

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Efecto de Rhizobacterias *Azotobacter*, *Acetobacter* y *Azospirillum sp*,  
sobre Plántulas de Tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

Por:

**MIGUEL ANGEL RODRÍGUEZ BARBOSA**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre del 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Efecto de Rhizobacterias *Azotobacter*, *Acetobacter* y *Azospirillum sp*,  
sobre Plántulas de Tomate (*Solanum lycopersicum L.*)

Por:

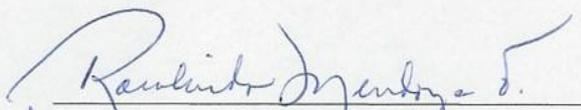
**MIGUEL ÁNGEL RODRÍGUEZ BARBOSA**

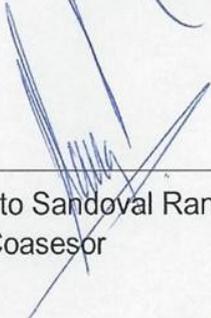
TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de

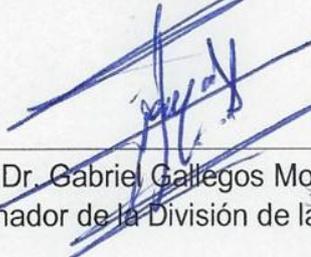
**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

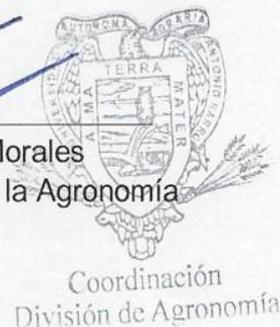
Aprobada por el Comité de Asesoría:

  
Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal  
Asesor Principal

  
Dr. Alberto Sandoval Rangel  
Coasesor

  
Dra. Francisca Ramírez Godina  
Coasesor

  
Dr. Gabriel Gallegos Morales  
Coordinador de la División de la Agronomía



Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre 2015

## AGRADECIMIENTOS

**A Dios todopoderoso**, por la oportunidad de cumplir esta etapa en mi vida, gracias señor por prestarme vida y darme la salud para seguir adelante y poder terminar esta carrera de corazón mil gracias.

**A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN)** por haber estado aquí y también por brindarme de sus servicios, con ella obtuve mi formación como Ingeniero Agrónomo gracias **ALMA TERRA MATER.**

**A la Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal**, por darme la oportunidad de trabajar en este proyecto de investigación, por la atención que me brindó y por los nuevos conocimientos adquiridos.

**A la Dr. Francisca Ramírez Godina**, por su atención y la orientación necesaria sobre esta investigación.

**Al Dr. Alberto Sandoval**, por brindarme su atención y la orientación necesaria sobre mi trabajo de investigación.

**Al M.C. Oscar Ávila Peralta** por apoyarme en todo momento, por todo sus conocimientos compartidos, sus consejos y por compartir parte de su tiempo en este trabajo.

**A T.A. Martina de la Cruz Casilla** por apoyarme para el desarrollo del trabajo en todo momento y compartir su tiempo.

## DEDICATORIA

**A mis padres: Bernardo Rodríguez Becerra Y Ma. Del Refugio Barbosa Pérez**

Gracias a ellos que me dieron la vida, que lograron que yo pudiera cumplir mis metas y mi sueños, gracias a ellos soy lo que soy ahora, mil gracias por su apoyo incondicional, por haberme sabido educar, guiarme por el camino del bien, brindarme todo su amor, comprensión y depositar toda su confianza. Le doy gracias a dios por tenerlos conmigo mil gracias los amo papas.

**A mis hermanos: Sergio Rodríguez Barbosa, Humberto Rodríguez Barbosa, Gabriel Rodríguez Barbosa y Rosario Rodríguez Barbosa**

Gracias por sus ánimos y motivación para salir adelante, por confiar en mí y apoyarme en todo lo que se requería y fuese necesario, en especial tu Sergio porque siempre confiaste en mí, siempre me apoyaste y jamás me fallaste de todo corazón gracias carnales.

**A mi novia: Laura Ramírez Rodríguez** gracias por caminar conmigo en este largo camino, por confiar y creer en mí, por tu gran apoyo y motivación incondicional, por todo el amor que me brindaste, esto es el sacrificio de ambos, gracias por todo amor.

**A mi tíos: David Barbosa Pérez, Rogelio Barbosa Pérez y Gloria Barbosa Pérez** gracias por su gran apoyo y por todos sus consejos

**A todos mis amigos y compañeros;** que fueron mi segunda familia a Erik (el fede), Luis Enrique (el quique), Jorge (el colillas), Manuel (el poni), Salvador (el gato), Ignacio (la cofra), Martin (el marto), Jesús (el sancri), Ramón (el primo), y Javier (el damaso), gracias por todo compañeros.

**¡MIL GRACIAS A TODOS!**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS .....	iii
DEDICATORIA .....	iv
ÍNDICE DE CONTENIDO .....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN .....	xi
INTRODUCCIÓN .....	12
OBJETIVO .....	14
HIPÓTESIS .....	14
REVISIÓN DE LITERATURA .....	15
Antecedentes del Tomate .....	15
Origen del tomate .....	15
Importancia del cultivo.....	15
El cultivo de tomate en invernadero .....	16
Clasificación taxonómica.....	16
Morfología de la planta de tomate.....	16
Raíz.....	16
Tallo.....	17
Hojas.....	18
Fruto .....	19
Semilla.....	19
Fertilizantes.....	20
Biofertilizantes.....	20
Beneficios que se obtienen con la aplicación de biofertilizantes .....	21
Importancia de los biofertilizantes.....	21
Bacterias promotoras de crecimiento .....	21
Géneros más usados .....	22
Importancia .....	22
<i>Azospirillum</i> .....	23
Trabajos con <i>Azospirillum</i> .....	24
Nitrógeno fijado .....	24

Métodos de inoculación.....	24
Efectos de la inoculación sobre el desarrollo de las raíces .....	25
Género <i>Azotobacter</i> .....	25
Acción del <i>Azotobacter</i> en la filosfera.....	26
Efecto del <i>Azotobacter</i> sobre el rendimiento de las plantas.....	27
Variables modificadas con la aplicación de biofertilizantes.....	28
Rendimiento.....	28
Grosor de tallo.....	29
Longitud de raíz.....	29
<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>29</b>
Localización del área experimental.....	29
Descripción del experimento.....	29
Siembra .....	31
Trasplante .....	31
Riego y Fertilización.....	31
Inoculación de las bacterias.....	31
Variables Evaluadas .....	32
Variables agronómicas .....	32
Diseño Experimental .....	33
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>33</b>
Altura de planta .....	33
Diámetro de planta .....	35
Longitud de raíz.....	37
Peso seco de raíz.....	39
Peso seco de planta .....	41
Biomasa de planta.....	43
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>45</b>
<b>LITERATURA CITADA .....</b>	<b>46</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>60</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Descripción del arreglo de tratamientos.....	30
1 A	Efecto de la inoculación de bacterias en altura y diámetro de plantas de tomate híbrido “Liberty Hazera” .....	60
2 A	Efecto de la inoculación de bacterias sobre longitud de raíz, peso seco de raíz, peso seco de plata y biomasa de planta, en plantas de tomate Híbrido “Liberty Hazera” .....	61
3 A	Análisis de varianza para la variable altura de planta 1 con la aplicación de <i>Azospirillum</i> , <i>Acetobacter</i> y <i>Azotobacter sp</i> , en plantas de tomate saladette híbrido “Liberty Hazera” en invernadero.....	62
4 A	Análisis de varianza para la variable altura de planta 2 con la aplicación de <i>Azospirillum</i> , <i>Acetobacter</i> y <i>Azotobacter sp</i> , en plantas de tomate saladette híbrido “Liberty Hazera” en invernadero.....	62

5 A	Análisis de varianza para la variable altura de planta 3 con la aplicación de <i>Azospirillum</i> , <i>Acetobacter</i> y <i>Azotobacter sp</i> , en plantas de tomate saladette hibrido “Liberty Hazera” en invernadero.....	62
6 A	Análisis de varianza para la variable diámetro de tallo 1 con la aplicación de <i>Azospirillum</i> , <i>Acetobacter</i> y <i>Azotobacter sp</i> , en plantas de tomate saladette hibrido “Liberty Hazera” en invernadero.....	63
7 A	Análisis de varianza para la variable diámetro de tallo 2 con la aplicación de <i>Azospirillum</i> , <i>Acetobacter</i> y <i>Azotobacter sp</i> , en plantas de tomate saladette hibrido “Liberty Hazera” en invernadero.....	63
8 A	Análisis de varianza para la variable diámetro de tallo 3 con la aplicación de <i>Azospirillum</i> , <i>Acetobacter</i> y <i>Azotobacter sp</i> , en plantas de tomate saladette hibrido “Liberty Hazera” en invernadero.....	63
9 A	Análisis de varianza para la variable longitud de raíz con la aplicación de <i>Azospirillum</i> , <i>Acetobacter</i> y <i>Azotobacter sp</i> , en plantas de tomate saladette hibrido “Liberty Hazera” en invernadero.....	64

10 A	Análisis de varianza para la variable peso seco de raíz con la aplicación de <i>Azospirillum</i> , <i>Acetobacter</i> , y <i>Azotobacter sp</i> , en plantas de tomate saladette hibrido “Liberty Hazera” en invernadero.....	64
11 A	Análisis de varianza para la variable peso seco de planta con la aplicación de <i>Azospirillum</i> , <i>Acetobacter</i> y <i>Azotobacter sp</i> , en plantas de tomate saladette hibrido “Liberty hazera” en invernadero.....	64

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pagina
1	Morfología de la planta de tomate.....	17
2	Efecto de la inoculación de bacterias en la altura de planta.....	34
3	Efecto de la inoculación de bacterias en el diámetro de tallo.....	36
4	Efecto de la inoculación de bacterias en la longitud de raíz.....	38
5	Efecto de la inoculación de bacterias en el peso seco de raíz.....	40
6	Efecto de la inoculación de bacterias en el peso seco de planta.....	42
7	Efecto de la inoculación de bacterias en la biomasa de planta.....	44

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto de la inoculación en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) con diferentes cepas de *Azotobacter*, *Acetobacter* y *Azospirillum sp*, a una concentración de  $10^8$  ufc  $\text{ml}^{-1}$  en condiciones de invernadero, con el 50% de N convencional utilizando los fertilizantes químicos  $\text{KNO}_3$  y  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  en variables agronómicas como altura de planta, diámetro de tallo, longitud de raíz, peso seco de raíz, peso seco de planta y biomasa de planta. Se observó que la aplicación de las cepas tiene efectos positivos en las variables agronómicas evaluadas. Para longitud de raíz la mejor cepa fue *Azospirillum* GCN1, mientras que para peso seco de raíz fueron: *Azotobacter* TN2, y *Acetobacter* TT2, para peso seco de planta la mejor cepa fue *Azospirillum* GCN2, la mayor altura de planta se obtuvo con *Azospirillum* TN1 de rizosfera de nopal Torreón, el grosor de tallo se incrementó con *Azospirillum* GCN2 y la biomasa de planta aumentó con *Azospirillum* GCN2 de rizosfera de nopal, General Cepeda y *Azotobacter* TN2 de rizosfera de nopal, Torreón.

**Palabras clave:** Biofertilizante, Cepas, Steiner, Tomate.

Correo electrónico; Miguel Angel Rodriguez Barbosa,  
[miguelon0912@outlook.es](mailto:miguelon0912@outlook.es)

## INTRODUCCIÓN

Una de las hortalizas de mayor demanda es el tomate (*Solanum lycopersicom L.*), por su alto consumo a nivel mundial y para los productores ya que representa grandes cantidades de divisas. Es el segundo cultivo más importante de todas las hortalizas a nivel mundial, junto con la papa (*Solanum tuberosum*). En el año 2013 se alcanzó una producción mundial cerca de los 160 millones de ha, (FAOSTAT, 2013). En este mismo año México obtuvo una producción total de 2, 694,350.19 toneladas a partir de una superficie cosechada de 47,099.36 ha, obteniendo así un valor de 15, 045,508.72 pesos, en la modalidad de riego más temporal (SIAP 2013).

Actualmente para incrementar los rendimientos de los distintos sistemas de producción agrícola se utilizan fertilizantes químicos; sin embargo el costo de estos fertilizantes es muy elevado por lo que el productor tiene que invertir entre el 10 y 25% de su producción total (Salgado-García y Núñez-Escobar, 2010). Además estos fertilizantes degradan los recursos naturales (Santillana, 2006), por lo que es necesario fomentar el uso y manejo de otras alternativas en los sistemas de cultivo como lo son los biofertilizantes, estos constituyen un componente vital de sistemas sostenibles, son económicos además reducen insumos externos y mejoran la calidad de los recursos internos (Mejía, 1995). Por lo que la aplicación de microorganismos que interaccionan con las plantas es una opción viable ya que incrementan el crecimiento vegetal, en particular con la bacteria *Azospirillum*, fijadora de nitrógeno y productora de fitohormonas (Rodríguez, 2009). Se ha reportado que *Azospirillum sp* favorece el crecimiento y rendimiento del cultivo de sorgo (García *et al.*, 2006), trigo (Naiman *et al.*, 2009), arroz (Ruíz *et al.*, 2011) y gramíneas forrajeras como los pastos, *Elyonurus muticus* y *B. humidicola* (Brasil *et al.*, 2005).

Por otra parte *Azotobacter sp*, también, tiene la capacidad de generar hormonas reguladoras de crecimiento, especialmente Acido Indol Acético (AIA), es por esto que, se le incluye dentro del grupo de bacterias promotoras de crecimiento vegetal o PGPM (Plant Growth Promoting microorganims); las cuales se encuentran asociadas a la rizosfera y están relacionadas con mayor número de macollamiento, crecimiento, distancia de entrenudos entre otros (Rojas. & Moreno., 2008), reduciendo de esta manera el uso de agroquímicos

y facilitando una producción económica, además de contribuir en la restauración de ecosistemas (Borda M. *et al.*, 2009).

*Acetobacter* es otro género de rizobacterias con capacidad para fijar nitrógeno atmosférico (Lee *et al.*, 2000), como sucede en caña de azúcar ya que se reportan altas tasas de fijación de nitrógeno in vitro en cepas aisladas de raíces y tallos (Cavalcante y Dobereiner, 1988), Suman *et al.* (2005) mencionan que *Gluconoacetobacter diazotrophicus* produce fitohormonas y tiene efecto positivo en la germinación y el crecimiento en plantas de caña de azúcar. Otros de los beneficios de la aplicación de bacterias como biofertilizantes en plantas son: incremento en el área superficial de la raíz (Singh *et al.*: 2011), y mejor rendimiento (Carcaño-Montielet *al.*, 2006, Bashan *et al.*, 2010, 2011) etc. En este contexto se diseñó un experimento con el objetivo de ver el efecto de cepas de bacterias *Azospirillum sp*, *Azotobacter sp* y *Acetobacter sp* sobre el crecimiento de plantas de tomate.

## **OBJETIVO**

Evaluar el efecto de cepas de *Azospirillum*, *Azotobacter* y *Acetobacter sp*, sobre los caracteres morfológicos de plantas de tomate.

## **HIPÓTESIS**

Al menos una de las cepas provocará mayor crecimiento o desarrollo en la morfología de plantas de tomate.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Antecedentes del Tomate

En la llegada de los españoles a América, el tomate formaba parte ya de los pequeños huertos de hortalizas del área mesoamericana, sin que su importancia económica fuera grande. Era una hierba más de las milpas. Los cronistas europeos hacen escasas referencias a este producto, habiéndose a veces malinterpretado algunas citas que utilizan el vocablo tomate. Este vocablo introducido en la lengua castellana en 1532 (Corominas, 1990), procede del náhuatl *tomatl*, que se aplicaba genéricamente para plantas con frutos globosos o bayas, con muchas semillas y pulpa acuosa (Montes y Aguirre, 1992).

### Origen del Tomate

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una planta dicotiledónea perteneciente a la familia de las solanáceas. El origen del género *lycopersicum* se reporta en la región andina lo que hoy comprende Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Chile. (Esquinas & Nuez 2001; Rodríguez *et al.*, 2001). Fue llevado por los distintos pobladores de un extremo a otro, extendiéndolo así por todo el continente (Rodríguez *et al.*, 2001).

### Importancia del Cultivo

En México, el tomate es el cultivo hortícola de mayor importancia en lo económico y lo social, debido a la superficie sembrada, a su volumen en el mercado nacional y todas las divisas que este genera. Su popularidad se debe a su aceptable sabor y la disponibilidad del fruto en una amplia gama de ambientes, además de su facilidad para ser cultivado (Cruz, 2007)

Es utilizado para ensaladas y jugo en fresco, en la industria alimenticia se utiliza en diversas formas, purés, jugos, conserva, salsas, saborizantes, entre otros (SAGARPA 2010).

## **El cultivo de Tomate en Invernadero**

Debido a la superficie dedicada a este cultivo y el valor de su producción, el tomate es la hortaliza número uno en el mundo. La planta de tomate es arbustiva e indeterminada, puede tener un ciclo de vida superior a un año, aunque se cultiva como anual.

Para invernadero se utilizan las variedades de crecimiento indeterminado pues permite tener producción durante periodos largos si se manejan de forma adecuada. El manejo del cultivo es la clave para obtener altos rendimientos y calidad del fruto (Castellanos, 2011).

## **Clasificación Taxonómica**

Es una planta dicotiledónea de la familia de las solanáceas y su taxonomía se describe a continuación (Foolad, 2007):

**Reino:** *Plantae*

**Subreino:** *Traqueobinta*

**Superdivisión:** *Spermatophyta*

**Clase:** *Magnoliopsida*

**Subclase:** *Asteridae*

**Orden:** *Solanales*

**Suborden:** *Solanineae*

**Familia:** *Solanaceae*

**Género:** *Solanum*

**Especie:** *S. lycopersicum*

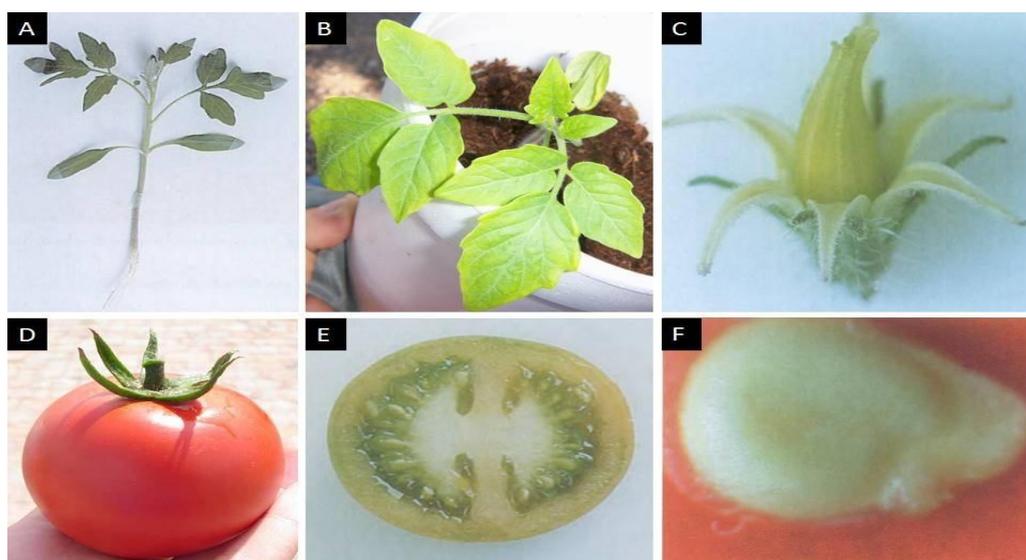
## **Morfología de la Planta de Tomate**

### **Raíz**

La planta presenta una raíz (Figura 2a) principal pivotante, que crece unos 3 cm al día hasta que alcanza los 60 cm de profundidad, simultáneamente se producen raíces adventicias y ramificaciones que pueden llegar a formar una masa densa y de cierto volumen. Sin embargo, este sistema radical puede ser

modificado por las prácticas culturales, de tal forma que cuando la planta procede de un trasplante, la raíz pivotante desaparece siendo mucho más importante el desarrollo horizontal (Rodríguez *et al.*, 2001), donde las raíces laterales y adventicias crecen tanto como la principal (Curtís, 1996).

El sistema radical puede alcanzar hasta 1.5 m de profundidad, y se estima que un 75% del mismo se encuentra entre los primeros 45 cm superiores del terreno (Rodríguez *et al.*, 2001).



**Figura 1.** Morfología de la planta de tomate; a) plántula de tomate que muestra su raíz, hojas cotiledóneas y brote apical con primeras hojas verdaderas (Nuez *et al.*, 1995), b) hojas, c) flor (Nuez *et al.*, 1995), d) fruto (Nuño *et al.*, 2007), e) sección transversal de un fruto adulto y f) micrografía de una semilla de tomate (x20) (Nuez *et al.*, 1995).

## Tallo

El tallo es erguido y cilíndrico en planta joven, a medida que ésta crece, el tallo cae y se vuelve anguloso. Presenta tricomas (vellosidades) en la mayor parte de sus órganos y glándulas que segregan una sustancia color verde aromática. El tallo puede llegar a medir de 40-250 cm. Muestra ramificación abundante y yemas axilares, si al final del crecimiento todas las ramificaciones exhiben yemas reproductivas, estas se clasifican como de crecimiento determinado; y si terminan con yemas vegetativas, son de crecimiento indeterminado (Rick,

1978; Rodríguez *et al.*, 1984; Valadéz, 1990). Cuando la ramificación del tallo principal da lugar a dos grupos: determinado e indeterminado; el primero termina sus ramificaciones en inflorescencia, limitándose en consecuencia el crecimiento vertical, en el segundo también se forman racimos en la última hoja; sin embargo, se forma también una nueva rama dando origen a un crecimiento ilimitado (Garza, 1985).

## **Hojas**

Las hojas son cortas, de tamaño medio y largas (George, 1999). Son compuestas, se insertan sobre los diversos nudos en forma alterna. El limbo se encuentra fraccionado en siete, nueve y hasta once folíolos. El haz es de color verde y el envés de color grisáceo, su tamaño depende de las características genéticas de la variedad. En tomates más rústicos el tamaño de sus hojas es más pequeño (Huerres y Caraballo, 1988). La disposición de nervaduras en los folíolos es penninervia (Rodríguez *et al.*, 2001; Garza, 1985).

## **Flor**

La flor se presenta formando inflorescencias que pueden ser de cuatro tipos: racimo simple, cima unípara, cima bípara y cima múltipara; pudiendo llegar a tener hasta 50 flores por racimo. (Rodríguez *et al.*, 2001). Cuando las inflorescencias se producen alternando con cada hoja o dos hojas se dice que la planta es de crecimiento determinado, si la alternancia es más espaciada es de crecimiento indeterminado. Normalmente entre las primeras predomina la precocidad y el porte bajo, y las segundas son más tardías y de porte alto. La flor está formada por un pedúnculo corto, el cáliz es gamosépalo, es decir, con los sépalos soldados entre sí, y la corola gamopétala. El androceo tiene cinco o más estambres adheridos a la corola con las anteras que forman un tubo. El gineceo presenta de 2-30 carpelos que al desarrollarse darán origen a los lóculos o celdas del fruto (Rodríguez *et al.*, 2001). Las flores son hermafroditas, hipóginas y regulares (Wien, 1997). El cáliz está compuesto de seis sépalos y la corola de seis pétalos amarillos. Los estambres, en un número de seis, se reúnen formando un tubo alrededor del gineceo. La

dehiscencia se produce por la mañana generalmente, el estigma es receptivo a su propio polen o a otro; la receptividad que comienza dos horas antes de la dehiscencia y se prolonga de 4 a 8 h. El estilo es más corto o tan largo como los estambres; posición que favorece considerablemente la autopolinización. El alargamiento del estilo se acentúa en clima tropical debido a las temperaturas elevadas, de tal forma que en esas condiciones, se puede observar una polinización cruzada natural (Curtís, 1996).

## **Fruto**

El fruto es una baya de color amarillo, rosado o rojo debido a la presencia de licopeno y caroteno; el más común es el rojo en la madurez, la pulpa contiene una proporción del 33% del peso fresco del fruto (Rodríguez *et al.*, 2001).

Botánicamente, un fruto de tomate es una baya compuesta de varios lóculos, consistente de semillas dentro de un pericarpio carnoso desarrollado de un ovario. Su forma puede ser redondeada, achatada o en forma de pera y su superficie lisa o asurcada; están compuestos de carne (paredes del pericarpio carnoso desarrollado de un ovario). Una variedad comercial contiene alrededor de 150-300 semillas por fruto (Desai *et al.*, 1997).

## **Semilla**

La semilla es de diferentes tonalidades en su color, desde el grisáceo, hasta el color paja de forma oval aplastada; tamaño entre 3-5 mm de diámetro y 2.5 mm de longitud, y cubierta de vellosidades. En un gramo puede haber de 300-350 semillas (Rodríguez *et al.*, 2001; Huerres y Caraballo, 1988). El peso de 1000 semillas es de aproximadamente 2.4 g (Desai *et al.*, 1997). En producciones bajo invernadero, 1 kg de fruto produce aproximadamente 4 g de semilla (1200 semillas aproximadamente). En campos de producción la regla es: el 1% del peso del fruto es el peso de semilla. En Estados Unidos para cultivares del tipo determinado, el rendimiento es de 250-400 kg·ha<sup>-1</sup> de semilla. En África se reportan rendimientos de 10 a 50 kg·ha<sup>-1</sup>. El peso de mil semillas producida en condiciones de invernadero es de 3.3 g en cultivares de

tipo determinado y el peso en campo es de 2.5 g (George, 1989; George, 1999).

### **Fertilizantes**

Los fertilizantes químicos deben ser utilizados con precaución, generalmente se sugiere evitar los excesos, fuera de ciertos umbrales de los aportes suplementarios, ya que encarecen la producción, y pueden ser tóxicos para las plantas e impactar negativamente el entorno (Caviglio *et al.*, 2004).

Se ha documentado que pueden afectar la densidad de la población microbiana además de las propiedades físico-químicas de los suelos, lo que lleva a la pérdida de la fertilidad del suelo y el rendimiento de los cultivos (Saghiret *al.*, 2009).

Existen fertilizantes simples (contiene un nutriente principal) y el fertilizante compuesto (compuesto de dos o más nutrientes principales N, P y K). Estos fertilizantes son generalmente incorporados al suelo, pero pueden ser también aportados por el agua de riego.

Las alternativas propuestas para evitar el uso excesivo de fertilizantes, es la biofertilización con microorganismos del suelo, entre los que destacan las bacterias rizosféricas y los hongos micorrízicos arbusculares, los cuales se utilizan como inoculantes microbianos en la agricultura, ya que se dice que incrementan la disponibilidad de nutrientes debido a su efecto de fijación, solubilización y absorción de elementos minerales (Hernández-Díaz & Chailloux-Laffita *et al.*, 2001, Hernández *et al.*, 2009).

### **Biofertilizantes**

Los biofertilizantes pueden definirse, según Martínez y Dibut (1986 a y b) como productos a base de microorganismos que viven normalmente en el suelo, aunque en poblaciones bajas y que al incrementar sus poblaciones por medio de la inoculación artificial, son capaces de poner a disposición de las plantas, mediante su actividad biológica, una parte importante de las sustancias nutritivas que necesitan para su desarrollo, así como suministrar sustancias hormonales o promotoras del crecimiento.

## **Beneficios que se obtienen con la Aplicación de Biofertilizantes**

-Reducción de los costos de producción por la sustitución de entre 30 y 50% del fertilizante nitrogenado, y hasta un 70% del fertilizante fosfórico.

-También hay un incremento de los rendimientos de los cultivos (entre 15 a 30%) lo cual permite cubrir en mayor nivel, las necesidades alimentarias de la población y le permite a los agricultores obtener mayores beneficios económicos por sus productos agrícolas (Salgado-García & Núñez-Escobar, 2010). Por lo tanto la biofertilización es un elemento tecnológico que ayuda a la sostenibilidad de los sistemas agrícolas, que de manera conjunta promueve la sanidad de los cultivos y reduce la utilización de agroquímicos sintéticos (Díaz-Franco *et al.*, 2012). Armenta *et al.*, (2010) define a los biofertilizantes como microorganismos aplicados al suelo y/o planta con el fin de sustituir la fertilización sintética, y por consiguiente una disminución en la contaminación por agroquímicos.

## **Importancia de los Biofertilizantes**

La importancia según Hernández *et al.* (1994) y Martínez *et al.* (1995), de estos bioproductos radica en su capacidad para suplementar o movilizar nutrientes con un mínimo uso de recursos no renovables; además, tiene las ventajas de que los procesos microbianos son rápidos y los biopreparados pueden aplicarse para solucionar problemas locales específicos, al mismo tiempo que se reducen los problemas económicos y ecológicos que se derivan de la aplicación indiscriminada de los fertilizantes industriales.

## **Bacterias Promotoras de Crecimiento**

Las (BPCP) son un grupo de diferentes especies de bacterias que pueden incrementar el crecimiento y productividad vegetal. Entre los organismos más conocidos están las especies de los géneros *Rhizobium*, *Pseudomonas*, y *Azospirillum*.

Se clasifican en 2 grupos, la primera: bacterias promotoras de crecimiento en plantas, donde la bacteria afecta a la planta suprimiendo otros organismos,

la segunda: Bacterias promotoras de crecimiento en plantas con capacidad de control biológico, las cuales promueven el crecimiento de la planta al suprimir los patógenos (Bashan & Holguin, 1998). Desde su re-descubrimiento por Döbereiner y colaboradores en 1976), las especies de *Azospirillum* son las BPCP más estudiadas. A pesar de muchos experimentos exitosos, tanto en condiciones de invernadero como de campo, su aplicación a gran escala no ha sido fácil, debido a problemas como la inconsistencia y lo poco previsible de los resultados obtenidos en campo, especialmente cuando los agricultores tienen poco tiempo o conocimiento acerca de la inoculación con bacterias (Okon y Labandera, 1994). Este hecho ha desanimado a los cultivadores y a la industria. Sin embargo, durante los últimos años varios inoculantes comerciales producidos a pequeña escala han entrado lentamente en el mercado internacional, tanto en Europa como en Sur América.

### **Géneros más Usados**

Actualmente los microorganismos empleados como biofertilizantes son hongos micorrízicos de los géneros: *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Sclerocystis* y *Glomus*, pertenecientes a la familia Endogonaceae de la clase Zygomycetos, y especies de bacterias de géneros como *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azotobacter*, *Frankia*, *Beijerinckia* y *Azospirillum* (Pajarito-Ravelero e Ibarra-Flores, 2012).

### **Importancia**

La asociación planta-bacterias fijadoras de nitrógeno ha sido estudiada en plantas anuales y perennes debido a que contribuyen en el efecto directo del crecimiento de la planta, por la producción de fitohormonas, en la disponibilidad de nutrientes y en la reducción de las poblaciones de patógenos de la raíz (Rao & Krishna 2006). La mayor proporción de nitrógeno en todo el mundo

proviene de los ecosistemas terrestres y acuáticos de la fijación biológica, (FBN) (Roesch *et al.*, 2008). Como la que hace *Azospirillum* (Lodewyckx *et al.*, 2002), que se establece y alimenta en la raíz (Akello *et al.*, 2008) y suministra nitrógeno a la planta (Mayz-Figueroa 2004). *Azospirillum* es la rizobacteria más importante para mejorar el crecimiento o rendimiento de cultivos, bajo diversos ambientes y condiciones edáficas en las que se encuentre (Bashan *et al.*, 2004). Los beneficios del uso de microorganismos en la agricultura están en 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 compuestos bioactivos como vitaminas y hormonas que estimulan el crecimiento de las plantas.

### ***Azospirillum***

La primera cepa de *Azospirillum* se aisló en Holanda por Beijerinck (Beijerinck, 1925) a partir de suelos arenosos pobres de nitrógeno, y lo denominó como *Spirillum lipoferum*. El género *Azospirillum sp*, está conformado por bacterias Gram negativas, que poseen un movimiento vibratorio característico en forma de espiral, son heterotróficas, de vida libre y fijan nitrógeno. Se han descrito 10 especies: *A. brasilense*, *A. lipoferum*, *A. amazonense*, *A. halopraeferans*, *A. irakense*, *A. largimobil*, *A. dobereineriae*, *A. orizae*, *A. melinis* y *A. canadense*. Las cuales se han aislado de la rizósfera o del interior de la planta (endofíticas), de diferentes monocotiledóneas o dicotiledóneas, en regiones templadas y tropicales del mundo (Aguilar *et al.*, 2008).

En el grupo de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV), *Azospirillum sp* es considerado un sistema modelo para el estudio de la asociación entre bacterias y plantas que no nodulan (Bashan & Holguín, 1997).

Este género es muy promisorio como inoculante para las plantas; pues tienen un número de características interesantes que las hace adaptables para establecerse entre ellas mismas en el extremadamente complejo medio competitivo de la rizósfera (Burdman, Jurkevitch & Okon, 2000).

Se ha demostrado que los cultivos puros de *Azospirillum sp* producen auxinas, citoquininas y sustancias similares a giberelinas, hormonas que participan en el desarrollo vegetal (Kapulnik *et al.*, 1983).

### **Trabajos con *Azospirillum***

Terry *et al.*, (2005) evaluaron bacterias benéficas en cultivo de tomate, encontrando que el género más abundante en la rizósfera era *Azospirillum sp* que su inoculación artificial tiene un efecto positivo ya que aumenta el tamaño y el estado nutricional de la planta; estos autores obtuvieron un rendimiento de un 11% más comparado con el testigo sin inocular. Por su parte Núñez-Sosa *et al.*, (2005) evaluaron la utilización de *Azospirillum* y *Glomus fasciculatum* en el cultivo de zanahoria a diferentes concentraciones de materia orgánica, obteniendo los mejores rendimientos con la coinoculación de *Azospirillum* y *Glomus fasciculatum*, y la inoculación simple de *Glomus fasciculatum*.

### **Nitrógeno Fijado**

Las cepas silvestres de *Azospirillum sp* fijan el nitrógeno atmosférico, como bacterias libres o en asociación con plantas ya que participan en transformaciones relacionadas al ciclo del nitrógeno (Heulin *et al.*, 1989; Hurek *et al.*, 1988; Tarrand *et al.*, 1978). El nitrógeno total que se incorpora a las plantas, más del 60% es por medios biológicos de asociaciones de bacterias con las plantas (Alemán-Martínez, 2006).

### **Métodos de Inoculación**

Esta puede ser líquida o sólida, sin embargo, la inoculación líquida al suelo es la más importante, porque al estar la bacteria en condiciones húmedas del suelo, aumenta su sobrevivencia siempre.

Los mejores resultados se han obtenido a partir de suspensiones de turba vertido por goteo al surco o distribuyendo el inoculante de turba en el momento de la siembra. De esta manera se satisfacen los requerimientos de un buen

inoculante (acarreador químicamente inerte, seco, uniforme, biodegradable y permite la liberación gradual de las bacterias durante periodos de 1 mes aproximadamente, y puede ser reproducido a gran escala (Bashan *et al.*, 1996).

### **Efectos de la Inoculación sobre el Desarrollo de las Raíces**

Los efectos más sobresalientes de la inoculación vegetal con *Azospirillum sp.*, son los diversos cambios morfológicos que sufre el sistema radicular. Estos cambios se encuentran directamente relacionados con la concentración del inóculo. El nivel de inoculación óptimo en semillas y plántulas para muchos cereales, y en vegetales y plantas de cultivo comerciales, se ha observado que es de alrededor de  $10^5$ - $10^6$  unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) (Bashan, 1986; Bashan y Levanony, 1989; Smith *et al.*, 1984), mientras que para el maíz es de  $10^7$  UFC/mL (Fallik *et al.*, 1988). Una concentración de inóculo de  $10^8$ - $10^{10}$  UFC/mL generalmente inhibe el desarrollo radicular (Barbieri *et al.*, 1986; Bashan, 1986; Bashan, 1990). Estos datos no han revelado cuántas células bacterianas por semilla o plántula se requieren para obtener una respuesta vegetal positiva.

### **Género *Azotobacter***

Frobisher (1969) señala que el género *Azotobacter* fue descubierto por Beijerinck en 1901 y desde entonces se ha desplegado un enorme interés en estudiar este organismo debido a la contribución que pueden hacer a la nutrición nitrogenada de las plantas superiores, como plantea Brown *et al.* (1992). *Azotobacter* es uno de los primeros géneros conocidos como fijadores asociativos de nitrógeno, siendo el más estudiado en el ámbito mundial a juicio de Martínez y Dibut (1996a). Su nombre proviene de la palabra francesa “azoto” que significa nitrógeno y del griego “bacter” que significa bacilo (Hernández *et al.*, 1994) según estos autores son microorganismos de vida libre de suelo que requieren de sustancias orgánicas como fuente de energía, pero si hay abundancia de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$ , lo emplean con facilidad y no fijan nitrógeno. Son bacterias gram negativas, móviles; las colonias son viscosas,

convexas, lisas o arrugadas y poseen pequeñas inclusiones granulares, el color se presenta en diferentes matices de pardo, producen pigmentos que en ocasiones se difunden en el medio de cultivo (Agar-Asbhy) selectivo para este género (Rubenchik, 1960). Abundan en suelos bien aireados, neutros o ligeramente alcalinos (pH de 6,0 a 7,5) pero hay formas que crecen a pH inferiores a 5,0; sin embargo, en Cuba, según Martínez *et al.* (1985) el género no se desarrolla bien en suelos muy ácidos y con limitantes nutricionales. En la década de los 30, se realizaron numerosas investigaciones en Rusia, las cuales en su mayoría fueron positivas, lo que trajo como consecuencia la preparación de un inoculante comercial, llamado Azotobacterin, que se aplicó durante muchos años, con respuestas positivas en algunos cultivos y negativas en otros, cultivos (Mishustin y Silnikova, 1971). Estas grandes variaciones en la efectividad del biopreparado en condiciones de producción se debieron a errores cometidos en la selección de cepas, por no haber tomado en cuenta la influencia del quimiotaxismo de las bacterias frente a las secreciones radicales y por haberse seleccionado un grupo muy reducido de cepas que como es lógico, no podían tener una capacidad igual de adaptación para todos los tipos de suelo existentes. Raznitsina (1938) detectó en cultivos de estas bacterias la presencia de auxinas, Bukatsch *et al.* (1956) identificó ácido indolacético y Vancura (1961) encontró ácido giberélico, en tanto que Coppola *et al.* (1971) y Barea y Brown (1974) hallaron citoquininas en 17 cepas de bacterias de este género. Más recientemente en Cuba, González *et al.* (1986) mencionan la presencia de auxinas, giberelinas y citoquininas.

### **Acción del *Azotobacter* en la Filosfera.**

De acuerdo con estudios realizados por Debinstein (1970), la abundante población microbiana que se encuentra en las hojas es por sí misma, prueba de un ambiente que posee considerable valor nutritivo; la humedad contribuye también al desarrollo y supervivencia de esta población, ofreciéndole espacio y estimulando el intercambio de productos metabólicos. Esta propiedad y la habilidad para concentrar materia resuspendida o disuelta en la atmósfera con gran rapidez, hace que las hojas tengan una gran importancia en los agroecosistemas agrícolas (Bhat *et al.*, 1971). Ruinen (1975), nombró la zona

de crecimiento del microorganismo en la superficie de las hojas de las plantas como filosfera. Según datos reportados por Martínez *et al.* (1999a) en condiciones tropicales, ocurre también fijación de nitrógeno en la filosfera, zona que está en contacto con la hoja y la atmósfera, sometida a la actividad reguladora de ambas. El mismo autor señala que los microorganismos que viven en las hojas, entre las cuales se encuentran las bacterias del género *Azotobacter*, toman el agua, los gases disueltos de la atmósfera y los nutrientes a partir de los exudados de las hojas vivas las cuales están reguladas por el estado nutricional de las plantas, el follaje funciona como soporte, trampa de agua y centro de producción de nutrientes y condiciona al medio para el crecimiento microbiano; además, procesa y distribuye compuestos nitrogenados en flujo a través de la planta hacia las partes más jóvenes.

### **Efecto del *Azotobacter* sobre el Rendimiento de las Plantas**

Se conoce el importante papel que desempeña *Azotobacter* en el crecimiento y desarrollo de las plantas, incluso son capaces de incrementar el rendimiento de los cultivos, los valores varían de acuerdo con la bacteria y su afinidad por el cultivo, lo que indica especificidad del microorganismo e incluso de las cepas (Larson y Neal, 1978). Rubenchick (1960) realizó 1095 experimentos en Rusia sobre la respuesta en rendimiento de *Azotobacter*, de ellos el 81 por ciento se observó un aumento del rendimiento de los cereales, hortalizas y cultivos industriales, además informa que los experimentos efectuados en Checoslovaquia sobre la Azotobacterina en 1954, demostraron que los rendimientos de la remolacha azucarera, el maíz la zanahoria y la col, habían aumentado el 39; 15.4; 19.2 y 2.9 por ciento, respectivamente, y los estudios efectuados en Rumania en 1954 mostraron un aumento del 50% en el rendimiento de la corona de girasol. Ridge y Rovira (1968), demostraron que con la inoculación de la azotobacterina hubo aumento del rendimiento en el grano del trigo. Burges (1968), plantea que en la aplicación del biofertilizante con la dosis completa de fertilizante nitrogenado no hay fijación de nitrógeno, porque las bacterias utilizan el que abundantemente tienen a su alcance y no gastan energía en la fijación (que tiene un alto costo de energía biológica), pero

se observa el incremento del rendimiento por la acción de las sustancias activas de la bacteria.

## **Variables Modificadas con la Aplicación de Biofertilizantes**

### **Rendimiento**

Premsekhar *et al.* (2009) reportaron que en tomate la aplicación de *Azospirillum sp.* con solo 75% del nitrógeno alcanzó un rendimiento de 43.85 toneladas por hectárea comparable al tratamiento donde se aplicó el 100% de nitrógeno.

En otro estudio en trigo y maíz, (Hungria *et al.*, 2010), observaron incrementos entre 24 y 30% para maíz y de 13 a 18% para trigo en plantas inoculadas en comparación a las que no se inocularon con *Azospirillum sp.*

En maíz, (Uribe *et al.*, 2007), encontraron que el rendimiento de grano en plantas inoculadas con *Azospirillum sp.* superaron en un 27.9 % a las plantas no inoculadas; sin embargo, solo fueron mayores en un 4.8% al tratamiento fertilizado con 40 kg de N ha<sup>-1</sup>.

Bhaskara Rao y Charyulu, (2005), reportaron incrementos significativos de hasta 70% en el peso de la panícula de plantas de *S. itálica* inoculadas con *Azospirillum sp.* en comparación con plantas no tratadas.

Según Hamdi (1985), muchos de los resultados encontrados fuera de Rusia sobre la respuesta en varios cultivos a la azotobacterina carecen de uniformidad, en Alemania se observaron aumentos del 11% en el rendimiento de la zanahoria, 6.25% en la patata y el 13% en el incremento de la clorofila de la mostaza.

### **Grosor de Tallo**

Hernández y Chailloux (2004), obtuvieron una respuesta positiva con la aplicación de rizobacterias en grosor de tallo, y esto según ellos no solo se debe a las características genéticas del cultivo, sino que también juegan un papel importante las rizobacterias que de forma diferente tiene la capacidad de producir metabolitos estimuladores de crecimiento vegetativo.

### **Longitud de Raíz**

Con respecto a esta variable, (Toniutti y Fornasero, 2008), mencionan que *A. brasilense* incrementó el 82% la longitud radicular de las plantas de *S. lachneae* comparación con las plantas no inoculadas. Con relación a lo anterior, (Greer-Philips *et al.*, 2004), mencionaron que especies de *Azospirillum brasilense* están asociadas con las raíces de muchos cultivos de importancia agrícola, como el trigo, el maíz y el arroz, la bacteria coloniza la superficie de la raíz y promueve el crecimiento radicular de las plantas, por ello, estos microorganismos son atractivos para el desarrollo de biofertilizantes.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Localización del Área Experimental**

El presente trabajo se llevó a cabo en un invernadero de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México. Ubicado a una latitud de 25° 21' 24.93" Norte, una longitud de 101° 02' 05.06" Oeste y a una altitud de 1762 msnm.

### **Descripción del Experimento**

Se evaluaron 13 cepas; 2 de *Azotobacter*, 4 de *Acetobacter* y 7 *Azospirillum* sp. Aplicadas en plantas de tomate híbrido "Liberty Hazera", a una concentración de  $10^8$  ufc ml<sup>-1</sup> con solución nutritiva Steiner (Steiner, 1994) al 50% de nitrógeno y un testigo sin cepas y con Solución nutritiva Steiner al 100% de nitrógeno. (Cuadro 1)

**Cuadro 1.** Tratamientos evaluados en plantas de tomate híbrido “Liberty Hazera” en invernadero.

<b>Tratamientos</b>	<b>Solución Steiner (% N)</b>	<b>Unidades Formadoras de Colonias (ufc ml<sup>-1</sup>)</b>
<i>Azotobacter</i> TN1	50	10 <sup>8</sup>
<i>Azotobacter</i> TN2	50	10 <sup>8</sup>
<i>Acetobacter</i> TT1	50	10 <sup>8</sup>
<i>Acetobacter</i> TT2	50	10 <sup>8</sup>
<i>Acetobacter</i> GCN1	50	10 <sup>8</sup>
<i>Acetobacter</i> GCN2	50	10 <sup>8</sup>
<i>Azospirillum</i> GCN1	50	10 <sup>8</sup>
<i>Azospirillum</i> TN1	50	10 <sup>8</sup>
<i>Azospirillum</i> GCT	50	10 <sup>8</sup>
<i>Azospirillum</i> TN2	50	10 <sup>8</sup>
<i>Azospirillum</i> TCH1	50	10 <sup>8</sup>
<i>Azospirillum</i> GCN2	50	10 <sup>8</sup>
<i>Azospirillum</i> TCH2	50	10 <sup>8</sup>
Testigo	100	Sin aplicar

T=Torreón, GC=General Cepeda, N=Nopal, T=Tomate, CH=Chile Azot=*Azotobacter sp*, Acet=*Acetobacter sp*, Azos=*Azospirillum sp*.

Las cepas fueron colectadas en la rizosfera de nopal, tomate y chile en las localidades de Torreón y General Cepeda, se aislaron y se aplicaron en plantas de tomate. En total se tuvieron 14 tratamientos con 3 repeticiones, obteniendo un total de 42 plantas,

Para establecer el estudio se realizaron las siguientes actividades

### **Siembra**

La planta se produjo en charolas de 200 cavidades utilizando como sustrato peatmoss + perlita (3:1), durando aproximadamente un mes en la charola.

### **Trasplante**

Se realizó en contenedores de polietileno de 5 litros, obteniendo un total de 42 contenedores con plantas.

### **Riego y Fertilización**

Se inició a los 6 días después del trasplante, aplicando una solución Steiner (Steiner, 1994) al 25%, a los 9 días se aumentó la concentración al 50%. La aplicación se realizó cada vez que la planta necesitaba agua, de forma manual aproximadamente entre las 4 y 5 p.m., mientras que las plantas testigo se les suministro una solución Steiner al 100% de N.

### **Inoculación de las Bacterias**

Se realizaron 5 inoculaciones (al tercer día de trasplante y posteriormente a los 5, 9, 11 y 13 días), se aplicaron 10 ml por planta de dicha bacteria diluida en agua a una concentración de  $10^8$  ufc ml<sup>-1</sup>

## Variables Evaluadas

### Variables Agronómicas

**Altura de Planta.** Esta variable se midió con una cinta métrica, desde la base del tallo de la planta hasta la última hoja de esta.

**Diámetro de Tallo.** El diámetro se midió a partir de 1 cm arriba del sustrato con ayuda de un vernier digital de precisión (AutoTEC™).

**Longitud de Raíz.** Para esta variable las raíces se lavaron y secaron, posteriormente fueron colocadas en la mesa del laboratorio de cultivo de tejidos y con una regla de (30 cm) se obtuvo la medida de cada una de ellas.

**Peso seco de Raíz.** Una vez que las raíces fueron lavadas y medidas se colocaron en una estufa de secado a 65<sup>0</sup> C por 72 horas y con una balanza analítica se obtuvo el peso seco de raíz.

**Peso seco de Planta.** Para esta variable se colocó la parte aérea en fresco en una estufa de secado a 65<sup>0</sup> C por 72 horas y con ayuda de una balanza analítica se obtuvo el peso seco de esta.

**Biomasa de Planta.** Esta variable se obtuvo sumando el peso seco de las tres repeticiones de la planta más el peso seco de las tres repeticiones de la raíz.

## Diseño Experimental

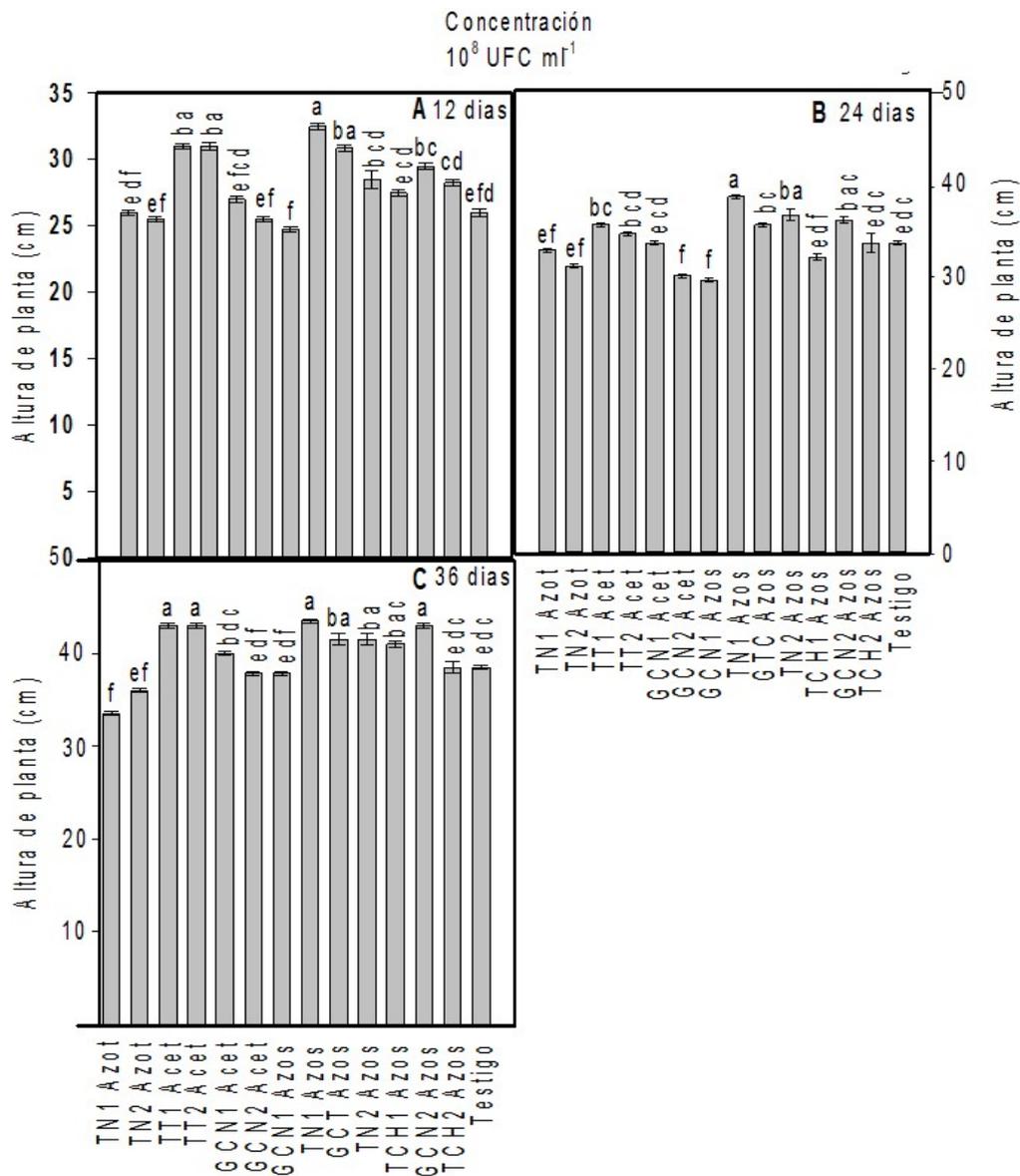
El diseño experimental utilizado fue un bloques completos al azar, con 14 tratamientos y 3 repeticiones. La unidad experimental consistió de un contenedor con una planta, separado a cada 25 cm. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias fue de acuerdo con Tukey ( $P \leq 0.05$ ) utilizando el programa SAS (Statistical Analysis Systems) versión 9.2.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Altura de Planta

Las cepas de bacteria que provocaron mejor altura de planta a los 12 días es *Azospirillum* TN1, y con 50% de N superando al testigo en un 20%, mientras que la cepa que menos efecto tuvo sobre la altura fue *Azospirillum* GCN1 (Figura 2 A), para el muestreo 2 (24 días) la mejor cepa fue *Azospirillum* TN1 con 50% de N superando al testigo con un 13% de incremento en la altura de la planta y las peores alturas se obtienen con la inoculación de las cepas *Acetobacter* GCN2 y *Azospirillum* GCN1 (Figura 2 B), finalmente para el muestreo 3 (36 días) las mejores alturas de planta se dan con la inoculación de las cepas *Acetobacter* TT1, *Acetobacter* TT2, *Azospirillum* TN1 y *Azospirillum* GCN2 con 50% de N las cuales superaron al testigo hasta en un 12%, mientras que el peor resultado se obtuvo con la inoculación de la cepa *Azotobacter* TN1 (Figura 2 C). De acuerdo a estos resultados la inoculación de la cepa *Azospirillum* TN1 con 50% de N es la cepa que mejor altura provoca en todo el ciclo de evaluación del cultivo. Lo anterior coincide con Nicolás *et al.*, (1997) quienes encontraron que al inocular cepas de *A. brasilenses* y *A. lipoferum* a concentraciones de  $10^8$  se mejoró la altura en plantas de tomate en comparación con las plantas testigo. Así mismo Terry *et al.* (2005) evaluaron bacterias benéficas en cultivo de tomate, encontrando que el género más abundante en la rizósfera era *Azospirillum* y que su inoculación

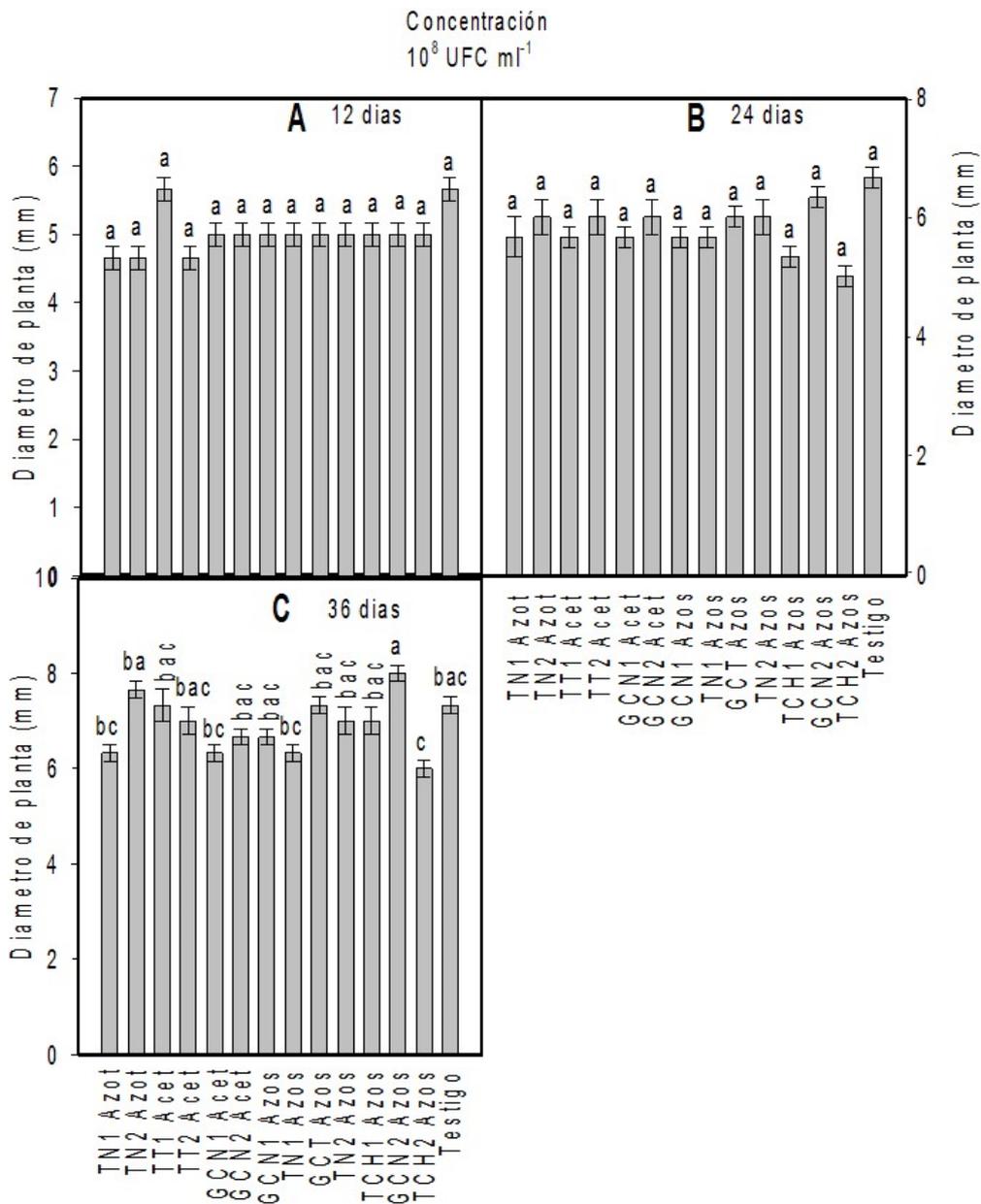
artificial tiene un efecto positivo ya que aumenta el tamaño de la planta; estos autores obtuvieron un rendimiento de un 11% más comparado con el testigo sin inocular.



**Figura 2.** Efecto de la inoculación de bacterias rizosfericas en la altura de planta. Las letras a, b y c son las categorías obtenidas de la comparación de medias con Tukey ( $\alpha \leq 0.005$ ). T=Torreón, GC= General Cepeda, N=Nopal, T=Tomate, CH= Chile, Azot=*Azotobacter sp*, Acet= *Acetobacter sp*, Azos=*Azospirillum sp*.

## Diámetro de Planta

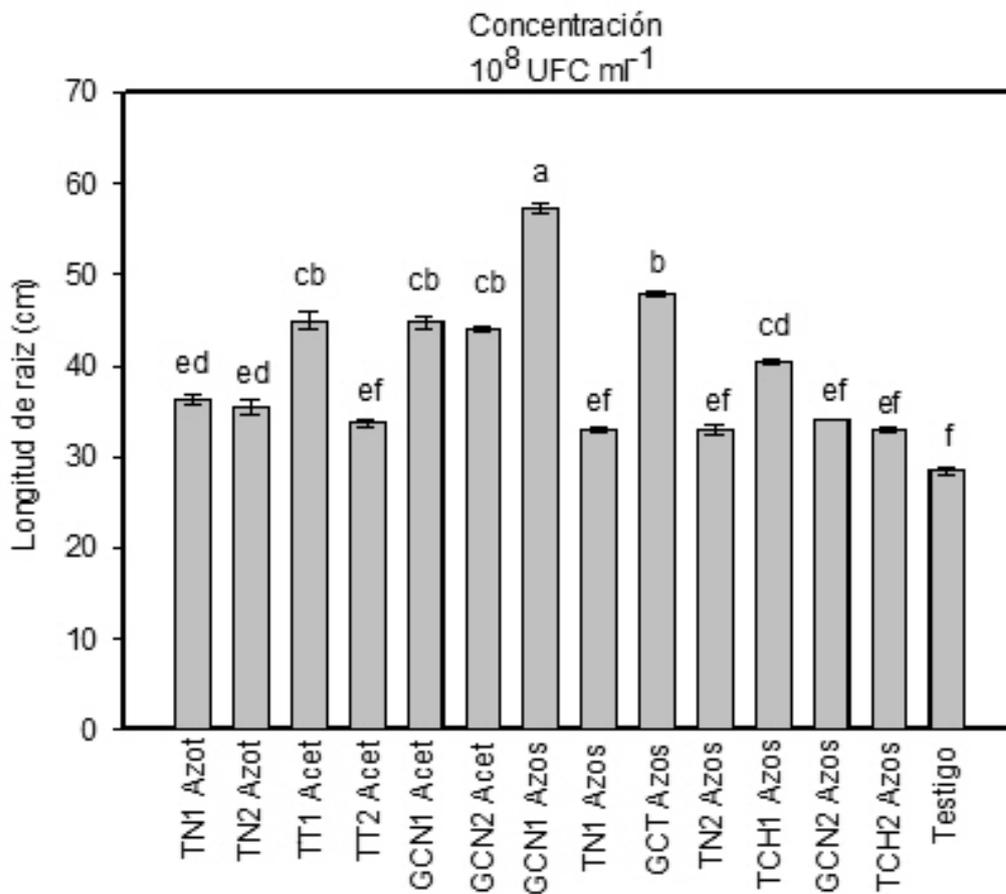
Para el primer muestreo de diámetro de planta de tomate no se presentan diferencias significativas (Figura 3 A). Con las diferentes cepas inoculadas de bacterias, este mismo efecto se presenta en el muestreo 2 (Figura 2 B), mientras que para el tercer muestreo la mejor cepa es la *Azospirillum* GCN2 con 50% de N la cual deja atrás al testigo en un rango de 9% (Figura 3 C), estos resultados concuerdan con Hernández y Chailloux (2004), quienes al inocular rizobacterias obtuvieron un mejor grosor de tallo, también estos autores mencionan que este grosor de tallo no solo es por efecto de las características genéticas del cultivo si no por la aplicación de estos organismos, finalmente el peor diámetro de tallo en el tercer muestreo se obtuvo con la inoculación de la cepa *Azospirillum* TCH2 con 50% de N, (Figura 3 C)



**Figura 3.** Efecto de la inoculación de bacterias rizosfericas en el diámetro de tallo. Las letras a, b y c son las categorías obtenidas de la comparación de medias con Tukey ( $\alpha \leq 0.005$ ). T=Torreón, GC=General Cepeda, N=Nopal, T=Tomate, CH=Chile, Azot=*Azotobacter* sp, Acet=*Acetobacter* sp, Azos=*Azospirillum* sp.

## Longitud de Raíz

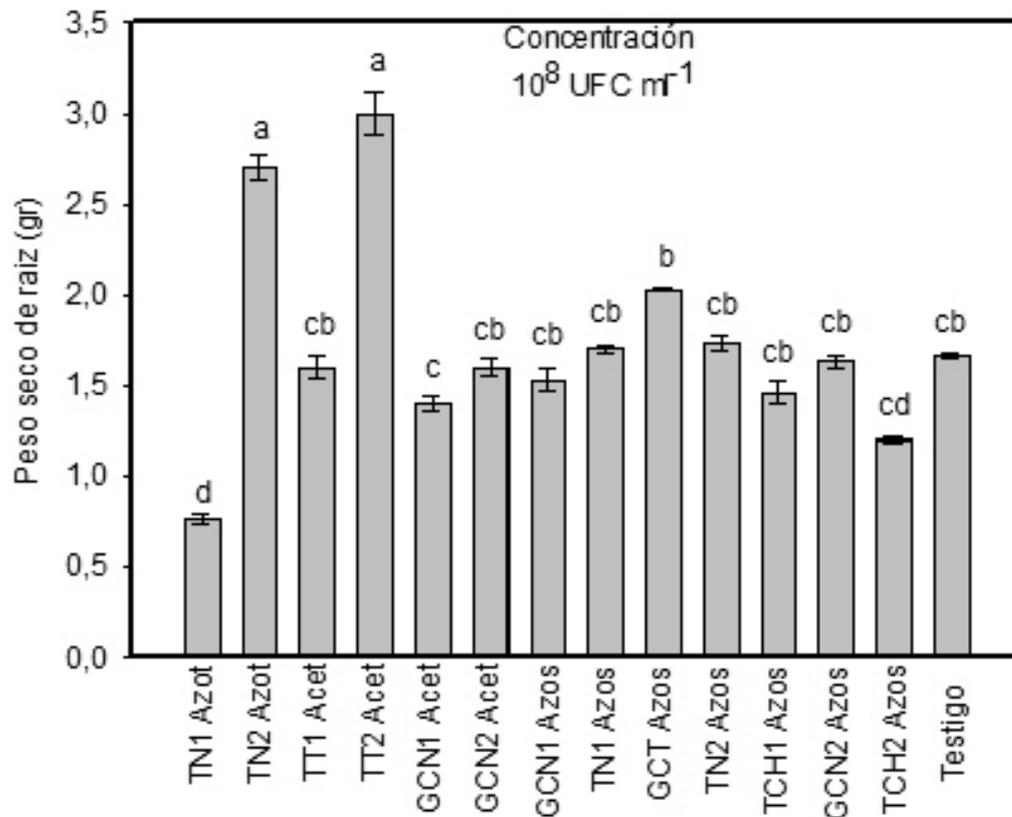
La mejor longitud de raíz alcanzo los 57cm de largo y se obtiene con la inoculación de la cepa *Azospirillum* GCN1 con 50% de N, superando al testigo que obtuvo el peor resultado hasta con un 50% (Figura 4). Con respecto a esto, (Toniutti y Fornasero, 2008) encontraron resultados similares ya que *A. brasilense* incrementó 82% la longitud radicular de las plantas de *S. lachnea* en comparación con las plantas no inoculadas. Por su parte (Greer-Philips *et al.*, 2004), mencionaron que especies de *Azospirillum brasilense* están asociadas con las raíces de muchos cultivos de importancia agrícola, como el trigo, el maíz y el arroz, y esta asociación promueve el crecimiento radicular de las plantas, por ello, estos microorganismos son atractivos para el desarrollo de biofertilizantes. Además otros autores como (Cura, J. *et al*, 2005) afirman que la inoculación de semilla de arroz con *Azospirillum* produce un mayor enraizamiento de las plantas, lo cual les permite explorar una mayor superficie de suelo.



**Figura 4.** Efecto de la inoculación de bacterias rizosfericas en la longitud de raíz. Las letras a, b y c son las categorías obtenidas de la comparación de medias con Tukey ( $\alpha \leq 0.005$ ). T=Torreón, GC= General Cepeda, N=Nopal, T=Tomate, CH= Chile, Azot=*Azotobacter sp*, Acet=*Acetobacter sp*, Azos=*Azospirillum sp*.

### **Peso seco de Raíz**

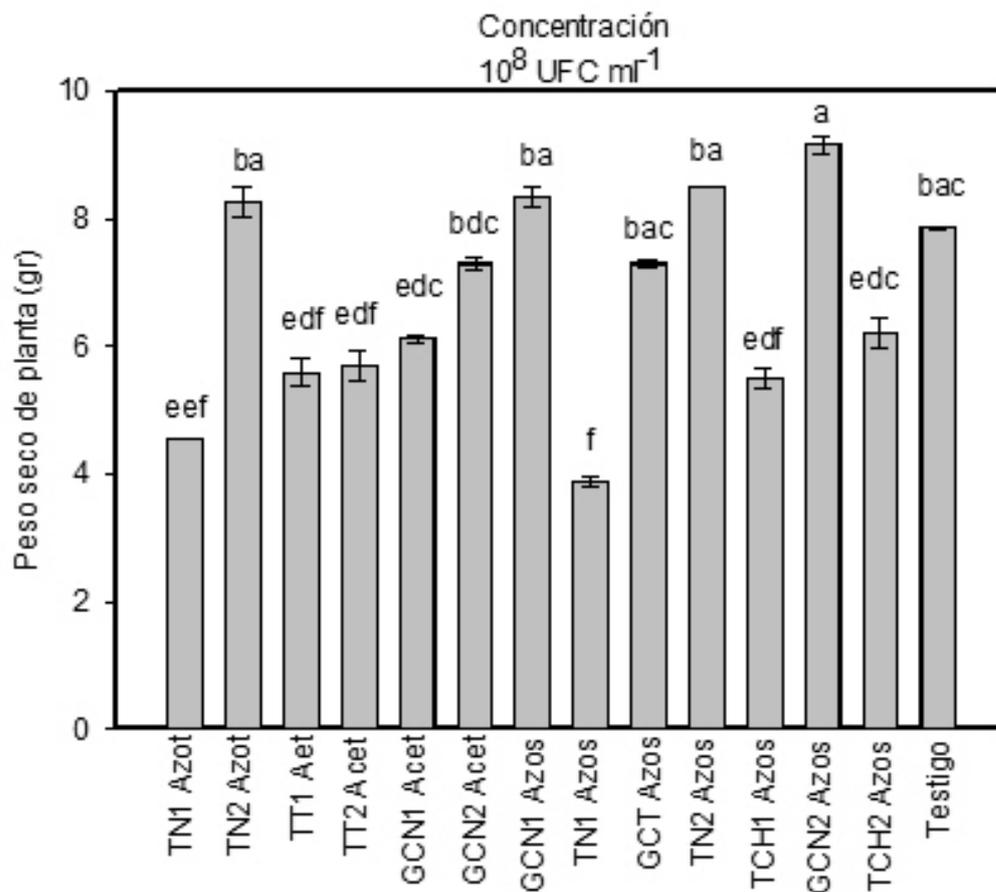
El mejor peso seco de raíz se obtiene con la inoculación de las cepas *Acetobacter* TT2 y *Azotobacter* TN2 con 50% de N las cuales superaron al testigo hasta en un 47%, (Figura 5). En este sentido autores como Borda *et al.* (2008), mencionan que el potencial de estas bacterias es fijar nitrógeno y producir ácido indolacético y esto promueve el incremento de la biomasa de la raíz. Además estos mismos autores agregan que las cepas nativas de rizobacterias como las que se evaluaron en este trabajo, influyen positivamente el desarrollo vegetativo de tomate cv. Río Grande en invernadero, observándose, incremento en el volumen radicular y peso seco de raíz. Así mismo, Borda *et al.* (2009) así como Lozada y Rivas (2010), concluyeron que *Azotobacter* es un fijador de nitrógeno de vida libre que promueve el crecimiento de raíces, lo que conlleva a un aumento en la concentración de materia seca. Así mismo la cepa que menos efecto tuvo sobre el peso seco de raíz fue la *Azotobacter* TN1 con 50% de N obteniendo un peso de .7gr (figura 5).



**Figura 5.** Efecto de la inoculación de bacterias rizosféricas en el peso seco de raíz. Las letras a, b y c son las categorías obtenidas de la comparación de medias con Tukey ( $\alpha \leq 0.005$ ). T=Torreón, GC=General Cepeda, N=Nopal, T=Tomate, CH=Chile, Azot=*Azotobacter* sp, Acet=*Acetobacter* sp, Azos=*Azospirillum* sp.

### **Peso seco de Planta**

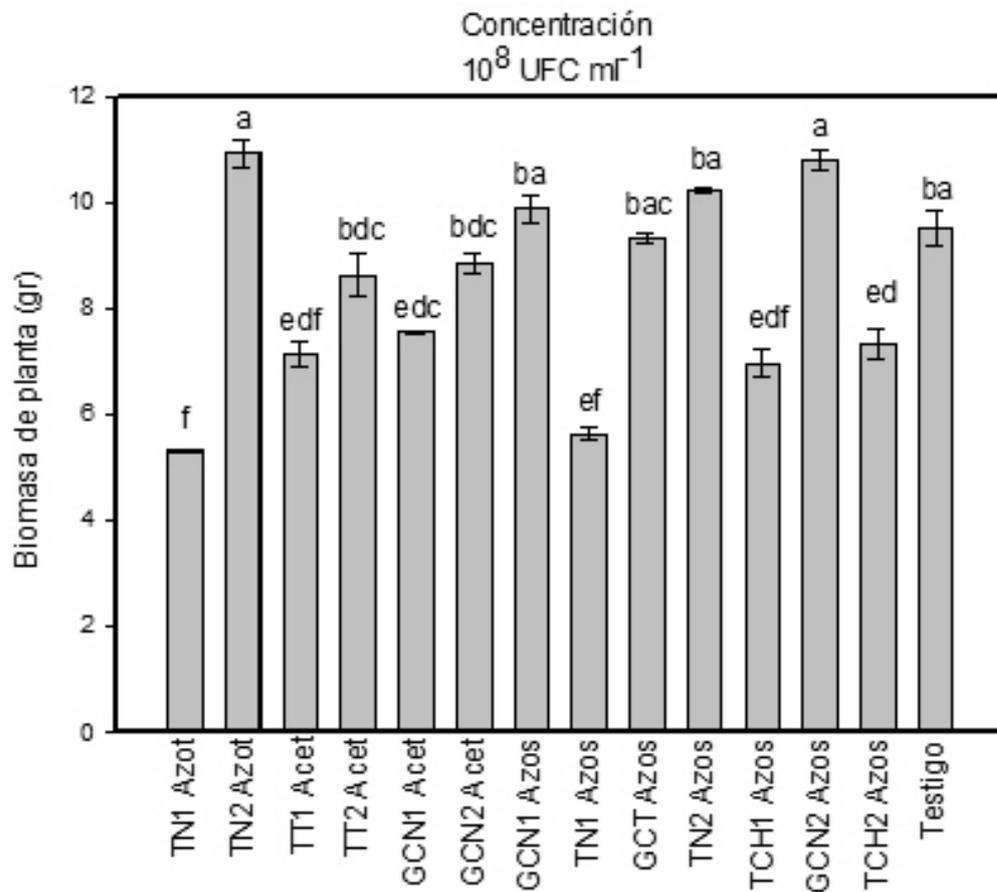
Para la variable peso seco de planta (Figura 6), se puede observar que la inoculación de la cepa *Azospirillum* GCN2, así como *Azospirillum* TN2, *Azospirillum* GCN1, y *Azotobacter* TN2, con 50% de N tienen efectos positivos sobre el peso seco de la planta dejando atrás al testigo con un 15%. Estos resultados coinciden con los de otros autores como Firpo *et al.* (2003), así como Murthy y Ladha (1988), y O'Hara *et al.*, (1987), quienes afirman que las bacterias del género *Azospirillum* promueven el desarrollo de la parte aérea y por lo tanto el aumento en peso seco. A su vez Fallik y Okon (1996), mostraron que las plantas de *S. italica* inoculadas con *A. brasilense* aumentaron un 47% el peso seco de sus panojas. Mientras que Bhaskara Rao y Churyulu (2005) hallaron igual comportamiento utilizando diferentes cepas de *A. lipoferum*. El peor peso seco de planta se obtuvo con la inoculación de la cepa *Azospirillum* TN1 con 50 % de N, (Figura 6).



**Figura 6.** Efecto de la inoculación de bacterias rizosféricas en el peso seco de planta. Las letras a, b y c son las categorías obtenidas de la comparación de medias con Tukey ( $\alpha \leq 0.005$ ). T=Torreón, GC=General Cepeda, N=Nopal, T=Tomate, CH=Chile, Azot=*Azotobacter sp*, Acet=*Acetobacter sp*, Azos=*Azospirillum sp*.

## Biomasa de Planta

Para la biomasa de planta (Figura 7), la cepa *Azotobacter* TN2, y *Azospirillum* GCN2 con 50% de N fueron las que obtuvieron los mejores resultados obteniendo un incremento de un 13% más que el testigo en la biomasa de la planta. Estos resultados son similares a los de Naiman *et al.* (2009), ya que al inocular *A. brasilense* en plantas de trigo registraron un aumento en la biomasa aérea con respecto a las plantas testigo. Por su parte Morón, J., (2005) citado por, Zayaz A *et al*, falta el año de este autor llevo a cabo una investigación para probar el efecto que causaba la inoculación de diferentes dosis de *Azotobacter chroococcum*, en parámetros morfofisiológicos y en el rendimiento del cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum, mil*), variedad "ISCAB-10", las cuales fueron sumergidas antes del trasplante en la solución *Azotobacter* por 30 min, en concentraciones de 10, 20, 30, 40 y 50% y observo que los mejores resultados se obtuvieron en los tratamientos con altas concentraciones de *Azotobacter chroococcum* encontrándose diferencias significativas al compararlas con las dosis bajas, intermedias y el control. Por lo que obtuvieron incrementos de la biomasa seca de las plantas y de la masa seca de la parte aérea. Con respecto a lo anterior Subbiah (1990) Al estudiar la interacción *Azospirillum brasilense*-nitrógeno en el cultivo de tomate encontró que la biomasa es mayor en los tratamientos inoculados. La cepa *Azotobacter* TN1 con 50 % de N (Figura 7) en este trabajo fue la que menor efecto tuvo sobre la biomasa de la planta.



**Figura 7.** Efecto de la inoculación de bacterias rizosfericas en la biomasa de planta. Las letras a, b y c son las categorías obtenidas de la comparación de medias con Tukey ( $\alpha \leq 0.005$ ). T=Torreón, GC=General Cepeda, N=Nopal, T=Tomate, CH=Chile Azot=*Azotobacter sp*, Acet=*Acetobacter sp*, Azos=*Azospirillum sp*.

## CONCLUSIONES

Se concluye que la aplicación de las cepas de *Azospirillum*, *Acetobacter* y *Azotobacter sp.* ( $10^8$  UFC ml<sup>-1</sup>) con el 50 % de N aumenta la altura de planta, en este caso la cepa que mayor altura provocó fue la *Azospirillum* TN1 Cepa de rizosfera de nopal Torreón, la cepa *Azospirillum* GCN2 Cepa de rizosfera de nopal, General Cepeda, incrementa el grosor de tallo, la cepa *Azospirillum* GCN1 Cepa de rizosfera de nopal, General Cepeda, mejora la longitud de raíz y las cepas *Azotobacter* TN2 Cepa de rizosfera de nopal, Torreón y *Azospirillum* GCN2 Cepa de rizosfera de nopal, General Cepeda aumentan la biomasa de plántula de tomate híbrido "Liberty Hazera". Pero también se recomienda llevar las plantas inoculadas hasta producción para obtener datos mucho más interesantes y dosificar más la aplicación de bacterias, para su mejor efecto posible.

## LITERATURA CITADA

- Aguilar, P. J., Xiqui, V. M., García, G. S., & Baca B. E. 2008. Producción de ácido Indol-3- acético en *Azospirillum*. Revista Lat Microbiología. 50: 29-37.
- Akello, J., Dubois, T., Coyne, D., & Kyamanywa, S. 2008. Effect of endophytic *Beauveria bassiana* on populations of the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* and their damage in tissue-cultured banana plants. Entomologia Experimentalis et Applicata 129:157-165.
- Alemán, Martínez., V. 2006. Efecto de los niveles de composta y hongo micorrízico arbuscular en el desarrollo y crecimiento de frijol *Phaseolus vulgaris* L. Tesis de Maestría. Universidad de Colima, Colima. México: p.10
- Armenta, B. A. D., G. C. García., B. J. R. Camacho., S. M. A., Apodaca, L. G. Montoya., & P. E. Nava. 2010. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. Ra-Ximhai 6: 51-56.
- Bhaskara -Rao, K. V. & Charyulu, P. 2005. Evaluation of effect of *Azospirillum* on the yield of *Setaria italica*. African Journal of Biotechnology. 4 (9): 989995.
- Bhat, J. B., E. S. Limayer y B. L. Vasantharajam. 1971. Ecology of the leaf surface microorganism. 322.
- Barbieri, P., T. Zanelli, E. Galli y G. Zanetti. 1986. Wheat inoculation with *Azospirillum brasilense* Sp6 and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid production. *FEMS Microbiol. Lett.* 36: 87-90.

- Barea, J. M. and M. E. Brown. 1974. Effect on plant growth produced by *Azotobacter paspali* related to synthesis of plant growth regulating substances. *J. Applied Bacteriol.* 37: 583-593.
- Bashan Y. 1986. Significance of timing and level of inoculation with rhizosphere bacteria on wheat plants. *Soil Biol. Biochem.* 18: 297-301.
- Bashan, Y. y H. Levanony. 1989. Wheat root tips as a vector for passive vertical transfer of *Azospirillum brasilense* Cd. *J. Gen. Microbiol.* 135: 2899-2908.
- Bashan, Y., S.K. Harrison y R.E. Whitmoyer. 1990. Enhanced growth of wheat and soybean plants inoculated with *Azospirillum brasilense* is not necessarily due to general enhancement of mineral uptake. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 769-775.
- Bashan, Y. & Holguin, G; 1997 *Azospirillum*- plant relationship: environmental and physiological advances. *Canadian Journal of Microbiology.* 43: 103-121.
- Bashan, Y. & G. Holguin. 1998. A proposal for the division of "plant growthpromoting rhizobacteria" into two classifications: biocontrol-plant growthpromoting bacteria and plant growth-promoting bacteria. *Soil Biol. Biochem.* 30: 1225-1228.
- Bashan, Y., Holguin, G. and de-Bashan, L.E. 2004. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Canadian Journal of Microbiology* 50: 521-577
- Bashan Y. & de Bashan, L. E. 2010. How the Plant Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum* Promotes Plant Growth-A Critical Assessment. Elsevier, 108: 77-136.

- Bashan Y., Trejo, A. & de-Bashan L. E. 2011. Development of two culture media for mass cultivation of *Azospirillum* sp. and for production of inoculants to enhance plant growth. *Biol Fertil Soils*. DOI 10.1007/s00374-011-0555-3. 1-7.
- Beijerinck, M.W. 1925. Über ein *Spirillum*, welches freien Stickstoff binden kann *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Abt. 2(63): 353-359.*
- Bhaskara Rao, K. V. & Charyulu, PBBN. 2005. Evaluation of effect of *Azospirillum* on the yield of *Setaria italica*. *African Journal of Biotechnology*. 4 (9): 989-995
- Borda M., D., Pardo-G., J. M., Martínez-S., M. M. & Montaña L., J. S. (2009) Producción de un biofertilizante a partir de un aislamiento de *Azotobacter nigricans* obtenido en un cultivo de *Stevia rebaudiana* Bert. *Universitas Scientiarum*, 14: 71-78.
- Borda, D. Pardo, J.; Martínez, M. Montaña, J. 2009. Producción de un biofertilizante a partir de un aislamiento de *Azotobacter nigricans* obtenido en un cultivo de *Stevia rebaudiana* Bert. *Revista Universitas Scientiarum* 14.
- Brasil, M., J.E. Baldani e V. Baldani. 2005. Ocorrência e diversidade de bactérias diazotróficas associadas a gramíneas forrageiras do pantanal sul matogrossense. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 29(2): 179-190.
- Bukatsh, F., K. Burger and M. Schliitter. 1956. Investigation into protein metabolism by derivatives. *Zentralbl. Bakt. Parasitenkd. Infektionskr. Abt. 11: 26-232.*
- Burdman, S. & Juvertich, E. 2000. Recent advances in the use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in agriculture. In: Subba Rao N. S.; and

Y.R Dommergues (eds) Microbial interactions in agricultura and forestry.65.229-250.

Burges, A. 1968. Introducción a la microbiología del suelo.1<sup>era</sup> Edición. Ed. La Habana. Cuba. 200p.

Carcaño-Montiel M. G., Ferrera-Cerrato R., Pérez-Moreno J., Molina-Galán J. D. & Bashan Y. 2006. Actividad nitrogenasa, producción de fitohormonas, sideróforos y antibiosis en cepas de *Azospirillum* y *Klebsiella* aisladas de maíz y teocintle. TERRA Latinoamericana, 24(4): 493-502.

Castellanos, J. Z. 2011. Manual de Producción de Tomate en Invernadero. Guanajuato, México: Intagri. Ocma. 1st ed., pp. 45–204

Cavalcante VA, Dobereiner J (1988). A new acidtolerant nitrogen-fixting bacterium associated with sugar cane. Plant and Soil 108: 23-31.

Caviglio, O. P., Melchiori, R.J.M., Kemerer, A., Van Opstal N.V. & Gregorutti V.C. 2004. Relaciones entre la eficiencia en el uso del nitrógeno y de la radiación en Maíz. INTA - EEA Paraná, 44: 7-12.

Coppola, S., G. Perdoco., A. Zaira e G. Picci. 1971. Citoquinine in germi terricoli e relativo significato nei raporte plante microorganismes. Annli Microbiol. 21. p. 45-53.

Corominas, J. 1990. Breve Diccionario Etimológico de la Lengua Castellana. Ed. Gredos. 23. Madrid, España.

- Cruz, B. L. 2007. Calidad de semilla de tomate (*Lycopersicum esculentum Mill*) por efecto de potenciales osmóticos, calcio y podas bajo condiciones de invernadero. Tesis (Doctorado en Ciencias, especialista en Producción de Semillas).-Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 177 p.
- Curá, J. A., Ribaudó, C. M., Gaetano, A. M., & Ghiglione, H. O. (2005). Utilidad de las bacterias promotoras del crecimiento y fijadoras de nitrógeno en el cultivo del arroz durante las primeras etapas de desarrollo. *Revista Foro Latinoamericano Arrocero*, 21, 10-13.
- Curtis, P. 1996. Aspectos de la morfología de Angiospermas cultivadas. Universidad Autónoma Chapingo. 134 pp.
- Debinstein, J. 1970. A. Tropical Rain Forest. John Wiley and Sons Ed., New York, 230 pp.
- Desai, B. Kotecho, M. y Salunkhe, D. 1997. Seeds handbook. Biology, production, processing and storage. Ed Marcel Dekker. New York, U.S.A. the composition of nutrient solutions for hydroponic cropping: practical use. *Acta Hort.* p. 627
- Döbereiner, J., I.E. Marriel y M. Nery. 1976. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. *Can. J. Microbiol.* 22: 1464-1473.
- Esquinas- Alcázar J. & F.V. Nuez. 2001. Situación taxonómica, domesticación y difusión del tomate. In: El cultivo del Tomate. F. Nuez. Mundi Prensa. 1<sup>ra</sup> edición. Madrid, España pp. 13-42

- Fallik, E., Y. Okon y M. Fischer. 1988. Growth response of maize roots to *Azospirillum* inoculation: Effect of soil organic matter content, number of rhizosphere bacteria and timing of inoculation. *Soil Biol. Biochem.* 20: 45-49.
- Faostat. 2013. Production Crops: Time-Series and Cross Sectional Data Relating to Food and Agriculture for Some 245 Countries. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Foolad, M. R. 2007. Genome mapping and molecular breeding of tomato. *International Journal of Plant Genomics*, (1): 52.
- Frobisher, M. 1969. Microbiología. Ed. Ciencia y Técnica, 4<sup>a</sup> edición. La Habana, Cuba. 743 pp.
- García, J.G., V.R. Moreno, I.C. Rodríguez, A. Mendoza y N. Mayek. 2006. Biofertilización con *Azospirillum brasilense* en sorgo, en el Norte de México. *Agricultura Técnica en México* 32(2): 135-141.
- Garza, L. 1985. Las hortalizas cultivadas en México, características botánicas. Departamento de Fitotecnia. UACh. Chapingo, México. p. 4.
- George, R. 1989. Producción de semillas hortícolas. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 173: 213-238 pp.
- George, R. 1999. Vegetable seed production. 2nd edition; CABI Publishing.UK at the at the University Press, Cambridge – E.U.U.328 p.

- González, J., V. Salmerón., M.O. Martínez., F. Ballesteros y A. Ramos. 1986. Production of auxins gibberelins and cytokinins by *Azotobacter vinelandii* ATCC 12837 in chemically defined media and dialysed soil media. *Soli Biol. Bioch.* 18: 119-120.
- Greer- Phillips S. E., Stephens B. B., & Alexandre Gladys. 2004. An Energy Taxis Transducer Promotes Root Colonization by *Azospirillum brasilense*. *J. Bacteriol.* 186 (19): 6595-6604.
- Guenkov, G. 1966. Fundamentos de la horticultura cubana. Ediciones ciencia y técnica. Instituto del libro. La Habana, Cuba. 110-130 pp.
- Hamdi, Y. A. 1985. La fijación del nitrógeno en la explotación de los suelos. *Boletín de Suelos. FAO. Roma.* 188 pp.
- Hernández, M., M. Pereira y M. Tang. 1994. Utilización de microorganismos Biofertilizantes en los cultivos tropicales. *Pastos y Forrajes.* 17 (3): 183 – 192.
- Hernández-Díaz M. I. & Chailloux-Laffita M. 2001. La nutrición mineral y la biofertilización en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum Mill*). *TEMA de ciencia y tecnología,* 15(13): 11-27.
- Hernández, M. I. & Chailloux. 2004. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como alternativa a la nutrición mineral del tomate. *Cultivos Tropicales* 25: 5-12.

- Hernández J. P., de-Bashan L. E., Rodríguez D. J., Rodríguez Y. & Bashan Y. 2009. Growth promotion of the freshwater microalga *Chlorella vulgaris* by the nitrogen-fixing, plant growth-promoting bacterium *Bacillus pumilus* from arid zone soils. *European Journal of Soil biology* 45: 88 – 93.
- Heulin, T., M. Rahman, A.M.N. Omar, Z. Rafidison, J.C. Pierrat & J. Balandreau. 1989. Experimental and mathematical procedures for comparing N<sub>2</sub>-fixing efficiencies of rhizosphere diazotrophs. *J. Microbiol. Meth.* 9:163-173.
- Hungria M., Campo R. J., Souza E. M. & Pedrosa Fabio O. (2010). Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. *Plant Soil.* 331:413–425.
- Hurek, T., B. Reinhold, E.G. Niemann & I. Fendrik. 1988. N<sup>2</sup>-dependent growth of *Azospirillum* spp. in batch cultures at low concentrations of oxygen. In: *Azospirillum IV: Genetics, Physiology, Ecology*, ed. W. Klingmüller. pp. 115-121. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Kapulnik, Y., S. Sarig, I. Nur y Y. Okon. 1983. Effect of *Azospirillum* inoculation on yield of field-grown wheat. *Can. J. Microbiol.* 29: 895-899.
- Larson, R. L. y L. J. Neal. 1978. Selective colonization of the rhizosphere of wheat by nitrogen fixing blue –green algae and asymbiotic bacteria. *Ecol. Bull.* 26. p. 331-342.
- Lee S, Reth A, Meletzus D, Sevilla M, Kennedy C (2000). Characterization of a major cluster of *nif*, *fix* and associate genes in a sugarcane endophyte, *Acetobacter diazotrophicus*. *Journal of Bacteriology* 182: 7088-7091.

- Lozada, L.; Rivas, C. 2010. Evaluación del efecto de la inoculación de *Azotobacter* spp. en plantas de ají dulce (*Capsicum frutescens*). Trabajo de grado Técnico Superior Agrícola. Universidad de los Andes, Trujillo.
- Lodewyckx, C., Vangronsveld, J., Porteous, F., Moore, ERB; Taghavi, S., Mezgeay, M. & van der Lelie, D. 2002. Endophytic bacteria and their potential applications. *Critical Reviews in Plant Sciences* 21(6): 583-606.
- Martínez, A., I. Chang e I. Alemán. 1985. Caracterización biológica de los principales suelos de Cuba. IV. Fijadores Asimbióticos de N atmosférico. *Ciencia de la Agricultura*. 25. pp. 77-86.
- Martínez, R. y B. Dibut. 1995. Beneficio de la utilización de los biofertilizantes en Cuba. *Memorias Primer Encuentro Internacional sobre Agricultura Urbana y su impacto en la alimentación de la Comunidad*. Habana. Cuba, 61-67 pp.
- Martínez, R., L. Toledo., R. García y C. Arguelles. 1999a. Introducción al conocimiento sobre los biofertilizantes. Documento en imprenta Universidad Tecnológica de la hausteca hidalguense Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT). CUBA, p. 19
- Martínez, V. y B. Dibut. 1996. Los biofertilizantes como pilares básicos de la Agricultura Sostenible. En *Curso-Taller Gestión Medio Ambiental de Desarrollo Rural*, 62-81 pp.
- Mayz-Figueroa, J. 2004. Fijación biológica de nitrógeno. *UDO Agrícola* 4(1):120.

- Mejía, G. 1995 Agricultura para la vida: movimientos alternativos frente a la agricultura química. Cali, Colombia: Feriva, 252 pp.
- Mishustin, E. N. and E. K. Silnikova. 1971. Biological fixation of atmospheric nitrogen. MC. Millan Ed. Londres. 675 pp.
- Montes, S.; Aguirre, J.R. 1992. Tomate de cascara (*Physalis philadelphica*). En: Hernández, J.E.; León, J. (Eds.) Cultivos marginados. Otra perspectivas de 1492. FAO, Roma: 115-120 pp.
- Naiman, A.D., A. Latrónico and I. García. 2009. Inoculation of wheat with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: Impacto on the production and culturable rhizosphere microbiota. European Journal of Soil Biology 45: 44-51.
- Nuez, F. 1995. El cultivo del tomate. Editorial Mundi-Prensa Libros Gandhi. ISBN: 84-7114549-9. México D.F. 797 pp.
- Núñez-Sosa, D. B., G. R. Liriano & C. C. López. 2005. Evaluación de biofertilizantes (*Azospirillum* y Micorrizas) y diferentes niveles de materia orgánica en bolsa y organóponico, en el cultivo de la zanahoria (*Daucus carota L.*). Centro Agrícola 32: 5-9
- Nuño, M. R., Ponce, M. J. F., Hernández, Z. C., Machain, S. G. M. 2007. Manual de producción de tomate rojo bajo condiciones de invernadero para el valle de Mexicali, Baja California. 34 p. Disponible en línea: <http://www.sfa.gob.mx/DESCARGAS/TomateInvernaderoMXL.pdf> (consulta julio 07, 2013).

- Okon, Y. y C.A. Labandera-González. 1994. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biol. Biochem.* 26: 1591-1601.
- Pajarito-Ravelero, A., J. & M. Ibarra-Flores. 2012. Uso de biofertilizantes en la producción de grano y forraje de maíz en Durango. Libro técnico Núm. 7.
- Premsekhar, M. & Rajashree, V. 2009. Influence of bio-fertilizers on the growth characters, yield attributes, yield and quality of tomato. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 3(1): 68-70.
- Rao, P. A. & Krishna, K. G. 2006 Plant growth-promoting rhizobacteria. En: Gnanamanickam SS (ed) *Plant- Associated Bacteria*. Springer The Netherlands. 195-230 pp.
- Raznitsina, E.A. 1938. Formación de factores de crecimiento del tipo auxinas por las bacterias. *Dokl. Akad. Nauk. SSR.* 18: 353-362.
- Rick, C. M. 1978. The tomato. *Sci. Amer.*, 239: 67-76
- Ridge, E. H. and Rovira, A.D. 1968. Microbiol. Inoculation of Wheat. 9th Congreso Int. de Ciencias del Suelo *Trans.* 3: 473-481.
- Rodríguez, R. Tavarez, R. y Medina, J. 1<sup>ra</sup> Edición, 1984. Cultivo moderno del tomate. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 206 pp.
- Rodríguez, R. Tavares, R. y Medina, 2001. Cultivo moderno del tomate. 2<sup>a</sup> Edición. Ediciones Mundi-Prensa. España. 255 pp.

- Rodríguez, R. R., J. M. Tavares R. & J. A. Medina J. 2001. Cultivo Moderno del Tomate Mundi-Prensa. Madrid, España. 255 pp.
- Rodríguez, Salazar. J. & Gabriel Iturriaga. 2009. Trehalose accumulation in *Azospirillum brasilense* improves drought tolerance and biomass in maize plants. Centro de Investigación en Biotecnología-UAEM, Cuernavaca, Morelos, México; and Centro de Ciencias Genómicas-UNAM, Cuernavaca, Morelos, México. Abril. FEMS Microbiol Lett 296 (2009) 52–5.
- Roesch, L.F.W., Camargo, F.A.O., Bento, F.M. & Triplett, E.W. 2008. Biodiversity of diazotrophic bacteria within the soil, root and stem of fieldgrown maize. *Plant and Soil* 302(1-2):91-104.
- Rojas., S. R. & Moreno., S. N. (2008) Producción y formulación de prototipos de un biofertilizante a partir de bacterias nativas asociadas al cultivo de arroz (*Oryza sativa*). *Revista Colombiana de Biotecnología*, 10: 50-62.
- Rubenchick, L. I. 1960. *Azotobacter* and its use in agriculture. 4<sup>a</sup> Edición 1960. Translated from Russian Published for The National Science Foundation, Washington D. C. US Dept. of commerce, Washington 25, D. C. p. 280
- Ruinen, J. 1975. Nitrogen fixation in the phyllosphere. Ed. W. D. P. Stewart. Cambridge University Press, Nueva york, EEUU. 85-100 pp.
- Ruíz, M., E. Armada, Y. Muñoz, I. García, R. Aroca, J.M. Ruíz and R. Azcón. 2011. *Azospirillum* and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice

growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. *Journal of Plant Physiology* 168(10): 1031-1037.

SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación), 2010. Monografía de cultivos "Jitomate", Subsecretaría de Fomento a los agronegocios. 10p. Disponible en línea: <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/pablo/Documentos/Monografias/Jitomate.pdf> (consulta abril 18, 2013)

Salgado-García, S., R. Núñez-Escobar. 2010. Manejo de fertilizantes Químicos y Orgánicos. 2010. Colegio de Posgraduados. Mundi-Prensa. México.

Santillana, V. N. 2006. Producción de biofertilizantes utilizando *Pseudomonas* sp. *Ecología Aplicada* 1-2: 87-91.

SIAP, (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) 2013. Cierre de la Producción Agrícola por Cultivo: Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentos.

Singh S., Rencha P.D. & Arun A. B. 2011. Glutamate wastewater as a culture medium for *Azospirillum* rugosum production and its impact on plant growth. *Biol. Fertil. Soils*. 47:419-426.

Smith, R.L., S.C. Schank, J.R. Milam y A.A. Baltensperger. 1984. Responses of *Sorghum* and *Pennisetum* species to the N<sub>2</sub>-fixing bacterium *Azospirillum brasilense*. *Appl. Environ. Microbiol.* 47: 1331-1336.

Subbiah, R. 1990. Nitrogen and *Azospirillum* interaction on fruit yield and nitrogen use efficiency in tomato. *South indian horticulture* 38 (6): 342-344.

- Suman A, Gaur A, Shrivastava AK, Yadav RL (2005). Improving sugarcane growth and nutrient uptake by inoculating *Gluconoacetobacter diazotrophicus*. Plant Growth Regulation 47: 155-162.
- Tarrand, J.J., N.R. Krieg & J. Döbereiner. 1978. A taxonomic study of the Spirillum lipoferum group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. Can. J. Microbiol. 24: 967-980.
- Terry, A. E., A. Leyva & A. Hernández. 2005. Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Revista Colombiana de Biotecnología 7: 47-54.
- Toniutti, M. A., & Fornasero L. V. 2008. Efecto de la inoculación de *Azospirillum brasilense* sobre el crecimiento y desarrollo de *Setaria Lachnea* (Nees) Kunth. Revista FAVE - Ciencias Agrarias, 7 (1-2):33-41.
- Uribe, G., J. Petit & R. Dzib. 2007. Mejoramiento en la eficiencia de fertilizantes químicos con biofertilizantes para producir maíz en suelo Alfisol (Chaclúum). Revista forestal venezolana. 51(01):9-14.
- Wien, H. 1997. The physiology of vegetable crops. 7<sup>th</sup> Edition. CAB International, London, UK. 651 pp.

## ANEXOS

**Cuadro (1A).**-Efecto de la inoculación de rizobacterias ( $10^8$ ufc ml<sup>-1</sup>) en altura y diámetro de plantas de tomate híbrido “Liberty Hazera.”

Bacteria	Altura 1 (cm)	Altura 2 (cm)	Altura 3 (cm)	Diámetro 1 (cm)	Diámetro 2 (cm)	Diámetro 3 (cm)
TN1 Azot	26.00 efd	32.76 efd	33.50 f	4.66 a	5,66 a	6,33 bc
TN2 Azot	25.50 ef	31.00 ef	36.00 ef	4.66 a	6,00 a	7,66 ba
TT1 Acet	31.00 ba	35.50 bc	43.00 a	5.66 a	5,66 a	7,33 bac
TT2 Acet	31.00 ba	34.50 bdc	43.00 a	4.66 a	6,00 a	7,00 bac
GCN1 Acet	27.00 efgd	33.50 edc	40.00 bdc	5.00 a	5,66 a	6,33 bc
GCN2 Acet	25.50 ef	30.00 f	37.83 edf	5.00 a	6,00 a	6,66 bac
GCN1 Azos	24.76 f	29.50 f	37.83 edf	5.00 a	5,66 a	6,66 bac
TN1 Azos	32.50 a	38.50 a	43.50 a	5.00 a	5,66 a	6,33 bc
GCT Azos	30.83 ba	35.50 bc	41.50 ba	5.00 a	6,00 a	7,33 bac
TN2 Azos	28.50 bcd	36.50 ba	41.50 ba	5.00 a	6,00 a	7,00 bac
TCH1 Azos	27.50 ecd	32.00 edf	41.00 bac	5.00 a	5,33 a	7,00 bac
GCN2 Azos	29.50 bc	36.00 bac	43.00 a	5.00 a	6,33 a	8,00 a
TCH2 Azos	28.26 cd	33.50 edc	38.50 edc	5.00 a	5,00 a	6,00 c
Testigo	26.00 efd	33.50 edc	38.50 edc	5.66 a	6,66	7,33 bac
Anova	0.0001	0.0001	0.0001	Ns	Ns	Ns
CV (%)	2.96	2.72	2.18	6.92	11.8	7.9

Ns, 0.005 y 0.001= no significativo y significativo. Anova= Análisis de varianza, CV= Coeficiente de variación. Las letras a, b y c son las categorías obtenidas de la comparación de medias de tukey ( $\alpha \leq 0.005$ ). T= Torreón, GC= General Cepeda, N= Nopal, T= Tomate, CH= Chile, Azot = *Azotobacter sp*, Acet= *Acetobacter sp*, Azos= *Azospirillum sp*.

**Cuadro (2A).** Efecto de la inoculación de rizobacterias ( $10^8$  ufc  $ml^{-1}$ ) sobre longitud de raíz, peso seco de raíz, peso seco de planta y biomasa de planta, en plantas de tomate Híbrido “Liberty Hazera”.

Bacteria $10^8$	Longitud de raíz (cm)	Peso seco de raíz (g)	Peso seco de planta (g)	Biomasa de planta (g)
TN1 Azot	36.33 ed	0.76 d	4.56 eef	5.30 f
TN2 Azot	35.50 ed	2.70 a	8.26 ba	10.92 a
TT1 Acet	45.00 cb	1.60 cb	5.60 edf	7.15 edf
TT2 Acet	33.76 ef	3.00 a	5.70 edf	8.63 bdc
GCN1 Acet	44.76 cb	1.40 c	6.13 edc	7.54 edc
GCN2 Acet	44.00 cb	1.60 cb	7.30 bdc	8.84 bdc
GCN1 Azos	57.26 a	1.53 cb	8.36 ba	9.87 ba
TN1 Azos	33.00 ef	1.70 cb	3.90 f	5.63 ef
GCT Azos	48.00 b	2.03 b	7.30 bdc	9.32 bac
TN2 Azos	33.00 ef	1.73 cb	8.50 ba	10.23 ba
TCH1 Azos	40.50 cd	1.46 cb	5.50 edf	6.96 edf
GCN2 Azos	34.00 ef	1.63 cb	9.16 a	10.81 a
TCH2 Azos	33.00 ef	1.20 cd	6.20 edc	7.34 ed
Testigo	28.50 f	1.66 cb	7.86 bac	9.51ba
ANOVA	0.0001	0.0001	0.0001	
CV (%)	5.50	11.99	9.13	

Ns, 0.005 y 0.001= no significativo y significativo. Anova= Análisis de varianza, CV= Coeficiente de variación. Las letras a, b y c son las categorías obtenidas de la comparación de medias de tukey ( $\alpha \leq 0.005$ ). T= Torreón, GC= General Cepeda, N= Nopal, T= Tomate, CH= Chile, Azot = *Azotobacter sp*, Acet= *Acetobacter sp*, Azos= *Azospirillum sp*.

**Cuadro 3A.** Análisis de varianza para la variable altura de planta 1 con la aplicación de *Acetobacter*, *Azotobacter* y *Azospirillum sp*, en plantas de tomate saladette híbrido “Liberty Hazera” en invernadero.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F- Valor	Pr>F
Trat.	15	244.2795238	16.2853016	23.45	<.0001
Error	26	18.0538095	0.6943773		
Total Correcto	41	262.3333333			

**Cuadro 4A.** Análisis de varianza para la variable altura de planta 2 con la aplicación de *Acetobacter*, *Azotobacter* y *Azospirillum sp*, en plantas de tomate saladette híbrido “Liberty Hazera” en invernadero.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F- Valor	Pr>F
Trat.	15	267.7357143	17.8490476	21.28	<.0001
Error	26	21.8033333	0.8385897		
Total Correcto	41	289.5390476			

**Cuadro 5A.** Análisis de varianza para la variable altura de planta 3 con la aplicación de *Acetobacter*, *Azotobacter* y *Azospirillum sp*, en plantas de tomate saladette híbrido “Liberty Hazera” en invernadero.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F- Valor	Pr>F
Trat.	15	288.0476190	19.2031746	25.14	<.0001
Error	26	19.8571429	0.7637363		
Total Correcto	41	307.9047619			

**Cuadro 6A.** Análisis de varianza para la variable diámetro de tallo 1 con la aplicación de *Acetobacter*, *Azotobacter* y *Azospirillum sp*, en plantas de tomate saladette híbrido “Liberty Hazera” en invernadero.

<b>Fuente</b>	<b>DF</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrado de la media</b>	<b>F- Valor</b>	<b>Pr&gt;F</b>
Trat.	15	3.833333333	0.255555556	2.11	0.0455
Error	26	3.14285714	0.12087912		
Total Correcto	41	6.97619048			

**Cuadro 7A.** Análisis de varianza para la variable diámetro de tallo 2 con la aplicación de *Acetobacter*, *Azotobacter* y *Azospirillum sp*, en plantas de tomate saladette híbrido “Liberty Hazera” en invernadero.

<b>Fuente</b>	<b>DF</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrado de la media</b>	<b>F- Valor</b>	<b>Pr&gt;F</b>
Trat.	15	9.40476190	0.62698413	1.31	0.2638
Error	26	12.42857143	0.47802198		
Total Correcto	41	21.83333333			

**Cuadro 8A.** Análisis de varianza para la variable diámetro de tallo 3 con la aplicación de *Acetobacter*, *Azotobacter* y *Azospirillum sp*, en plantas de tomate saladette híbrido “Liberty hazera” en invernadero.

<b>Fuente</b>	<b>DF</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrado de la media</b>	<b>F- Valor</b>	<b>Pr&gt;F</b>
Trat.	15	18.92857143	1.26190476	4.18	0.0007
Error	26	7.85714286	0.30219780		
Total Correcto	41	26.78571429			

**Cuadro 9A.** Análisis de varianza para la variable longitud de raíz con la aplicación de *Acetobacter*, *Azotobacter* y *Azospirillum sp*, en plantas de tomate saladette híbrido “Liberty Hazera” en invernadero.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F- Valor	Pr>F
Trat.	15	2414.890714	0.84766667	19.98	<.0001
Error	26	120.093333	0.04243590		
Total Correcto	41	2534.984048			

**Cuadro 10A.** Análisis de varianza para la variable peso seco de raíz con la aplicación de *Acetobacter*, *Azotobacter* y *Azospirillum sp*, en plantas de tomate saladette híbrido “Liberty Hazera” en invernadero.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F- Valor	Pr>F
Trat.	15	12.71500000	160.992714	34.85	<.0001
Error	26	1.10333333	4.618974		
Total Correcto	41	13.81833333			

**Cuadro 11A.** Análisis de varianza para la variable peso seco de planta con la aplicación de *Acetobacter*, *Azotobacter* y *Azospirillum sp*, en plantas de tomate saladette híbrido “Liberty Hazera” en invernadero.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F- Valor	Pr>F
Trat.	15	100.6902381	6.7126825	17.72	<.0001
Error	26	9.8509524	0.3788828		
Total Correcto	41	110.5411905			

