistema, que incluyen el reciclaje, solubilización, descomposición y mineralización de compuestos orgánicos y la translocación de bioproductos y elementos minerales que conllevan la movilización de los nutrientes en el ecosistema suelo planta (Bare *et al.*, 2005). Disuelven y mineralizan los fosfatos, producen sideroforos y antibióticos (Vessey, 2003).
- Se ha comprobado que fertilizando los cultivos con estas bacterias y con nitrógeno químico en un porcentaje del 20 al 50% del utilizado normalmente se

consigue un aumento de producción sobre las cosechas obtenidas únicamente con fertilizante químico al 100% (Russo et al., 2008; Cassan *et al.*, 2009 b)

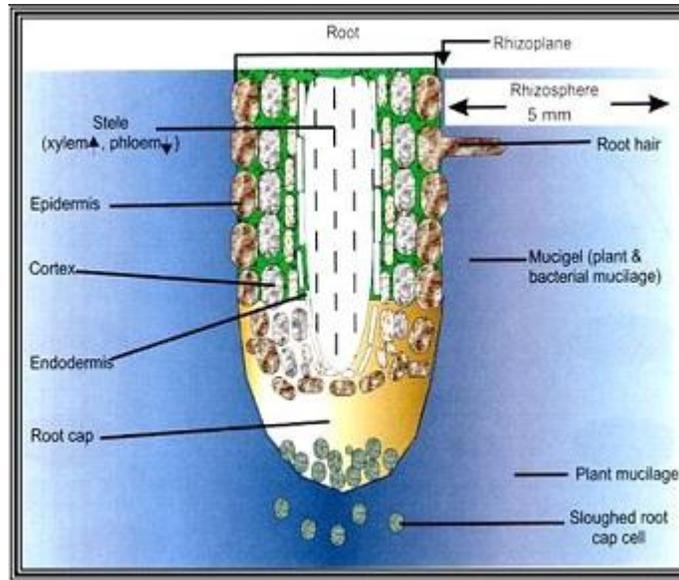
- Crea una barrera protectora contra hongos y bacterias patógenas en la raíz de la planta, por lo que esta crece más sana y fortalecida (Russo et al., 2008; Cassan et al., 2009b), debido a la capacidad de producirse en grandes cantidades bajo condiciones de alta humedad relativa, desplazan a los patógenos por la competencia generada o por la fortaleza fisiológica que adquiere la planta (Bashan y Bashan, 2002).
- Produce enzimas que solubilizan los fosfatos y los hacen más accesibles a la planta, así como factores que facilitan la absorción de oligoelementos (Bashan y Bashan, 2005).
- Se ha demostrado que las bacterias resisten mejor las condiciones de sequía y los climas áridos ya que se forman alginatos en las raíces de las plantas (Bashan y Bashan, 2005; Arzanesh, *et al.*, 2010)
- Aumentan la tolerancia a factores que originan estrés (Bashan y Bashan, 2005; Arzanesh et al., 2010) puesto que las plantas responden a los mecanismos de estrés a nivel celular y molecular, limitando el crecimiento y rendimiento (Pereyra, *et al.*, 2006).
- El efecto favorable de *Azospirillum*, produce un mayor desarrollo del sistema radical, traducido en mayor superficie de absorción de agua y nutrientes así como un mayor desarrollo de la parte aérea de la planta (Liriano, *et al.*, 2005), teniendo potencial para emplearse en la producción de plántulas de interés hortícola (Díaz, *et al.*, 2001).
- Promoción de la división celular en el meristemo radicular (Levanony y Bashan, 1989).

Existen dos problemas a resolver:

- Una población abundante compite por nutrientes con las plantas, un ejemplo de esto es la inmovilización del nitrógeno cuando se incorpora al suelo material vegetal con relación C/N alta. Esto indica que no se puede sobrepasar ciertos niveles de población y por consiguiente, de actividad microbiana (Gómez, 1996).
- La competencia con otros microorganismos y las propiedades físicas y químicas del suelo pueden afectar el potencial de *Azospirillum*, al ser inoculado en la planta hospedero (Arzanesh, *et al.*, 2010).

### **La rizósfera**

La rizósfera es una zona ecológica del suelo y ha sido utilizada por diferentes investigadores en el mundo para estudiar el comportamiento de microorganismos benéficos y patógenos para las plantas, también para las interacciones entre microorganismos- planta y microorganismos. En estos estudios se consideran tres regiones de estudio; la rizósfera, el rizoplano y el suelo a distancia. La rizósfera es el volumen de suelo adyacente al sistema de raíces de las plantas, es influenciado por los exudados de raíz y mide cinco milímetros (Raina, *et al.*, 2000; Kennedy, 2005) y en que él se desarrolla una población microbiana muy superior a la del resto del suelo (Fuentes, 2007). En la práctica cuando se muestrea en campo se colecta la raíz con suelo adherido a ella. El rizoplano es la raíz sin suelo adherido, en ella se establecen principalmente microorganismos que forma asociación simbiótica y mutualista con la planta. El suelo a distancia, es considerado al suelo sin influencia de raíces, puede ser más allá de los 5 mm de la raíz primaria, secundaria o terciaria.



**Figura 2.** Estructura de una raíz y la rizósfera correspondiente  
Fuente: adaptado, (Brimecombe, *et al.* 2001).

### Actividad de la Bacteria

La fijación del *Azospirillum sp.*, es microaerofílica, esta fue aislada de la raíz de varios cereales y forrajes de pasto en Nagano, Okinawa, Filipinas y Tailandia. Mayoría de las especies de *Azospirillum sp.* aislados mostraron ser del tipo *A. brasilense*, el cual no puede utilizar al carbón como única fuente de glucosa. Cuando se usaron estos inóculos aislados promovieron notablemente el desarrollo de las raíces y brotes de maíz. (El. *et al.* 2005).

### Distribución y Aislamiento

El género *Azospirillum* muestra distribución geográfica amplia alrededor del mundo, siendo más abundantes en las regiones tropicales, aunque también se encuentran en regiones templadas, frías y desérticas (Barassi *et al.* 2006).

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 el cultivo puro se logra en diferentes

medios de laboratorio, al que se le añade color rojo congo en este medio de cultivo *A. brasilense* y toma un color rojo escarlata que permite la diferenciación de otros géneros bacterianos.(Pereyra, *et al.* 2009).

### **Identificación**

El género *Azospirillum* pertenece a la subclase alfa siendo *A. lipoferum* la especie tipo. Existen diversas pruebas para el reconocimiento de las especies de *Azospirillum* entre ellas las bioquímicas y las inmunológicas. Algunas características útiles en la identificación rutinaria son la forma vibroide, el pleomorfismo y su movilidad en espiral (Paz, *et al.*2002).

### **Inoculación y respuesta agronómica**

Inicialmente *Azospirillum* fue probado para la explotación agronómica como resultado de su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico y su íntima asociación con raíces de cereales y pastos. (Cárdenas, *et al.* 2010).

Los biofertilizantes permiten poner al alcance de los agricultores, productos con alta efectividad, con los que se sustituye hasta el 50% del fertilizante nitrogenado industrial, en el caso de los fijadores asociativos, y hasta el 80% en el caso de los simbióticos, mientras que los organismos solubilizadores de fósforo, permiten sustituir hasta el 70% del fertilizante fosfórico. Además de los rendimientos en productos agrícolas comerciales se incrementan hasta el 30 % por el efecto de las sustancias activas sintetizadas por las bacterias fijadoras y asociativas (Pereyra, *et al.* 2010)

Si la bacteria produce sustancias como las auxinas, observa un decremento en la longitud de la raíz y un incremento en la formación de pelos radiculares (Bashan y de Bashan., 2010). Se demostró que la inoculación de *A. brasilense* en semillas tienen un efecto pronunciado sobre el desarrollo y la morfología de las raíces, a bajas concentraciones como  $10^6$  UFC ml<sup>-1</sup> es casi tan alta como

para inducir la elongación de la raíz y fuertemente inhibida a altas concentraciones celulares ( $10^{-9}$  UFC ml<sup>-1</sup>). También se ha observado en plantas inoculadas un aumento en la absorción de minerales y agua en plantas de trigo, maíz y sorgo en invernadero y campo (German, *et al.*, 2000).

Askary *et al.*, (2009) mencionan que la inoculación de la combinación de *Azospirillum brasilense* con *R meliloti* incrementan el rendimiento de grano de trigo hasta un 53 % y de un 22 % en el peso de la planta, además de un 29 % con la simple inoculación de *Azospirillum*, encontrando incrementos del 22.8 % en el contenido de nitrógeno en el grano de trigo y de 59.5 % en el contenido de fósforo y 34 % en el contenido de potasio, al ser comparados con el testigo.

Díaz *et al.*, (2003) indican que en el cultivo de lechuga, la aplicación de *Azospirillum brasilense* tiene una influencia positiva sobre este cultivo y que el mejor método de aplicación del biofertilizante es directamente al suelo en una dosis de 40 L ha<sup>-1</sup>.

El nivel de inoculación óptimo para semillas y plantas para muchos cereales, vegetales y plantas de cultivos comerciales, se ha observado que es alrededor de  $10^4$  y  $10^6$  UFC ml<sup>-1</sup>. Mientras que para el maíz es de  $10^7$  UFC ml<sup>-1</sup>. Una concentración del inóculo de  $10^7$  y  $10^{10}$  UFC ml<sup>-1</sup> generalmente inhibe el desarrollo radicular (Cárdenas *et al.* 2010).

Molina *et al.*, (2009) sugiere que la mezcla de diferentes cepas de *Azospirillum* también es una buena alternativa al inocular semillas de tomate cherry a una concentración de  $10^9$  UFC ml<sup>-1</sup>, ya que promueven la germinación y aumenta el contenido de materia seca en plántulas.

Terry (2005) al seleccionar el género microbiano predominante en las rizósfera, inoculó y evaluó el efecto en respuesta del cultivo, y reporta que los géneros *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus* y *Streptomyces*, forman parte

de la comunidad microbiana de la rizósfera del tomate, en las condiciones estudiadas, y que *Azospirillum* es el género dominante. La inoculación artificial de esta rizobacteria causó un efecto positivo sobre el crecimiento de las plántulas, así como en el estado nutricional de las plantas, con un rendimiento agrícola superior al 11 %.

Mia y colaboradores (2010) Mencionan que la inoculación en banana incrementa la fijación del contenido de nitrógeno, incrementando la producción y mejorando los atributos físicos y calidad de la fruta, además estimula la floración temprana.

Por su parte Askary y colaboradores (2009) obtienen que la inoculación simple con *Azospirillum* incrementan el rendimiento de trigo en grano en 53.8% comparado con el testigo y de 22.8 % de nitrógeno, de 59.5% en fósforo y de 34% de potasio.

Elein y colaboradores (2005) Reportan que la inoculación artificial de *Azospirillum* causó un efecto positivo sobre el crecimiento y estado nutricional de las plantas de tomate, con un rendimiento agrícola superior a un 11% con respecto a las plantas testigo. Se obtuvo un alto nivel poblacional en la rizósfera de las plantas inoculadas.

En otro trabajo y colaboradores Arzanesh (2010) encontraron que *Azospirillum* incrementa el rendimiento de avena y la tolerancia a factores de estrés.

Reyes *et al.*, (2008) encontraron que *Azospirillum* al ser inoculado a semillas de pimiento aumentó la germinación y el peso seco, además del contenido de nitrógeno. En maíz presentó una tendencia más selectiva que el pimiento en la germinación y se corroboró la promoción del crecimiento.

Kim *et al.*, (2010) reportan en un trabajo de investigación para verificar la eficiencia de *Azospirillum* que esta bacteria incrementa el crecimiento y la absorción de nutrientes en pimiento rojo, tomate y arroz bajo condiciones de invernadero, excepto para la longitud de raíz de pimiento rojo, tomate y arroz.

Di Barbaro *et al.*, (2005) obtienen como respuesta que *Azospirillum* inoculado a semillas de pimiento pimentonero cv. Trompa de elefante mostraron un mayor porcentaje sobre la germinación, emergencia y desarrollo de las plantas, considerando que la bacteria constituye una metodología económica para optimizar la germinación y producir una mejor respuesta en el desarrollo de las plantas.

## **Minerales**

### **Fósforo en plantas**

El fósforo debe ser mezclado con agua para que las plantas lo puedan absorber, El fósforo (P) se une al hidrógeno (H) y al oxígeno (O) para crear una solución para el suelo. Una vez que se forma la solución, las plantas la absorben por medio de los sistemas de raíces. Sus funciones no pueden ser ejecutadas por ningún otro nutriente y se requiere un adecuado suplemento de P para que la planta crezca y se reproduzca en forma óptima. El P se clasifica como un nutriente primario y los cultivos lo requieren en cantidades relativamente grandes. La concentración total de P en los cultivos varía de 0.1 a 0.5 %.(Bitterli *et al.* 2010).Por otro lado, Benton *et al* 1991, analizaron los minerales en hojas de tomate, los cuáles se presentan en el cuadro 1.

### **Absorción y transporte de fósforo**

El fósforo penetra en la planta a través de las capas externas de las células de los pelos radiculares y de la punta de la raíz. La absorción también se produce a través de las micorrizas, que son hongos que crecen en asociación con las raíces de muchos cultivos. El P es absorbido por la planta principalmente como ion fosfato primario ( $H_2PO_4$ ), pero también se absorbe como ion fosfato secundario ( $HPO_4$ ), Funciona como uno de los principales actores en la fotosíntesis, transportador de nutrientes y transmisor de energía. (Rubio, *et al.* 2007)

**Cuadro 1.** Niveles de elementos en tomate.

Elemento	Bajo	Medio	Alto
%			
N	2.50-3.99	4.0-6.0	>6.0
P	0.20-0.24	0.25-0.75	>0.75
K	1.05-2.89	2.9-5.0	5.0
Ca	0.80-0.99	1.0-3.0	3.0
Mg	0.25-0.39	0.4-0.6	0.6
S	0.25-0.39	0.4-1.2	1.2
Ppm			
B	20-24	25-60	>60
Cu	3-4	5.20	>20
Fe	30-39	40-200	>200
Mn	30-39	40-250	>250
Zn	10	2-50	>50

Fuente. Plants Análisis Handbook (Benton, j., et al (1991)

El fósforo también afecta a la estructura de la planta a nivel celular. Una planta con la cantidad correcta de este elemento va a crecer vigorosamente y madurará más temprano que las plantas que no lo tienen. La deficiencia se muestra cuando hay un crecimiento raquítico, faltan los frutos o las flores, muestran languidez y las hojas pueden ser más verdes o tener un color violeta debido a que el proceso de fotosíntesis está afectado. Cuando plantes, mezclando un fertilizante rico en fósforo con el suelo, le ayudará a la planta a establecer un sistema de raíces y tener una primera temporada de crecimiento fuerte. Se recomienda incluir arena en la mezcla para plantar, porque si la zona en la que lo vas a hacer no tiene buen drenaje, la arena se va a encargar de dárselo. (Pizzani ,*et al.* 2009).

### **Potasio en Plantas**

El potasio participa en la activación de un gran número de enzimas. La gran actividad enzimática del potasio está asociada al bajo radio iónico, que le

permite una gran movilidad en el paso a través de las membranas. Controla muchas funciones fisiológicas, como la turgencia de las plantas, formación de materia grasa, proteínas, clorofila, carbohidratos, respiración y regulación de la transpiración del agua, entre otras. Es importante además en la producción, eficiencia del uso y en el desplazamiento de los asimilados a los órganos de almacenamiento. (Sharma, 2013).

El K aumenta el área de la hoja y contenido de clorofila, retrasa su senectud y por eso contribuye a un crecimiento de la canopia por la mayor fotosíntesis del cultivo. (Winkler & Zotz 2010).

El requerimiento de potasio, expresado como  $K_2O$  varía entre 3 a 3,6 kilos, por cada 100 kilos de semilla, concentrándose la absorción de este nutriente entre termino de roseta a mediados de floración. Del total del potasio absorbido, un 15 % aproximadamente se acumula en la semilla, permaneciendo el resto en tallo, hojas y silicuas. (Wang ,*et al.* 2013).

Las plantas absorben el potasio en su forma iónica,  $K^+$ . En la fotosíntesis, el potasio regula la apertura y cierre de las estomas, y por lo tanto regula la absorción de  $CO_2$ . En las plantas, el potasio desencadena la activación de enzimas y es esencial para la producción de adenosina trifosfato (ATP). El ATP es una fuente de energía importante para muchos procesos químicos que tienen lugar en las células de la planta. (Pizzani, *et al.* 2009)

El potasio desempeña un rol importante en la regulación del agua en las plantas (osmo-regulación). Tanto la absorción de agua a través de raíces de las plantas y su pérdida a través de los estomas, se ven afectados por el potasio. El potasio también mejora la tolerancia de la planta al estrés hídrico.

La síntesis de proteínas y de almidón en las plantas requiere de potasio también. El potasio es esencial en casi todos los pasos de la síntesis de

proteínas. En la síntesis de almidón, la enzima responsable del proceso esta activada por el potasio.

Activación de enzimas – el potasio tiene un rol importante en la activación de muchas enzimas relacionadas con el crecimiento de la planta. (Winkler & Zotz 2010).

## **Selenio**

El selenio es un micronutriente para todas las formas de vida conocidas que se encuentra en el pan, los cereales, el pescado, las carnes, las lentejas, la cáscara de las patatas y los huevos. Está presente en el aminoácido selenocisteína y también se puede encontrar como selenometionina, reemplazando al azufre de la cisteína y la metionina respectivamente. Forma parte de las enzimas glutatión peroxidasa y tioredoxina reductasa.

Es antioxidante, ayuda a neutralizar los radicales libres, induce la apoptosis, estimula el sistema inmunológico e interviene en el funcionamiento de la glándula tiroides. Las investigaciones realizadas sugieren la existencia de una correlación entre el consumo de suplementos de selenio y la prevención del cáncer en humanos. Aún es tema de investigación, pero se sabe que la forma química en la que se encuentra el selenio (selenito, selenato o selenoaminoácidos) afecta a su absorción y a su posible toxicidad. Los datos actuales apuntan a que la forma orgánica (formando parte de proteínas como selenoaminoácidos) es la más beneficiosa para los animales. Además potencia el buen humor.

La deficiencia de selenio es relativamente rara, pero puede darse en pacientes con disfunciones intestinales severas o con nutrición exclusivamente parenteral, así como en poblaciones que dependan de alimentos cultivados en suelos pobres en selenio. La ingesta diaria recomendada para adultos es de 55-70 µg; más de 400 µg puede provocar efectos tóxicos (selenosis). (Van, *et al.* 2008).

El selenio ocurre naturalmente en el ambiente y puede ser liberado desde procesos tanto naturales como inducidos por la actividad humana para de allí incorporarse al suelo y agua (Fordyce, 2005; White, *et al.*, 2004).

Cuando el selenio se encuentra en forma de selenato +6 parece ser movilizado a las células vegetales a través de un proceso de transporte primario de tipo ABC acoplado a H<sup>+</sup>-ATPasas (Byrne *et al.* 2010). Posiblemente por medio de un 3 absorción de selenito +4 parece ocurrir por un mecanismo diferente a la del selenato (Terry *et al.* 2000), posiblemente a través de un transportador de fosfato (Zhao *et al.*, 2010). Una vez absorbido, el selenato tiende a detectarse en los tejidos radicales en forma inorgánica, mientras que el selenito parece formar rápidamente compuestos orgánicos (Cartes, 2006).

Las sustancias en el aire que contienen selenio son normalmente descompuestas en selenio y agua bastante deprisa, de forma que no son peligrosas para la salud de los organismos.

Los niveles de selenio en el suelo y agua aumentan, porque el selenio sedimenta del aire y el selenio de los residuos también tiende a acabar en los suelos de los vertederos.

Cuando el selenio en los suelos no reacciona con el oxígeno permanece bastante inmóvil. El selenio que es inmóvil y no se disuelve en el agua representa menor riesgo para los organismos. Los niveles de oxígeno en el aire y la acidez del suelo aumentarán las formas móviles del selenio. Las actividades humanas tales como los procesos industriales y agrícolas incrementan los niveles de oxígeno y la acidez de los suelos.

Cuando el selenio es más móvil, las probabilidades de exposición a sus componentes aumentarán considerablemente. La temperatura del suelo, la humedad, las concentraciones de selenio soluble en agua, la estación del año, el contenido en materia orgánica y la actividad microbiana determinarán la

rapidez con la que el selenio se mueve a través del suelo. En otras palabras, estos factores determinan su movilidad. (Ashworth & Shaw 2006)

La agricultura puede no solo incrementar el contenido de selenio en el suelo; también puede aumentar las concentraciones de selenio en las aguas superficiales, ya que las aguas de drenaje de irrigación portan selenio. (Kolachi, *et al.* 2010).

El comportamiento del selenio en el medio ambiente depende fuertemente de sus interacciones con otros componentes y de las condiciones medio ambientales en el lugar en concreto y a una hora concreta.(Ermakov & Jovanovic 2010).

Existe evidencia de que el selenio puede acumularse en los tejidos corporales de los organismos y puede ser transportada en la cadena alimenticia hacia niveles superiores. Normalmente esta biomagnificación de selenio comienza cuando los animales ingieren muchas plantas que han estado absorbiendo enormes cantidades de selenio, antes de la ingestión. Debido a la irrigación, las concentraciones de selenio en la escorrentía tienden a ser muy altas en organismos acuáticos en muchas zonas.

Cuando los animales absorben o acumulan concentraciones de selenio extremadamente grandes, puede causar fallo reproductivo y defectos de nacimiento. (Ashworth & Shaw 2006).

### **Selenio en el suelo**

Las concentraciones de selenio en el suelo de diferentes estados del altiplano del país hacia el sur son menores a 0.1 ppm, cantidad muy baja que se refleja en deficiencias en plantas y animales. En los suelos del altiplano, de origen volcánico, hay presencia de carbonatos y se clasifican como fluvisoles y regosoles calcáreos, etc. La deficiencia de selenio resulta común en suelos ácidos de tipo arenoso o calcáreo con declives y erosionados. (Ashworth & Shaw 2006).

El calcio (Ca), fósforo (P) y magnesio (Mg) son los principales elementos antagonistas en la absorción de diferentes elementos traza, entre ellos el selenio. Adicionalmente los suelos fuertemente fertilizados con superfosfatos y/o sulfatos se acidifican y los selenitos solubles forman complejos con sales de hierro; en esta forma no son disponibles para el animal. (Ermakov & Jovanovic 2010).

El contenido de Selenio es muy bajo con concentraciones menores de 0.2 p.p.m. El exceso se presenta generalmente bajo condiciones de clima árido, suelos derivados de rocas sedimentarias. Hay problemas de toxicidad de selenio en ciertas zonas de Argentina, Australia, Colombia, México y Sudáfrica, con altos niveles de toxicidad.(Malik, *et al.* 2012).

### **Selenio en las plantas**

La química del selenio (Se) tiene características en común con la del azufre. El selenio, como el azufre, puede existir en los estados de oxidación  $-2$  (seleniuro  $\text{Se}^{2-}$ ),  $0$ ,  $-6$  (selenita  $\text{SeO}_3$  10024) y  $+6$  (selenato  $\text{SeO}_4$  10026). A partir de ambos suelos y soluciones nutritivas las plantas toman el selenato en fuerte preferencia a la selenita. El sulfato y el selenato compiten por sitios de toma común en las raíces y, de esta forma, la toma de selenato puede ser fuertemente disminuida por el alto suministro de sulfato. Los suelos también contienen seleno-aminoácidos como la selenometionina que es rápidamente tomada por las plántulas de trigo.(Ashworth & Shaw 2006).

Las especies vegetales difieren mucho en la toma y acumulación de selenio en los vástagos y también en su capacidad para tolerar altas concentraciones de selenio en el medio radical ó en el tejido caulinar ó en ambos. En base a estas diferencias las plantas se han clasificado en acumuladoras de selenio y no acumuladoras, y aquellas entre las dos como indicadoras de selenio. Muchas especies de los géneros *Astragalus*, *Xilorrhiza* y *Stanleyea* son típicas acumuladoras de selenio, y son capaces de crecer en suelos con altos

contenidos de selenio (suelos seleníferos) sin ningún efecto perjudicial sobre el crecimiento y alcanzando contenidos caulinares de selenio tan altos como 20 – 30 mg g<sup>-1</sup> materia seca. Sin embargo, dentro del género *Astragalus* hay grandes diferencias entre especies y ecotipos en su capacidad para acumular selenio, siendo el contenido de selenio en tipos acumuladores 100-200 veces mayor que en tipos no acumuladores.(Ermakov & Jovanovic 2010).

Las grandes diferencias entre especies vegetales en la tolerancia tisular al selenio están causalmente relacionadas con las diferencias en la detoxificación del selenio. El sulfato y selenato (y selenita) tienen características en común no solo en la toma y asimilación sino también en que ellos compiten por varias enzimas en la vía de asimilación del azufre, por ejemplo, por la ATP sulfurilasa, que conduce a la formación de análogos con selenio de cisteína y metionina, es decir la selenocisteína y la selenometionina (Bitterli *et al.* 2010). En plantas no acumuladoras, los seleno-aminoácidos son incorporados a proteínas que son cualquiera no funcionales ó por lo menos mucho menos capaces de funcionar como proteínas enzimáticas que las correspondientes proteínas que contienen azufre. La incorporación de los seleno-aminoácidos es presumiblemente crítica particularmente en enzimas con un grupo sulfhidrilo (-SH) como su sitio catalítico. En especies no acumuladoras la estrategia de evasión, restricción en la toma de selenio, es por lo tanto un factor importante en la tolerancia a altos contenidos de selenio en el medio radical.(Chan & Caruso 2012).

También existen semejanzas entre el metabolismo del azufre y el selenio en la producción de compuestos volátiles liberados por las partes aéreas vegetales . El principal compuesto volátil seleniuro es la dimetilseleniuro del cual la selenometionina es el principal precursor. Las tasas de volatilización del selenio varían considerablemente entre especie de cultivo. Con un suministro de 10 µm selenato, el arroz, el brócoli y la col volatilizaron 200-350 µg Se m<sup>-2</sup> área foliar por día comparando con los menos de 15 µg Se m<sup>-2</sup> área foliar por día en remolacha azucarera, lechuga y cebolla.(Ha, 2012). En brócoli el cual acumula

hasta varios cientos de  $\mu\text{g Se g}^{-1}$  peso seco la tasa de liberación de compuestos de selenio es cerca de siete veces mayor a un bajo suministro de sulfato comparando con un alto suministro de sulfato debido a ambas a la inhibición en la toma de selenato y a la competencia dentro de la planta por los sitios de asimilación del azufre. Los sitios de asimilación del selenio dentro de las plantas, raíces ó vástagos, parecen diferir entre el suministro de selenita y selenato; con el suministro de selenita se asimila una proporción mucho mayor en las raíces, lo cual puede explicar por lo menos en parte la mayor fitotoxicidad de la selenita, a pesar de su menor tasa de toma comparada con la del selenato.(Longchamp *et al.* 2012).

### **Capacidad antioxidante y con qué enzimas trabaja**

El selenio mineral antioxidante importante para la acción de la enzima glutatión peroxidasa y de la vitamina E.

El suplemento de selenio con vitamina E es la base de selenio quelato; y la quelación es un proceso donde los minerales son enchufados a los aminoácidos, que promueven mayor absorción, asimilación y baja toxicidad en el organismo. La vitamina E actúa sinérgicamente con el selenio, aumentando su capacidad antioxidante. El selenio tiene importancia vital en el metabolismo humano, participando de varios procesos metabólicos donde la enzima glutatión peroxidasa con la acción sinérgica de la vitamina E, retarda el proceso del envejecimiento.(Kolachi *et al.* 2010). La actividad catalítica del selenio es reforzada en la presencia de la vitamina E, que es también indispensable en la reducción de los radicales libres. Su asociación es necesaria para las células en la prevención de su sufrimiento y de su degeneración. Por otro lado, el selenio posee un efecto de antídoto con respecto a los metales pesados tóxicos, como el mercurio, el plomo, el arsénico y lo cadmio.(Chan & Caruso 2012)

Estudio las condiciones que regulan las formas del Se en las fases sólidas del suelo. En función del pH y del potencial de Se en la solución y en las presentaciones en diferentes estados de oxidación +6, selenato ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ); +4, Selenito ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ); 0, selenio elemental; y posiblemente, -2 selenuro ( $\text{Se}^{2-}$ ). El Se elemental aportado al suelo es relativamente estable, aunque se oxida muy lentamente, tanto por procesos microbianos como no biológicos, con velocidades crecientes a medida que sube el pH. En suelos ácidos (pH 4,5 a 6,5) el Se se presenta predominantemente, en forma de selenio absorbido sobre los oxihidroxidos férricos.(Ermakov & Jovanovic 2010).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización del área experimental

El presente trabajo experimental se llevó a cabo en el invernadero 2 del área de invernaderos del departamento de producción de la UAAAN que se ubica al sur de la ciudad de Saltillo, Coahuila, en las coordenadas 101° 01'51.59'' de longitud Oeste y 25° 01'19.63'' de latitud Norte, con una altitud de 1780 m.s.n.m.

### Descripción del experimento

#### Materiales Y equipo

- Cinta métrica (2m.).
- Tijeras
- Toneles de 200 L.
- Vernier.
- Balanza analítica.
- Bosas de 1 kg de papel estraza.
- Autoclave a 180°.
- Agua destilada.
  
- **Material vegetal.**

Se utilizó semillas de Jitomate tipo Saladette (*Solanum Lycopersicum*) de crecimiento determinado variedad Rio Grande, sus condiciones de adaptación le permiten ser cultivada de manera rastrera y envarado. Frutos rojo intenso con excelente firmeza, Peso promedio de 110-130gr, al contar con paredes gruesas le permiten tener una larga vida de anaquel. Tolerante al F1-2 Bsp.

- **Material Biológico y Químico**

Se utilizó la bacteria *Azospirillum sp.* A 3 concentraciones  $10^4, 10^6$  y  $10^8$  ufc ml<sup>-1</sup>, y selenio en concentraciones 1, 5 y 10 ppm, utilizando selenito de sodio como fuente de selenio. Para la inoculación de plántulas de tomate Saladette (*Solanum Lycopersicum*), se utilizaron 2 testigos uno sin *Azospirillum* y otro sin selenio.

- **Sustrato**

El sustrato utilizado fue de un material llamado Peat moss mix (orgánico) en combinación de otro material llamado perlita A-13 saco 100 L, es de origen volcánica de partículas blancas de poco peso, Entre ellos se mezclaron y luego fueron sometidos en Vasos de Unicel de volumen de 1L

- **Solución nutritiva**

La solución nutritiva que se utilizó para este experimento fue Steiner (1961) la cual se considera los siguientes elementos y sus concentraciones: Nitrógeno (NO<sub>3</sub>)= 167 ppm, Fósforo= 31 ppm, Potasio= 277 ppm, Magnesio= 49 ppm, Calcio=183 ppm, Azufre= 67 ppm, Hierro= 3 ppm, Manganeso=1.97 ppm, Boro= 0.44 ppm, Zinc =0.11 ppm, Cobre =0.02 ppm, Molibdeno =0.007 ppm.

**Cuadro 2.** Componentes de la solución nutritiva de Steiner.

	PO <sub>4</sub> (meq . L <sup>-1</sup> )		K <sup>+</sup> (meq . L <sup>-1</sup> )	Ca <sup>2+</sup> (meq . L <sup>-1</sup> )	Mg <sup>2+</sup> (meq . L <sup>-1</sup> )	Concentración total
12	1	7	7	9	4	100%
6	0.5	3.5	3.5	4.5	2	50%
2.4	0.4	2.8	2.8	3.6	1.6	40%

### Descripción de los tratamientos

En el **Cuadro 3**, Se describen los tratamientos que se aplicaron en el experimento del cultivo de tomate saladette (*Solanum Esculentum*), variedad Rio Grande.

**Cuadro 3.** Tratamientos establecidos en invernadero en el cultivo de tomate con la inoculación de *Azospirillum* y selenio en plántulas de tomate saladette variedad Rio Grande

Trats	Selenio (ppm)	<i>Azospirillum</i> (ufc ml <sup>-1</sup> )
1	0	0
2	0	10 <sup>4</sup>
3	0	10 <sup>6</sup>
4	0	10 <sup>8</sup>
5	1	10 <sup>0</sup>
6	1	10 <sup>4</sup>
7	1	10 <sup>6</sup>
8	1	10 <sup>8</sup>
9	5	10 <sup>0</sup>
10	5	10 <sup>4</sup>
11	5	10 <sup>6</sup>
12	5	10 <sup>8</sup>
13	10	10 <sup>0</sup>
14	10	10 <sup>4</sup>
15	10	10 <sup>6</sup>
16	10	10 <sup>8</sup>

Trats = tratamientos

## **Variables evaluadas**

**Fósforo.** Se determinó mediante el método de colorimetría, con digestiones de la materia seca de la planta.

**Potasio.** Se realizó con el espectrofotómetro METERTEK SP-830 para medir la intensidad de colores por medio de filtros y longitudes de onda, de las muestras de la digestión de material vegetal.

**Selenio.** Primero se hace la digestión de la planta en ácido nítrico y posteriormente se determinó la concentración del mineral en las instalaciones del CIQA con el THERMO JARRELL ASH IRIS ADVANTAGE INDUCT.

## **Diseño experimental**

El experimento se realizó bajo un diseño experimental factorial A x B, donde A es la concentración de selenio y B la concentración de *Azospirillum*,

Muchos experimentos requieren el estudio de los efectos de 2 ó más factores. En general, los experimentos factoriales son los más eficientes para este tipo de análisis. En un experimento factorial se miden en cada etapa completa o réplica del experimento, todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores.

Cuando los factores son arreglados en un experimento factorial, se dice frecuentemente que son cruzados. El efecto de un factor se define como el cambio en la respuesta producido por un cambio en el nivel del factor. Esto frecuentemente se llama un efecto principal por que se refiere a los factores primarios de interés en el experimento.

## **Modelo estadístico**

$$y_{ijk} = \mu + \beta_k + \tau_{ij} + e_{ijk}, i = 0,1, i = 0,1; k = 1,2, \dots, \gamma$$

Donde  $\mu$  es un efecto general,  $\beta_k$  el efecto del bloque  $k$ ,  $\tau_{ij}$  el efecto del tratamiento  $n$   $i$   $j$   $e$   $i$   $j$   $k$  el elemento de error con las propiedades usuales (media cero, varianza constante y no correlación con otros términos de error,) y  $y_{ijk}$  la característica observada.

### **Análisis de datos**

Los datos obtenidos fueron analizados bajo un diseño de factorización Ax B completamente al azar, realizando el análisis de varianza (ANVA) y separados con la prueba múltiple de medias Tukey ( $P > 0.05$ ) utilizando el paquete estadístico Statistica.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En relación al análisis de varianza de los minerales realizado en plántulas de tomate se encontró diferencia entre las dosis de selenio (cuadro 1 A), no así con la aplicación de *Azospirillum* e interacción entre ambos y al comparar los resultados de fósforo del cuadro 4, se observa que estadísticamente es igual en las tres concentraciones de selenio y disminuye cuando no se aplica, en el mismo cuadro se observa para el potasio que el testigo sin selenio y con 1 ppm se encuentra la mayor cantidad del elemento y se disminuye el contenido con 5 y 10 ppm del selenio y al evaluar el contenido de selenio se observa que la mayor concentración del mineral se presenta en follaje de tomate al aplicar 10 ppm indicando con esto que se absorbió el 30% por la planta.

**CUADRO 4.** Prueba de comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) de Minerales con tres dosis de selenio aplicado a plantas de Tomate var. Río Grande, en invernadero, 2013.

Selenio	Fósforo	Potasio	Selenio
Media			
<b>0 ppm</b>	1660.5 ± 580.05 b	438.33 ± 90.84 a	0.70 ± 1.42 b
<b>1 ppm</b>	2002.80 ± 404.28 ab	413.33 ± 225.52 ab	0.62 ± 0.30 b
<b>5 ppm</b>	1999.5 ± 450.40 ab	266.67 ± 106.30 b	1.25 ± 0.50 b
<b>10 pmm</b>	2363.01 ± 305.23 a	313.33 ± 95.50 b	3.00 ± 1.05 a

*Literales con la misma letra son estadísticamente iguales.*

El análisis de varianza (cuadro 2A) para las concentraciones de *Azospirillum* indicó que no existe diferencia entre ellas para el contenido de potasio en hojas de tomate.

La prueba de comparación de medias de Tukey del cuadro 4 muestra que no existe diferencia entre las concentraciones de *Azospirillum* sobre el contenido de fósforo en plántulas de tomate, sin embargo en la concentración de  $10^4$  UFC  $ml^{-1}$  se encuentra el mayor contenido para el potasio y selenio tampoco existe diferencia.

**Cuadro 5.** Prueba de comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) de minerales con tres dosis de *Azospirillum* aplicado a plántulas de tomate var. Río Grande, en invernadero, 2013.

<b><i>Azospirillum</i></b> <b>UFC <math>ml^{-1}</math></b>	<b>Fósforo</b>	<b>Potasio</b> <b>Ppm</b>	<b>Selenio</b>
<b>0</b>	1809.727 ± 520.8489 a	356.6667 ± 202.3199 a	1.144800 ± 1.199497 a
<b><math>10^4</math></b>	2091.853 ± 610.1595 a	431.6667 ± 159.1930 a	1.206650 ± 1.390895 a
<b><math>10^6</math></b>	2064.917 ± 430.9321 a	323.3333 ± 124.1212 a	1.285317 ± 1.302394 a
<b><math>10^8</math></b>	2059.225 ± 423.1343 a	320.0000 ± 103.3969 a	1.920950 ± 1.403237 a

*Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales*

En relación al análisis de varianza de los minerales realizado en plántulas de tomate se encontró diferencia entre las dosis de selenio (cuadro 3 A), no así con la aplicación de *Azospirillum* e interacción entre ambos. Por otro lado, en el **cuadro 6** se presentan los resultados de la prueba de comparación de medias de la interacción entre las concentraciones de selenio y de *Azospirillum* y para el contenido de fósforo se observa que al incrementar el contenido de selenio también lo hace el fósforo en el follaje, además que la concentración de  $10^4$  UFC  $ml^{-1}$  incrementa el contenido de fósforo cuando no se aplica selenio y disminuye con  $10^6$  y  $10^8$  UFC  $ml^{-1}$ , sin embargo cuando se aplicó 1 ppm de selenio y  $10^6$  UFC  $ml^{-1}$  de *Azospirillum* comparado con la aplicación de selenio en plántulas de tomate se produce la mejor combinación. En el mismo cuadro

**Cuadro 6.** Prueba de comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) de minerales en la interacción de concentración de selenio y *Azospirillum* aplicados a plántulas de tomate var. Río Grande, en invernadero, 2013.

selenio	Azospirillum ufc ml <sup>-1</sup>	fosforo	Potasio Ppm	selenio
0	0	1383.44 ± 493.56 a	420.00 ± 420.00 a	0.01 ± 0.01 b
0	104	2034.90 ± 871.02 a	526.67 ± 526.67 a	0.01 ± 0.02 b
0	106	1853.87 ± 250.50 a	413.33 ± 413.33 a	0.01 ± 0.01 ab
0	108	1533.47 ± 526.42 a	393.33 ± 393.33 a	2.74 ± 1.63 a
1	0	2092.17 ± 514.57 a	546.67 ± 546.67 a	0.40 ± 0.01 b
1	104	2103.60 ± 207.81 a	500.00 ± 500.00 a	0.60 ± 0.10 b
1	106	2281.93 ± 40.03 a	233.33 ± 233.33 a	0.50 ± 0.00 ab
1	108	1955.30 ± 338.92 a	373.33 ± 373.33 a	1.00 ± 0.44 a
5	0	2398.70 ± 186.16 a	206.67 ± 206.67 a	1.21 ± 0.26 b
5	104	1864.30 ± 199.80 a	260.00 ± 260.00 a	1.00 ± 0.82 ab
5	106	1779.50 ± 786.40 a	326.67 ± 326.67 a	1.44 ± 0.01 a
5	108	2366.70 ± 284.12 a	273.33 ± 273.33 a	1.41 ± 0.43 a
10	0	2506.87 ± 254.64 a	253.33 ± 253.33 a	3.00 ± 0.15 a
10	104	2256.87 ± 154.73 a	440.00 ± 440.00 a	3.30 ± 0.81 a
10	106	2321.60 ± 468.36 a	320.00 ± 320.00 a	3.20 ± 0.70 a
10	108	1369.68 ± 392.10 a	240.00 ± 240.00 a	2.55 ± 2.12 a

*Tratamientos con la misma letra en la columna son estadísticamente iguales.*

Se observa que para el potasio la mejor concentración se obtuvo con 1 ppm de Selenio y  $10^4$  UFC ml<sup>-1</sup> de *Azospirillum*. En el mismo cuadro se observa que con una ppm de Selenio aplicada a las plántulas de tomate se absorbe el 100% y cuando se aplican 5 ppm de Se combinado con  $10^6$  UFC ml<sup>-1</sup> de *Azospirillum* y con 10 ppm de selenio y  $10^4$  UFC ml<sup>-1</sup> la planta absorbe el 28.8 % y 33 % respectivamente.

## Discusión

En este estudio se encontró que el tratamiento con diferentes concentraciones de selenio y *Azospirillum* en plántulas de tomate tienen efectos importantes en la fisiología de las plántulas de tomate, en el caso de *Azospirillum* se encontró que mejora las variables de respuesta en estudio. El selenio por lo contrario se observó que las concentraciones altas de 10 ppm afecta en la absorción de este, fósforo y potasio, también que afecta en la población de la bacteria en las concentraciones establecidas poniendo todas en un mismo nivel sin diferencias significativas. Encontrando así la concentración de 0.25 ppm de Se y  $5.10^{+06}$  ufc/ml de la cepa C-5 de *Azospirillum sp.*, que afecta de manera positiva la calidad fisiológica de las plántulas de tomate (Vázquez, 2013).

Villar (2005), en un experimento con plantas de *Brassica juncea* L., encontró que las bacterias facilitaron el 35% volatilización de selenio y 70% de acumulación de selenio en planta, mostrando así que la presencia de bacterias en la rizósfera de *Brassica juncea* L., era necesaria para lograr las mejores tasas de acumulación de selenio en plantas. La inoculación de la rizósfera de plantas con bacterias produjeron una concentración 5 veces mayor de selenio en raíces que en plantas que no fueron inoculadas. Además las plantas inoculadas tenían un aumento en área superficial de raíz.

A pesar de que se tiene conocimiento de que las bacterias participan de forma natural en el ciclo del selenio, algunos estudios se han enfocado a la fitorremediación de suelos con selenobacterias (bacterias tolerantes a altas concentraciones de Se, (Acuña, *et al.*, 2012).

Es bien sabido que muchos microorganismos pueden reducir los oxianiones solubles de selenio altamente tóxicos (selenato y selenito) a una forma insoluble mucho menos tóxico, es decir, el selenio elemental. Pereyra *et al* (2010), desarrollaron un sistema de tratamiento utilizando las bacterias *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis* para mitigar flujos de residuos contaminados con selenio como modelos de bacterias Gram (-) y (+) del suelo, respectivamente. Además, encontraron que el selenio elemental se deposita en forma de

gránulos en toda la célula, o entre la pared celular y la membrana plasmática en *P. fluorescens* y *B. subtilis*, respectivamente. En *B. subtilis* se induce la síntesis de tiorredoxina en presencia de selenito.

La inoculación de *Azospirillum* y selenio aplicados como tratamientos a semillas de tomate, tienen efecto directo sobre la fisiología de las plántulas, por lo que se pudo observar de acuerdo a los resultados obtenidos, se puede mencionar que la respuesta de las plantas a estos factores va a depender de la especie en estudio, en el caso del tomate se requieren concentraciones generalmente bajas de selenio para que las respuestas sean favorables, ya que a altas concentraciones inducen mayor número de plantas anormales, observándose el efecto directo en las radículas de plántulas. (Vázquez, 2013).

Por último, cabe mencionar que se pudo encontrar el punto óptimo de selenio y *Azospirillum* los cuales producen las mayores respuestas para las variables porcentaje de germinación, plántulas anormales, IVE, LMH y LMR, para esta especie de plantas en estudio. (Vázquez, 2013).

La respuesta de la inoculación de *Azospirillum* y selenio aplicados como tratamientos a semillas de tomate de las plantas a estos factores va a depender de la especie en estudio, en el caso del tomate se requieren concentraciones generalmente bajas de selenio para que las respuestas sean favorables, ya que a altas concentraciones inducen mayor número de plantas anormales, observándose el efecto directo en las radículas de las plantas. En el caso de la producción de plántulas en invernadero también se requieren concentraciones bajas de selenio y *Azospirillum* también se ve que tiene efecto sobre estas. (Vázquez, 2013).

## CONCLUSIONES

En plantas de tomate saladette var. Río Grande se concluye que:

Con la aplicación de 1 ppm de Se se encuentra la mayor cantidad de fósforo

Con la aplicación de 1 ppm de Se y  $10^6$  UFC ml<sup>-1</sup> se incrementa el contenido de fósforo, el potasio con 1 ppm de Selenio y  $10^4$  UFC ml<sup>-1</sup> de *Azospirillum*. Para el selenio con la menor concentración aplicada se absorbe en su totalidad y disminuye con 5 y 10 ppm.

## LITERATURA CITADA

- Alexandre G, S Greer, L Zhulin. 2000.** Energy taxis is the dominant behavior in *Azospirillum brasilense*. J. Bacteriol. 182(21): 6042-6048.
- Ammoaghaie R, A Mostajeran, G Emitiazi. 2002.** The effect of compatible *Azospirillum brasilense* strains on proton efflux of intact wheat roots-*Azospirillum* and proton efflux of wheat root. Plant soil. 243: 155-160.
- Arkhipova T, S Veselov, A Melentiev, E Martynenko, G Kudoyarova. 2005.** Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. Plant and soil. 272: 201-209.
- Arzanesh M, H Alikhani, K Khavazi, H Rahimian, M M iransari. 2010.** Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum* sp. Under drought stress. Springer. World Journal Microbiol Biotechnol. 1-9.
- Ascary M, A Mostajeran, R Amooaghaei, M Mostajeran. 2009.** Influence of the Co-inoculation *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium meliloti* plus 2, 4 D on Grain Yield and N, P, K content of *Triticum aestivum*(Cv. Baccros and Mahdavi). American Eurasian. Journal. Agriculture. & Environment. Science., 5(3): 296-307.
- Ashworth, D.J. & Shaw, G., 2006.** Soil migration, plant uptake and volatilisation of radio-selenium from a contaminated water table. *The Science of the total environment*, 370(2-3), pp.506–14. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16887170> .
- Bare J, M Pozo, R Azcon, A Aguilar, 2005.** Microbial co-operation in the rizosphere. Journal of experimental Botany 56(417): 1761-1778.
- Bashan Y, L de –Bashan 2010.** How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth- a critical assessment. Adv Agronomy 108:77–136
- Bashan Y, L Bashan. 2002.** Protection of tomato seedings against infection by pseudomonas *syringae* pv tomato by using the plant growth promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. Applied and Environmental Microbiology. 68 (6): 2637-2643.
- Bashan Y, L de Bashan (2005).** Bacteria / Plant growth – promotion. En Hillel D (Ed). Encyclopedia of soils in the environment. Vol. 1. Elsevier. Oxford. RU. Pp. 103-115.

- Bothe H, H Körsgen, T Lehmaher, B Hundeshagen. 1992.** Differential effects of *Azospirillum*, auxin and combined nitrogen on the growth of the roots of wheat. *Symbiosis*. 13: 167- 179.
- Brand, D.R. David, and A. Sztejnberg. 2007.** Effect of colored shade nets on pepper powdery mildew (*Leveillula taurica*). *Phytoparasitica* 35:285–299.
- Barassi, C. a. et al., 2006.** Seed inoculation with *Azospirillum* mitigates NaCl effects on lettuce. *Scientia Horticulturae*, 109(1), pp.8–14. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423806001130>.
- Bitterli, C., Bañuelos, G.S. & Schulin, R., 2010.** Use of transfer factors to characterize uptake of selenium by plants. *Journal of Geochemical Exploration*, 107(2), pp.206–216. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037567421000141X>.
- Caballero J, J Onofre, A Wong, R Castro, P Estrada, J Rodriguez, R Suarez, Iturriaga G, L Martinez. 2010.** Uso de *Azospirillum* en México como Biofertilizante y potencial de nuevas especies bacterianas como biofertilizantes, agentes de biorremediación y biocontrol de fitopatógenos. XIII Congreso Nacional de biotecnología y Bioingeniería. P. 235.
- Cárdenas, D.M., Garrido, M.F. & Bonilla, R.R., 2010.** Pasto guinea ( *Panicum maximum* Jacq .) del Valle del Cesar Isolation and identification of *Azospirillum* sp . in Guinea grass ( *Panicum maximum* Jacq .) of the Valle del Cesar.
- Carrillo A, C Li, Y Bashan. 2002.** Increased acidification in the rhizosphere of cactus seedlings induced by *Azospirillum brasilense*. *Naturwissenschaften*. 89: 428-432.
- Cassán F, D Perrig, V Sgroy, O Masciarelli, C Penna, V Luna. (2009 a).** *Azospirillum brasilense* Az 39 and *Bradyrhizobium japonicum* E 109. Inoculated singly or in combination promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soy bean (*Glycine max* L.). *European Journal of Soil Biology*. 45. pp. 28-35.
- Cassán F, S Maiale, O Masciarelli, A Vidale, V Luna, O Ruiz. (2009 b).** Cadaverine production by *Azospirillum brasilense* and its possible role in plant growth promotion and osmotic stress mitigation. *European Journal of Soil Biology*. 45: 12-19.
- Castellanos T, F Ascencio, Y Bashan. 2000.** Starvation-induced changes in the cell surface of *Azospirillum lipoferum*. *FEMS. Microbiol. Ecol.* 33, 1-9.

- Chan, Q. & Caruso, J. a, 2012.** A metallomics approach discovers selenium-containing proteins in selenium-enriched soybean. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 403(5), pp.1311–21. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22456899>.
- Cheeseman J, Lovelock C. 2004.** Photosynthetic characteristics of dwarf and fringe *Rhizophora* angle in a Belizean mangrove. *Plant Cell & Environment* 27: 768–780.
- Cohen A, R Bottini, P Piccoli (2008).** *Azospirillum brasilense* sp 245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in *Arabidopsis* plants. *Plant Growth Regulated*. 54: 97-103.
- Creus C, M Graciano, E Cassanovas, M Pereyra, M Simmontachi, S Puntarulu, C Barassi, L Lamattina. (2005).** Nitric oxide is involved in *Azospirillum brasilense*-induced lateral root formation in tomato, *Planta*. 221: 297-303.
- Creus C, R Sueldo, C Barassi. 2004.** Water reation and yield in *Azospirillum* inoculated wheat exposed to drought in the field. *Candian Journal of Botany*. 82: 273-281.
- Di Barbaro G, S Pernasetti, A Stegmayer (2005).** Evaluación del efecto de *Azospirillum brasilensis* en la germinación y emergencia del pimentonero (*Capsicum annum* L. Var. Trompa de elefante). *Cizas*. 6:75-85.
- Díaz C, E González, J Alvarez, M Silva. 2003.** Estudio preliminar de diferentes técnicas de aplicación de un biofertilizante a base de *Azospirillum* sp. En el cultivo de la lechuga. (*Lactuca sativa* L.) Centro Agrícola. Jardín Botánico de Villa Clara. 30: 18-22.
- Dobbelaere S , A Croonenborghs, Thys D, Ptacek D, Labandera C , Caballero J , Aguirre J, Burdman S, Sang S, Okon J (2001).** Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. *Aust. Journal. plant physiology*. 28 (9):871-879
- Ecker B, O Baller, G Kirchhof, A Halbritter, M Stoffels, A Hartman. 2001.** *Azospirillum doebereineriae* spp. Nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4- grass *Miscanthus*. *Internat. J. Sistem. Evolut. Microbiol.* 51, 17-26.
- Eckert B, O Baller, G Kirchhof, A Halbritter, M Stoffels, A Hartman. 2001.** *Azospirillum doebereineriae*spp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4 – grass *Miscanthus*. *Internat. J. Sistem. Evolut. Microbiol.*51, 17-26.

- EFSA. 2008.** European Food Safety Authority. Factors influencing the concentration of nitrate in plants. *The EFSA Journal*, 689: 1-79.
- EI, E.N. et al., 2005.** Estudio de la interacción planta- *Azospirillum*. , 26(4), pp.13–19.
- Elein T, A Leyva, A Hernandez. 2005:** Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). *Revista Colombiana de Biotecnología*, Vol. 7: (2). 47-54.
- Emery T. 1982.** Iron metabolism in human and plants. *Am. Sci.* 70:626-632.
- Ermakov, V. & Jovanovic, L., 2010.** Characteristics of selenium migration in soil–plant system of East Meshchera and Transbaikalia. *Journal of Geochemical Exploration*, 107(2), pp.200–205. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0375674210001123> [Accessed February 4, 2014].
- Favela E, P Preciado, A Benavides. 2006.** Manual para la preparación de soluciones nutritivas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. p 10-12.
- Fernandes A, H Martinez, P Pereira, M Fonseca. 2002.** Productividad e acumulo de nitrato e estado nutricional de cultivares de alface, em hidroponía, em função de fontes de nutrientes. *Horticultura Brasileira*. Brasilia. 20 (2): 195- 200.
- Financiera Rural (2008).** Dirección General Adjunta de Fomento y Promoción de Negocios.
- Fisher S E, S I fisher, S Magris, G Mori (2007).** Isolation and Characterization of bacteria from the rizosphere of wheat. *World Journal Microbiology Biotechnology*. 23: 895-903.
- Fontanetto H, O Keller, S Gambaudo, N Sosa, L Belotti, C Negro, D Giailevra, J Albrencht, H Boshchetto. 2010.** Efecto de un promotor Biológico del crecimiento vegetal y de la fertilización en trigo. Información técnica del trigo y otros cultivos de invierno. Campaña. Publicación Miscelanea. 116: 50-56.
- Gardner, R.C. (2003).** Genes for magnesium transport. *Curr. Opin. Plant Biology*. 6, 263–267.

- Garrido M, D Cárdenas, R Bonilla, L Vera. 2010.** Effect of the edaphoclimatic factors and pasture species on the diversity of diazotrophic bacteria. *Pastos y Forrajes*. 33: (4) 122-129.
- Gazula, A.; Kleinhenz, M.D.; Schheerens, J.C.; Ling, P.P. & Streeter, J.G. 2004.** Temperature and genotype affect anthocyanin concentrations in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Horticulture Science* 39 (4): 864.
- Generales, A., 2009.** Fracciones orgánicas e inorgánicas del fósforo en suelos calcáreos de Villa Clara. , 36(3), pp.29–33.
- German M, S Burdman, Y Okon. 2000.** Effects of *Azospirillum brasilense* on root morphology of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different water regimes *Biology. Fertiles . Soil.* 32, 259-264.
- Gómez M. 2004.** Fertilización foliar. La tecnología agrícola del siglo 21. *Nutrición vegetal*. P. 80.
- Grotewold E. 2006.** The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annual Review of Plant Biology* 57:61–80.
- Ha, A., 2012.** Impact of Selenium Supplementation on Growth and Selenium Accumulation on Spinach { *Spinacta olerácea* L .) *Plants*. , 4(October), pp.95–100.
- Han H, K Lee. 2005.** Plant Growth Promoting Rhizobacteria Effect on Antioxidant Status, Photosynthesis, Mineral Uptake and Growth of Lettuce under Soil Salinity. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 1(3):210-215.
- Hernández F (2008).** Efecto de cepas de *Azospirillum sp.* En la productividad del pimiento morrón (*capsicum annum* L.). Tesis de Maestría Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila.
- Hoque M, H Ajwa, B Mou. 2004.** Nitrogen, phosphorus, and potassium fertilization effects on nutritional composition of lettuce. *HortScience* 39(4):872.
- Van Hoewyk, D., Pilon, M. & Pilon-Smits, E. a. H., 2008.** The functions of NifS-like proteins in plant sulfur and selenium metabolism. *Plant Science*, 174(2), pp.117–123. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168945207002865> [Accessed February 4, 2014].

- Kadouri D., Jurkevitch E., Okon Y. 2003.** Poly  $\beta$ -hydroxybutyrate depolymerase (PhaZ) in *Azospirillum brasilense* and characterization of a phaZ mutant. Arch. Microbiol. 180, 309-318.
- Katupitiya S, J Millet, M Vesk, L Viccars, A Zeman, Z Lidong, C Elmerich, L Kennedy . 1995.** A mutant of *Azospirillum brasilense* Sp7 impaired in flocculation with a modified colonization pattern and superior nitrogen fixation in association with wheat. Appl. Environ. Microbiol. 61(5): 1987-1995.
- Katzy E, L Borisov , A Scheludko. 2001.** Effect of the integration of vector pJFF350 into plasmid 85-Mda of *Azospirillum brasilense* Sp245 on bacterial flagellation and motility. Russ. J. Genet. 37 (2): 183-189.
- Kim K, H Deka, C Woo, C Shagol, M Tong. 2010,** Isolation and evaluation of inoculation effect of *Azospirillum* sp. On growth, colonization and nutrient uptake of crops under green house condition. 19<sup>th</sup> World congress of soil science, Soil solutions for changing world. Brisbane, Australia.
- Kolachi, N.F. et al., 2010.** Determination of selenium content in aqueous extract of medicinal plants used as herbal supplement for cancer patients. Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association, 48(12), pp.3327–32. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20819722> [Accessed January 28, 2014].
- Koriyama, C. et al., 2008.** Toenail selenium levels and gastric cancer risk in Cali, Colombia. The Journal of toxicological sciences, 33(2), pp.227–35. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18544914>.
- Longchamp, M., Angeli, N. & Castrec-Rouelle, M., 2012.** Selenium uptake in Zea mays supplied with selenate or selenite under hydroponic conditions. Plant and Soil, 362(1-2), pp.107–117. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11104-012-1259-7> [Accessed April 3, 2014].
- Malik, J. a. et al., 2012.** Selenium antagonises the toxic effects of arsenic on mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) plants by restricting its uptake and enhancing the antioxidative and detoxification mechanisms. Environmental and Experimental Botany, 77, pp.242–248. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S009884721100308X> [Accessed January 23, 2014].
- Masson, P., Orignac, D. & Prunet, T., 2005.** Optimization of selenium determination in plant samples by hydride generation and axial view inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. Analytica Chimica Acta, 545(1), pp.79–84. Available at:

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267005007208> [Accessed February 4, 2014]

- Mendoza H, M Cruz, C Hernández (2004).** Aislamiento, producción, selección y evaluación de un inoculante basado en cepas nativas de *Azospirillum* en el norte de Tamaulipas. In memoria Simposio de Biofertilización. A Diaz, N ,Mayek P, A Mendoza H, N Maldonado M (eds) Rio Bravo, Tamaulipas. México pp: 87-101.
- Mendoza R, F Martínez, V Rodríguez, A Benavidez (2009).** Biofertilización con *Azospirillum* en trigo. En: Artículos en extenso. Avances en la ciencia del suelo. XXXIV Congreso Nacional de la ciencia del suelo. Edición de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del suelo, A.C. (2009). P. 16-614.
- Mendoza V, V Zamora, C Cabello, G Martínez, De Alba K. 2006.** Efecto de biofertilización con *Azospirillum sp.* En trigo (*Triticum durum* y *aestivum*) sobre Rendimiento en Invernadero. Libro científico anual, agricultura, ganadería y ciencia forestal en la UAAAN, Saltillo, Coahuila, México.
- Murty M, J Ladha. 1998.** Influence of *Azospirillum inoculation* on thye mineral uptake and growth of rice under hydroponic conditions. Plant. Soil. 108: 218-285.
- Oren M, E Gussakovsky, E Espiegel, A Nissim, K Ratner, R Ovadia, Y Guiller, Y Shahak. 2001.** Coloured shade nets can improve the yield and quality of Green decorative branches of *Pittosporum variegatum*. Journal Horticulture Science. Biotechnology. 76: 353-361.
- Pereg L, K Gilchrist, L Kennedy. 2000.** Mutants with enhanced nitrogenase activity in hydroponic *Azospirillum brasilense*- wheat associations. Appl. Environ. Microbiol. 66(5): 2175-2184.
- Pereyra M, C Zalazar, C Barassi (2006).** Root phospholipids in *Azospirillum* – inoculated wheat seedling exposed to water stress. Plant Physiology Biochemical. 44:873-879.
- Pereyra M, F Ballesteros, C Creus, R Sueldo, C Barassi (2009).** Seedlings growth promotion by *Azospirillum brasilense* under normal and drought condition remains unaltered in Tebuconazole-treated wheat sees. Europe Journal Soil Biology. 45: 20-27.
- Pereyra, C.M. et al., 2010.** Changes in cucumber hypocotyl cell wall dynamics caused by *Azospirillum brasilense* inoculation. Plant physiology and biochemistry: PPB / Société française de physiologie végétale, 48(1), pp.62–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19875302> [Accessed March 26, 2014].

- Pérez, Y.M., 2012.** INOCULACIÓN DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES ( HMA ) POR DOS VÍAS DIFERENTES EN EL CULTIVO DEL TOMATE ( *Solanum lycopersicum* L .) Arbuscular mycorrhizal fungi ( AMF ) inoculation by two different ways in tomato ( *Solanum lycopersicum* L .) crop. , 33(4), pp.71–76.
- Pizzani, P. et al., 2009.** Fósforo total , fósforo fítico y actividad fitásica en los frutos de árboles forrajeros de los Llanos Centrales de Venezuela Total phosphorus , phytic phosphorus and phytase activity in the fruits of forage trees from the Central Plains , Venezuela. , 32(2), pp.165–174.
- Russo A, L Vettori. C Felici, G Fiashi, S Morini, A Toffanin (2008).** Enhanced micropropagation response and biocontrol effect of *Azospirillum brasilense* sp 245 on *Prunus cerasifera* L. clone mr. s 2/5 plants. Journal Biotechnology 134: 312-319.
- Skary M, A Monstajeran, R Amooghaei y M Monstajeran (2009).** Influence of the Co-Inoculation *Azospirillum brasilense* and *rhizobium melioli* plus 2,4 D, on grain yield and N, P, K, content of *triticum aestivum* (cv. Baccross and Mahdavi). American-Euroasian J. Agric and Environ. Sci., 5(3): 296-307..
- Spaepen S, S Dobbelaere, A Croonenborghs, J Vanderleyden (2008).** Effects of the *Azospirillum brasilense* Indole-3-acetic acid production on inoculated wheat plants. Plant Soil. 312: 1-23.
- Stephens J, H Rask. 2000.** Inoculant production and formulation. Field Crops Res. 65, 249-258.
- Tarrand J, N Krieg, J Döbereiner. 1978.** A taxonomic study of the Spirillum lipoferum group with description of new genus *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. Nov. and *Azospirillum brasilense* sp. Nov. Canadian Journal of Microbiology. 24: 967-980.
- Vessey K. 2003.** Plant growth promoting rizobacterias as biofertilizers. Plant and soil. 255: 571- 586.
- Villar J, M Viñals, X Álvarez, M Dorta. 2005.** Tecnología de producción de inoculantes de *Azospirillum* y Factibilidad Económica de su Aplicación Agrícola en Cultivos Seleccionados. Cultivos Tropicales. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) La Habana, Cuba. 26:(3) 23-26.
- Villegas J, E Rueda, A Murillo, M Puente, O Grimaldo, S Avilés, J Ponce.** Efecto en la inoculación de *Azospirillum halopraeferens* y *Bacillus*

*amyloliquefaciens* en la germinación de *prosopis chilensis*. 2010. Tropical and subtropical Agroecosystems. 12 (1): 19-32.

**Viñals M, Villar 1999.** Avances en la formulación y aplicación de inoculantes bacterianos de uso agrícola. Cultivos Tropicales. 20 (4): 9-17.

**Wu S, Z Cao, Z Li, M Cheung, W Wong (2005).** Effects of biofertilizers containing N-fixer, P y K solubilizers and AM on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma. 125:155-166.

**Zhang F, N Dashti, H Hynes, D Smith (1996).** Plant growth promoting rizobacteria and soybean (*Glicine max* L Merr). Nodulation and nitrogen fixation at a suboptimal root zone temperatures. Annual. Botanic. 77:453-459.

**Zhang, Y. & Frankenberger, W.T., 2001.** Speciation of selenium in plant water extracts by ion exchange chromatography-hydride generation atomic absorption spectrometry. The Science of the total environment, 269(1-3), pp.39–47. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11305342>.

## APENDICE

**Cuadro 1A. Análisis de varianza de Fosforo con aplicación de selenio y *Azospirillum* en plantas de tomate saladette var. Río Grande en invernadero, 2013.**

F.v.	GL	SC	CM	F	P>F
Selenio	3	2962774	987591	5.263	0.004581
<i>Azospirillum</i>	3	626366	208789	1.113	0.358379
Sele*Azos	9	2124410	236046	1.258	0.296864
Error	32	6004372	187637		
Total	47	11717922			

C.V. = 30.90%

**Sele\* Azos= interacción entre selenio y *Azospirillum***

**Cuadro 2A. Análisis de varianza de potasio con aplicación de selenio y *Azospirillum* en plantas de tomate saladette var. Río Grande en invernadero, 2013.**

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Selenio	3	238225	79408	4.4779	0.009818
<i>Azospirillum</i>	3	96892	32297	1.8213	0.163131
Sele*Azos	9	210408	23379	1.3183	0.266330
Error	32	567467	17733		
Total	47	1112992			

C.V. = 37.21%

**Sele\* Azos= interacción entre selenio y *Azospirillum***

**Cuadro3A. Análisis de varianza de selenio con aplicación de selenio y *Azospirillum* en plantas de tomate saladette var. Río Grande en invernadero, 2013**

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio del Error	Fc	Ft
Selenio	3	44.39472	14.79824	25.0670	0.000000
<i>Azospirillum</i>	3	4.63927	1.54642	2.6195	0.067759
Sele*Azos	9	14.13972	1.57108	2.6613	0.019896
Error	32	18.89114	0.59035		
Total	47	82.06484			

C.V. = 21.59%

**Sele\* Azos= interacción entre selenio y *Azospirillum***

