

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA



Efecto de Cepas de *Azospirillum* sp. en Germinación y Vigor de Semilla de Chile
Serrano (*Capsicum annuum* L.)

Por:

NOELIA TRINIDAD BARTOLÓN PÉREZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila, México

Mayo del 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Efecto de Cepas de *Azospirillum* sp. en Germinación y Vigor de Semilla de Chile
Serrano (*Capsicum annuum* L.)

Por:

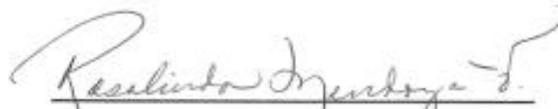
NOELIA TRINIDAD BARTOLÓN PÉREZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal

Asesor Principal



Dr. Marcelino Cabrera De La Fuente

Coasesor



M.P. María Alejandra Torres Tapia

Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de la División de Agronomía



Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Mayo del 2016

DEDICATORIAS

Este trabajo va dedicado con mucho esmero, amor y cariño a todos los seres que han sido un pilar importante en mi vida, principalmente:

A mis padres: que me formaron como persona, a mi madre con todo mi amor, admiración y cariño , le dedico uno de mis logros ya que no tengo como pagarle todo su esfuerzo brindado, por su valentía, por sus consejos y por saber ser fuerte ante cualquier obstáculo de la vida.

A mis hermanos queridos: Yovani, Melquiades ,Gustavo, Cristi, Ever, Meralida, Sergio y Ximenita, a ustedes por estar conmigo siempre, por enseñarme muchas cosas y por dejarme aprender de ustedes, por los momentos convividos a su lado, y porque con ustedes quiero compartir mis triunfos, mis tristezas y alegrías. ¡Los quiero mucho!.

A mis **sobrinos**, Kevin, Cindy, Axcel, Nelsy, Micely, Alan y “Tavito” el que esta próximo en llegar, por ser una bendición de Dios para la familia y por ser parte de esos lindos momentos que se pasan en familia

A mis **padrinos**, Eustacia Pérez Roblero y Fausto Bravo, por ser un ejemplo de personas, por sus sabios consejos, humildad y sencillez.

A todos mis familiares que siempre me brindaron su apoyo y han influido en mi formación personal y profesional.

¡Hago de este triunfo compartido, ya que el logro no es solo mío sino también de ustedes!

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a **Dios**, por darme el don de la vida, la sabiduría, el entendimiento, la perseverancia y la valentía para luchar con coraje y lograr un éxito más en mi vida, porque ha estado conmigo en todo momento y ha sido mi fiel amigo, por poner a mi paso a personas maravillosas que le dieron pauta a mi vida.

A mi Alma Mater (**Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**), por darme cobijo y sustento durante mi estancia en ella, por formarme como persona y profesionalmente y por darme la oportunidad de ser una Buitre Por Siempre.

A **mi familia**, por todo el amor brindado en todas las etapas de mi vida, por su apoyo, comprensión y por creer en mí, principalmente por ser mi inspiración de superación.

A la **Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal**, por la orientación y supervisión en la elaboración de éste trabajo de investigación, así también por su disposición y paciencia durante el proceso. Gracias por brindarme parte de su sabiduría.

A la **M.P. Alejandra Torres Tapia**, por su valioso apoyo en la realización del experimento y la revisión del presente trabajo.

Al **Dr. Marcelino Cabrera de La Fuente**, por su apoyo y colaboración en la realización del presente trabajo.

A la **T.A. Martina de la Cruz Casillas**, por su apoyo, amistad y tiempo brindado durante la realización de este trabajo.

A mis maestros que me formaron durante mi carrera profesional, a quien les debo gran parte de mis conocimientos.

Al **M.C. Lino Ramírez**, por su amistad y orientación durante la elaboración de este trabajo.

A mis amigos de la Carrera de Horticultura generación CXX, por compartir sus conocimientos, consejos y experiencias durante el tiempo que permanecemos en la universidad, Ángeles Flores, Cristabel Elías, Liliana de la Cruz, Yayo, Toñito, Said, Ángeles Aguilar, Michel, Dalí Arellano, Manuel (Burris). Me es difícil nombrarlos a

todos, pero tengan en cuenta que los mejores momentos y las mejores personas se llevan en lo más profundo del corazón.

Al **Ing. Isaías Amílcar García Morales (Chiquis)**, por su apoyo brindado durante la realización de este trabajo, por ser parte de esto y de mi vida, por su amor, paciencia y comprensión. ¡Eternamente, Gracias!

A todas las personas que han formado una parte importante en mi vida, por sus ánimos, sabios consejos y palabras de aliento en los momentos difíciles y que han sido de gran apoyo en mi vida personal, C.P. Héctor Moreno, Ing. José Luis García, Kary P. Díaz, Rony, Erika, Doña Olgui.

Desarrolla una actitud de gratitud y da las gracias por todo lo que te sucede, sabiendo que cada paso adelante es un paso hacia el logro de algo más grande y mejor que tu situación actual.

-Brian Tracy

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Producción de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas, del Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (U AAAN). El trabajo tuvo como objetivo de evaluar el efecto de la inoculación en semillas de chile serrano *Capsicum annum* L. variedad tampiqueño 74, con diferentes cepas de *Azospirillum*, las cuales fueron aisladas en General cepeda y Torreón, Coahuila, en cultivos de nopal y tomate. Se establecieron 13 tratamientos, incluyendo el testigo, con 4 repeticiones cada uno, se usaron 25 semillas por repetición, la bacteria *Azospirillum* se uso a una concentración de 10^7 UFC ml^{-1} , las semillas se imbibieron por un tiempo de 2 horas, llevando un tiempo de prueba de germinación de 14 días, las variables evaluadas fueron Índice de Velocidad de Emergencia (IVE), Longitud Media de Hipocotilo (LMH), Longitud Media de Radícula (LMR) y Peso Seco (PS), todos los anteriores para medir el vigor, para medir germinación estándar se cuantificaron Plántulas Normales (PN), Plántulas Anormales (PA) y Semillas Sin Germinar (SSG), obteniendo que para el vigor las mejores cepas fueron las aisladas en nopal en general cepeda, mientras que para la germinación las mejores cepas fueron las aisladas en general cepeda en nopal y tomate

Palabras clave; *Azospirillum*, inoculación, germinación, Chile Serrano.

Correo electrónico; Noelia Trinidad Bartolón Pérez, bart_noe@hotmail.com

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIAS	I
AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN	IV
ÍNDICE DE CONTENIDO	V
ÍNDICE DE CUADROS	VI
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivo:.....	2
1.2 Hipótesis:	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Género <i>Azospirillum sp.</i>	3
2.2 Generalidades del chile serano (<i>Capsicum annuum L.</i>)	10
III. MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1 Localización del experimento	16
3.2 Descripción del experimento	16
3.3 Descripción de tratamientos.....	16
3.4 Preparación del medio de cultivo NFB.....	17
3.5 Fase de incubación.....	18
3.6 Diluciones de cepas.....	18
3.7 Siembra	18
3.8 Conteo de colonias.....	18
3.9 Inoculación de la bacteria <i>Azospirillum sp.</i> en semilla de chile serrano (<i>Capsicum annuum L.</i>) var. Tampiqueña 74.	19
3.10 Siembra de semillas de chile <i>Capsicum annuum L.</i>	19
3.11 Condiciones de germinación.....	19
3.12 Variables evaluadas	19
3.13 Diseño experimental.....	21
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
V. CONCLUSIONES.....	27
VI. LITERATURA CITADA	28
VII. APÉNDICE.....	40

ÍNDICE DE CUADROS

cuadro 1. Valores nutritivos del chile serrano (Castaños, 1993).....	15
Cuadro 2. Cepas de <i>Azospirillum</i> sp. utilizadas para inocular chile serrano (<i>Capsicum annum</i> L.) Var. Tampiqueño 74.	16
Cuadro 3. Reactivos para preparación de medio de cultivo NFB, solución semisólido y solido.....	17
Cuadro 4. Prueba de comparación de medias (Tukey $P \leq 0.05$) para germinación de chile serrano, var. tampiqueña 74, en tres días de evaluación.	22
Cuadro 5. Prueba de comparación de medias (Tukey $P \leq 0.05$) para evaluación de plántulas normales en dos conteos, tomando como primer conteo el día número 7 de germinación y el segundo conteo a los 14 días de germinación.....	23
Cuadro 6. Prueba de comparación de medias para las variables plantas anormales (PA), semillas sin germinar (SSG), longitud de tallo(LT), longitud de raíz(LR) y peso seco(PS), las cuales se evaluaron a los 14 días de germinación.	25
Cuadro 7. Análisis de varianza para índice de velocidad de emergencia (IVE), para el día número 3 de germinación..	40
Cuadro 8. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 4 de germinación.	40
Cuadro 9. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 5 de germinación.	40
Cuadro 10. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 6 de germinación.	41
Cuadro 11. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 7 de germinación.	41
Cuadro 12. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 8 de germinación.	41
Cuadro 13. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 9 de germinación.	42
Cuadro 14. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 10 de germinación.....	42
Cuadro 15. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 11 de germinación.....	42
Cuadro 16. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 12 de germinación.....	43
Cuadro 17. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 13 de germinación.....	43
Cuadro 18. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 14 de germinación.....	43
Cuadro 19. Análisis de varianza para plantas normales (PN), en un primer conteo a los 7 días de germinación.	44

Cuadro 20. <i>Análisis de varianza para plantas normales (PN), en un segundo conteo a los 14 días de germinación.</i>	44
Cuadro 21. <i>Análisis de varianza para plantas anormales (PA), en un primer conteo a los 14 días de germinación.</i>	44
Cuadro 22. <i>Análisis de varianza para semillas sin germinar (SSG), en un primer conteo a los 14 días de germinación.</i>	45
Cuadro 23. <i>Análisis de varianza para la variable longitud de tallo (LT), en una primera evaluación a los 14 días de germinación.</i>	45
Cuadro 24. <i>Análisis de varianza para longitud de raíz (LR), en una primera evaluación a los 14 días de germinación.</i>	45
Cuadro 25. <i>Análisis de varianza para peso seco (PS), en una primera evaluación a los 14 días de germinación.</i>	46

I. INTRODUCCIÓN

México es considerado centro de origen del chile (*Capsicum annuum* L.) (ASERCA, 1998), el cual se encuentra ampliamente distribuido en toda la República Mexicana. La gran diversidad de esta especie tanto en forma, tamaño, color, sabor, grado de pungencia ó picor ha generado variación en usos y procesos asociados a las diferentes regiones de producción.

El chile es una de las especies hortícolas de mayor importancia ya que se siembran alrededor de 1.72 millones de hectáreas con esta hortaliza a nivel mundial (FAO, 2008). En México, el serrano es de los favoritos para su consumo principalmente en fresco mediante la elaboración de salsas, el consumo por habitante es el mayor a nivel mundial con 7.1 kg por año (Rincón y Zavala, 2000). El chile serrano se produce comercialmente en regiones del país que cubren un amplio rango de condiciones ambientales desde el trópico húmedo, trópico seco, templado y semiárido, por lo cual se tiene abasto de frutos frescos a los centros de consumo del país durante todo el año.

Para que el sistema de producción de chile serrano sea sustentable y orgánico, se deben reducir las aplicaciones de fertilizantes, por tal motivo, es conveniente contar con metodologías o aplicaciones de origen natural como por ejemplo las compostas que equilibren la nutrición del cultivo (Nieto-Garibay *et al.*, 2002; la rotación de cultivos con leguminosas (Herencia *et al.*, 2011), o el uso de microorganismos del suelo que favorezcan la sustentabilidad del sistema de producción.

Actualmente se usan fertilizantes químicos para incrementar los rendimientos de los distintos sistemas de producción agrícola, sin embargo el costo de estos fertilizantes es muy elevado por lo que el productor tiene que invertir entre el 10 y el 25% de su producción total (Salgado-García y Núñez-Escobar, 2010). Además de degradar los recursos naturales (Santillana, 2006). Por lo que es necesario fomentar el uso y manejo de otras alternativas en los sistemas de cultivo como son los biofertilizantes, ya que constituyen un componente vital de sistemas sostenibles, son económicos además de reducir insumos externos y mejorar la calidad de los recursos externos (Mejía, 1995). La biofertilización en plantas con la bacteria *Azospirillum* sp. puede

promover el crecimiento y desarrollo vegetal (Luna *et al.*, 2013), además, mediante la fijación biológica de nitrógeno logra reducir el uso de fertilizantes químicos y la contaminación ambiental (Shankar *et al.*, 2011).

La interacción *Azospirillum*-planta se ha considerado como una asociación simbiótica mutualista que afecta a una gran diversidad de plantas de diferentes familias botánicas, sin embargo, no se ha definido el mecanismo principal por medio del cual se promueve el crecimiento o mejora de las plantas, no obstante, se han propuesto diversos mecanismos entre los más estudiados se encuentran: la fijación de nitrógeno atmosférico, efectos hormonales, incremento en el crecimiento del sistema completo de raíces, alteración del funcionamiento de la membrana y también se ha sugerido que este efecto puede deberse a la adición de todos los mecanismos antes mencionados (Bashan y de-Bashan, 2010).

1.1 Objetivo:

Inocular semillas de chile serrano *Capsicum annuum* L. variedad tampiqueño 74, con diferentes cepas de *Azospirillum sp.* para seleccionar la que promueve mayor germinación y vigor.

1.2 Hipótesis:

Al menos uno de las cepas inoculadas de *Azospirillum sp.* incrementará la germinación y el vigor de las semillas de *Capsicum annuum* L. variedad tampiqueño 74.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Género *Azospirillum* sp.

Las bacterias promotoras de crecimiento en plantas (BPCP) son un grupo de diferentes especies que pueden incrementar el crecimiento y productividad vegetal. Entre los organismos más conocidos están las especies pertenecientes a los géneros *Rhizobium*, *Pseudomonas*, y *Azospirillum*, que pueden clasificarse en dos grupos:

(a) Bacterias promotoras de crecimiento en plantas, donde la bacteria afecta a las plantas suprimiendo otros microorganismos. Los mecanismos que estas bacterias utilizan pueden ser a través de su propio metabolismo (solubilizando fosfatos, produciendo hormonas o fijando nitrógeno), afectando directamente el metabolismo de la planta (incrementando la toma de agua y minerales), mejorando el desarrollo radicular, incrementando la actividad enzimática de la planta o “ayudando” a otros microorganismos benéficos para que actúen de mejor manera sobre las plantas (Bashan y Holguin, 1998). (b) Bacterias promotoras de crecimiento en plantas con capacidad de control biológico, las cuales promueven el crecimiento de la planta al suprimir los fitopatógenos.

2.1.1 Historia

La primera especie de *Azospirillum* sp. se aisló en Holanda por Beijerinck (Beijerinck, 1925) a partir de suelos arenosos pobres en nitrógeno, y originalmente se llamó *Spirillum lipoferum*. Esta bacteria posteriormente se aisló de suelo adherido a pastos marinos secos en Indonesia (Schroder, 1932; H.C. Derx, sin publicar, 1949, citado en Becking, 1982) y Döbereiner y colaboradores (Beijerinck, 1925) aislaron la bacteria, siendo los primeros en reportar su amplia distribución en la rizosfera de diversos pastos tropicales. Desde entonces, se han aislado cepas de *Azospirillum* sp. a partir de la filosfera (superficie de la planta que se encuentra expuesta al aire) (Agarwala, 1992; Becking, 1982; Singh, 1992) de raíces de numerosos pastos (silvestres y cultivados), cereales y de plantas de diversas familias, así como de suelos tropicales, subtropicales, templados y árticos.

Tarrand, (1978) propusieron a *Azospirillum sp.* como género con base en diferencias morfológicas y fisiológicas entre varias cepas y en experimentos sobre homología del ADN (Falk *et al.*, 1986) distinguiendo dos especies: *Azospirillum brasilense* y *A. lipoferum*, las cepas más aisladas en los últimos años (Krieg y Döbereiner, 1986).

2.1.2 Distribución

Azospirillum sp. presenta una amplia distribución geográfica, a pesar de ser más abundante en regiones tropicales, se encuentra en regiones desérticas, frías y templadas (Dobereiner *et al.*, 1976), La presencia de *Azospirillum sp.* depende en gran medida del pH del suelo, por ejemplo, las especies de *A. brasilense* y *A. lipoferum* se encuentran en suelos con pH cercanos a la neutralidad, aún cuando el pH se encuentra por debajo de 5 se encuentran en forma esporádica, pero en pH menor de 4.5 no se logra encontrar presencia (Döbereiner *et al.*, 1976. Döbereiner, 1978. New *et al.*, 1989). En suelos, *Azospirillum brasilense* es beneficiada en su sobrevivencia por factores abióticos como porcentaje de arcilla, materia orgánica, capacidad de retención de agua y contenido de nitrógeno (Bashan *et al.*, 1995), pero la alta concentración de carbonatos de calcio afecta negativamente su sobrevivencia.

2.1.3 Clasificación taxonómica

Taxonómicamente según la novena edición del Manual Bergey's de Bacteriología Sistemática (Holt *et al.*, 1994) *Azospirillum.* pertenece a:

Dominio:	Bacteria
División:	Proteobacterias
Clase:	Alphaproteobacterias
Orden:	Rhodospirillales

Familia: Rhodospirillaceae
Género: *Azospirillum*
Especies: *A. lipoferum*, *A. brasilense*, *A. amazonense*, *A. halopraeferans*, *A. irakense*, *A. largimobile*, *A. doebereineriae*, *A. oryzae*, *A. melinis*, *A. zaeae*, *A. canadense* y *A. rugosum*.

2.1.4 Identificación

Azospirillum sp. pertenece a la subclase alfa de las proteobacterias, con forma de vibroide, pleomorfismo y movilidad en espiral (Döbereiner, 1992). Presentan gránulos intercelulares de poli - β - hidroxibutirato, posee un flagelo polar y pertenece al grupo de bacterias Gram negativas y Gram variables (Tarrand *et al.*, 1978). Al ser vistas en el microscopio presentan forma de bacilos ligeramente curvados, con 1 μ m de diámetro celular, móviles, además son microaerofílicas y crecen en pH de 6.8 a 7.8 (Madigan, *et al.*, 1999).

2.1.5 *Azospirillum sp.*

Desde su re-descubrimiento por Döbereiner y colaboradores (Döbereiner *et al.*, 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).

Además de su aplicación directamente en agricultura, *Azospirillum sp.* se ha convertido en un excelente modelo para los estudios genéticos de bacterias asociadas a plantas en general. El mayor volumen de literatura sobre *Azospirillum sp.* consiste en estudios genéticos en casi todos los aspectos de la bacteria, y su asociación con las plantas. Debido a esto, *Azospirillum sp.* constituye la piedra

angular de las investigaciones relacionadas con la rizosfera, a pesar de su cuestionable aplicación en campo. Adicionalmente, aplicaciones diferentes a la agrícola, como la producción de poli-beta-hidroxibutirato para usos médicos, degradación de contaminantes, producción de vitaminas y tratamiento de aguas residuales, están introduciéndose lentamente (Bashan and Holguin 2002; Bashan *et al.* 2004; Dobbelaere *et al.* 2003; Holguin *et al.* 2001; Johri *et al.* 2003, Lodewyckx *et al.* 2002; Puente *et al.* 2004, Vessey, 2003).

2.1.6 Efectos de la inoculación de *Azospirillum sp.* en germinación de semillas

La inoculación de *Azospirillum sp.* con la concentración de 10^6 UFC mL⁻¹ en semillas de trigo produjo un aumento en el porcentaje de germinación y longitud de plúmula (Rojas *et al.*, 2008).

Azospirillum sp. aislado de raíces de pasto fue inoculada en semillas de chile habanero, los resultados fueron positivos debido a que la inoculación aceleró la germinación y con respecto a las concentración de inóculo, las mejores fueron las de 3×10^7 UFC mL⁻¹ y 1×10^7 UFC mL⁻¹ debido a que tuvieron mayor efecto en el peso seco aéreo radicular y en el número de raíces de plantas (Piccinin *et al.*, 2013).

Dobbelaere *et al.* (1999), indicaron que la inoculación de la especie de *Azospirillum brasilense* en semillas produce incrementos en el desarrollo y la morfología de raíces utilizando bajas concentraciones de inóculo como 10^6 UFC mL⁻¹ sin embargo, Molina *et al.* (2009) inocularon semillas de tomate Cherry con una concentración de 10^9 UFC mL⁻¹ lo cual aumentó la germinación y contenido de materia seca en plántulas, además ellos sugieren la mezcla de diferentes cepas de *Azospirillum sp.* para la inoculación en semillas.

La inoculación de *Azospirillum sp.* con 10^7 UFC mL⁻¹ en pasto guinea incrementó su peso radical (Hernández *et al.*, 1996).

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 (UFC/mL⁻¹) (Bashan, 1986; Bashan y Levanony, 1989; Smith *et al.*, 1984), mientras que para el maíz es de 10^7 UFC/mL⁻¹ (Fallik *et al.*, 1988). Una concentración de inóculo de 10^8 - 10^{10} UFC/mL⁻¹ 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.

Los efectos positivos de la inoculación se reflejan en diversos parámetros morfológicos de la raíz (Fallik *et al.*, 1994), incremento en la longitud (particularmente en la zona de elongación) (Del Gallo y Fendrik, 1994; Kolb y Martin, 1985; Levanony y Bashan, 1989), en el número y longitud de las raíces laterales, lo cual incrementa el volumen radicular (Barbieri *et al.*, 1988, Barbieri *et al.*, 1986; Kolb y Martin, 1985; Tien *et al.*, 1979), incremento en el peso seco de la raíz (Schank *et al.*, 1981; Umali-Garcia *et al.*, 1980), en el número, densidad y aparición temprana de pelos radiculares (Dubrovsky *et al.*, 1994; Martin y Gratzle, 1982; Umali-Garcia *et al.*, 1980), en el área de superficie radicular (Bashan, 1986), promoción de la división celular en el meristemo radicular (Levanony y Bashan, 1989), cambios en los arreglos celulares de la corteza (Lin *et al.*, 1983), estimulación de la exudación radicular (Heulin *et al.*, 1987; Lee y Gaskins, 1982) y cambios en la morfología externa de las raíces (Bashan *et al.*, 1989). Estas observaciones se fundamentaron en estudios microscópicos, pero no pudieron ser confirmadas en un estudio posterior donde se utilizó la misma cepa de *A. brasilense* (Levanony *et al.*, 1989). Otros estudios indican claramente que ocurre una disminución en la longitud radicular, masa y volumen, pese a que se observa un incremento en parámetros de crecimiento de los brotes (Kucey, 1988; Murty y Ladha, 1988).

Tales efectos contradictorios en raíces a consecuencia de la inoculación de plantas con cepas de *Azospirillum sp.*, aparentemente son reales, ya que la mayoría de dichos parámetros morfológicos se pueden medir fácilmente y con precisión, y se analizaron utilizando métodos estadísticos reconocidos.

2.1.7 Posibles mecanismos de acción de *Azospirillum sp.* sobre el crecimiento vegetal

Si bien no se ha definido el mecanismo por el cual *Azospirillum sp.* promueve el crecimiento vegetal, existe literatura donde se reportan diversos modos de acción relacionados con este parámetro, como son fijación de nitrógeno en donde se demostró cuales aminoácidos liberados en las raíces de las plantas pueden estimular o inhibir la actividad de la nitrogenasa de *Azospirillum sp.* y la osmotolerantes de cepas de *A. brasilense* y *A. halopraeferens* (Hartmann, 1998; Holguín y Bashan, 1996); efectos hormonales como la producción de ácido indolacético (AIA) por *Azospirillum sp.* es capaz de alterar la morfología de la raíz esto se demostró utilizando diferentes cepas modificadas genéticamente variando la biosíntesis de la auxina (Dobbelaere *et al.*, 1999; Croizer *et al.*, 1998); El ácido abscísico (ABA) se ha reportado que es producido por *A. brasilense* Sp245 cuando se le adiciona NaCl al medio de cultivo. Estos resultados contribuyen a explicar, al menos en cierta medida, los efectos beneficiosos de *Azospirillum sp.* previamente inoculado a plantas sometidas a condiciones ambientales adversas (Cohen *et al.*, 2008); ácido índol butírico, también producido por *A. brasilense*, fue detectado por la técnica HPLC y evaluado en plántulas de maíz induciendo actividad biológica a lo largo de la raíz (Martínez *et al.*, 2003). Giberelinas de varios tipos se identificaron en cultivo aséptico de *A. lipoferum* (Bottini *et al.*, 1989), observándose un incremento en el crecimiento del sistema completo de raíces, lo cual puede estar relacionado con cambios hormonales favoreciendo una mayor capacidad de absorción de agua y minerales; alteración del funcionamiento de la membrana por medio de moléculas de comunicación celular (moléculas de este

tipo de bajo peso molecular, pueden ser responsables de alterar actividad y funciones de membrana relacionadas con la absorción de iones); y una hipótesis aditiva que propone la intervención de todos los mecanismos mencionados (Bashan *et al.*, 2004; Bashan y de Bashan, 2010).

2.1.8 Aislamiento

Diversos estudios hablan sobre el aislamiento de *Azospirillum sp.* a partir del suelo y raíces de plantas hospederas como por ejemplo, gramíneas (Pedraza y Díaz, 2000), plátano, yuca y algodón (Lara *et al.*, 2011). El medio de cultivo para su aislamiento es NFb (medio libre de nitrógeno) con malato como fuente de carbono (Döbereiner *et al.*, 1976) y el cultivo bacteriano puro es obtenido mediante el uso del colorante Rojo Congo (Rodríguez, 1982).

Azospirillum sp. en el medio NFB presenta un crecimiento característico como un velo delgado a varios milímetros bajo la superficie, en el punto donde la concentración de O₂ en el medio está en equilibrio con la tasa respiratoria de las células (Hernández, 2003). Conforme las bacterias se multiplican en el medio se puede observar también un viraje del indicador de pH azul de bromotimol del color verde (pH 6,8) hacia el color azul (pH >7), debido a la alcalinización del medio causada por la oxidación del malato (Döbereiner *et al.*, 1976).

2.1.9 Utilización de *Azospirillum sp.* como biofertilizante

Los biofertilizantes pueden definirse como productos a base de microorganismos que viven normalmente en el suelo y que al incrementar sus poblaciones, por medio de la inoculación artificial, son capaces de poner a disposición de las plantas una parte importante de los nutrientes que necesitan para su desarrollo, suministrando sustancias promotoras del crecimiento (Martínez *et al.*, 1999).

La importancia de los biofertilizantes radica en su capacidad para suplementar o movilizar nutrientes con un mínimo uso de recursos no renovables; además, tiene

la ventaja de que los procesos microbianos son rápidos y pueden aplicarse en pequeñas unidades para solucionar problemas locales específicos (Martínez *et al.*, 1999).

Según Okon y Kapulnik (1986) en experimentos de campo la inoculación con *Azospirillum sp.* ha promovido el crecimiento de plantas de importancia agronómica en un 10-20% en la producción de materia seca. Sin embargo, este efecto puede ser benéfico en algunos casos o no significativo en otros (Saíto y Graciolli, 1981).

A pesar de todo, para estandarizar y comercializar un biofertilizante hay que tomar en cuenta los factores que contribuyen a la respuesta de la planta con la bacteria como: el nivel óptimo de células a inocular, la variedad de la planta cultivada ya que cada cultivo responde distinto a la inoculación y el nivel de fertilización con nitrógeno (Holguín *et al.*, 1996). Conocer la participación de cada uno de estos factores permitiría el desarrollo de técnicas de inoculación más efectivas y por lo tanto el desarrollo de biofertilizantes netamente comerciales (Bashan y Levanony, 1990).

2.2 Generalidades del chile serano (*Capsicum annuum L.*)

Después del tomate, el chile es una de las hortalizas más importantes por su consumo nacional y por la superficie cultivada, las regiones productoras más destacadas son: San Luis Potosí con 3,000 ha; Veracruz con 2,700 ha; Nayarit con 2,500 ha; sur de Tamaulipas 2,500 ha. En menor escala se ubican Puebla, Nuevo León y Coahuila con 500 has; Sinaloa y Sonora con 400 has; es muy común encontrar este cultivo en áreas pequeñas en regiones tropicales, subtropicales y semiáridas (Laborde y Pozo, 1984).

Es un chile pequeño de color verde, de forma cilíndrica y su determinación es en punta, mide en promedio de 3 a 5 cm. de largo y 1 cm de diámetro, es considerado y ocupado por el picor de sus venas y su semillas. Toma el nombre del lugar del cultivo que son los estados de Puebla e Hidalgo en México, su nombre más conocido en todo el país es serrano, aunque a veces es conocido como chile verde, es usado para salsas crudas o cocidas sin quitarles las semillas ni las venas, se conserva fácilmente en refrigeración por más de 10 días (Lesur, 2006).

2.2.1 Origen del chile serrano

El chile serrano (*Capsicum annum* L.) es de origen Mexicano de las serranías del norte de los estados de Puebla, Hidalgo y México. Actualmente se siembra en las regiones de declive de golfo, un chile que tiene las mismas características que chile serrano pero con un tamaño no mayor a tres centímetros, denominado serranito, del cual es posible su origen (Pozo 1981).

Otros autores mencionan que el chile ***Capsicum*** es originario de Bolivia y que existen diversos centros de domesticación, en los cuales se encuentra México (Godinez y Rios, 2007).

2.2.2 Clasificación taxonómica (Nuez, 2003)

División: *Spermatophyta*

Línea: XIV: *Angiospermae*

Clase A: *dicotyledones*

Rama 2: *Malvales-Tubiflorae*

Orden XXI: *solanales (Personatae)*

Familia: *Solanaceae*

Género: *Capsicum*

Especie: *Capsicum annum* L.

El género *Capsicum* pertenece a la tribu *Solanae* que es la más grande de la subfamilia *Solanoideae*, agrupando 18 géneros con aproximadamente 1250 especies, entre las que sobresalen por su importancia: *Solanum*, *Lycopersicum*, *Cyphomandra* y *Physalis* (Hunziker, 1979).

2.2.3 Clasificación botánica del chile serrano

2.2.3.1 Descripción

La planta de chile serrano es de estructura herbácea como todas las hortalizas localizándose desde el nivel del mar hasta los 2,500 m.s.n.m. lo que permite su producción en cualquier época del año ya que es un cultivo anual de zonas templadas y perenne en zonas tropicales, herbácea, sub-arbustiva, algunas veces leñosa en la base erecta, muy ramificada, alcanza una altura de 1 a 1.5 m.

El chile serrano *Capsicum annuum* es la planta anual, con raíz pivotante que alcanza una profundidad de 70 a 120 cm, y una altura que va de los 30 a 100 cm., según la variedad. Esta planta de chile crece erecta en un solo tallo, hasta que les aparecen de 9 a 11 hojas, cuando les nacen de dos a tres ramas a partir de las yemas más altas.

Cada tallo termina en una flor, por lo que las plantas adquieren forma de cono invertido. Su flor es frágil, solitarias, aunque a veces la acompañan una o más, de corola blanca y en ocasiones morada (Luís Lesur 2006).

2.2.3.2 Semilla

La semilla muy pequeña, tiene una dimensión de 2 a 3 mm. En general cuando la semilla está verde tiene un color blanco claro, mientras cuando llega a su estado

de maduración o al secarse toma un color amarillo pálido (Lesur,2006).

2.2.4 Etapas fenológicas de desarrollo del género *Capsicum*:

2.2.4.1 Germinación y emergencia.

El período de preemergencia varía entre 8 a 12 días, y es más rápido cuando la temperatura es mayor de 25° pero no mayor de 30° durante el período entre la germinación y la emergencia de la semilla, emerge primeramente una raíz pivotante y las hojas cotiledonales, luego el crecimiento de la parte aérea procede muy lentamente, mientras que se desarrolla la raíz pivotante (Nuez *et al.*, 2006).

2.2.4.2 Crecimiento de la plántula

Luego del desarrollo de las hojas cotiledonales, inicia el crecimiento de las hojas verdaderas, que son alternas y más pequeñas que las hojas de una planta adulta. De aquí en adelante, se detecta un crecimiento lento de la parte aérea, mientras la planta sigue desarrollando el sistema radicular, es decir, alargando y profundizando la raíz pivotante y empezando a producir algunas raíces secundarias laterales. La tolerancia de la planta a los daños empieza a aumentarse, pero se considera que es muy importante (Nuez *et al.*, 2006).

2.2.4.3 Crecimiento vegetativo rápido

A partir de la producción de la sexta a la octava hoja, la tasa de crecimiento del sistema radicular se reduce gradualmente; en cambio la del follaje y de los tallos se incrementa, las hojas alcanzan el máximo tamaño, el tallo principal se bifurca (9-12 Hojas), después que el brote ha terminado por una flor o vástago floral (botón floral). Y a medida que la planta crece, ambas ramas se sub ramifican (después que el crecimiento del brote ha producido un número específico de

órganos florales, vuelve a iniciarse una continuación vegetativa del proceso. Este ciclo se repite a lo largo del período de crecimiento. Se trata de un crecimiento simpodial. En este período la planta puede tolerar niveles moderados de defoliación. La tolerancia se incrementa a medida que la planta crece y siempre, que no haya otros factores limitantes la pérdida de follaje se compensan rápidamente. En el botoneo, la planta absorbe necesita, niveles altos de N Y K (Nuez *et al.*, 2006).

2.2.5 Variedad

Tampiqueño 74 es una planta de chile serrano que presenta un follaje ceroso. Debido a su escasa pubescencia. Las ramas primarias (menores de 6 a 10) se desarrollan a la altura del cuello de tallo por lo que es difícil distinguirlas del tallos principal, las mismas son flexibles y resistentes al quebrado, no obstante, este evento es muy común en la cosecha y las labores de cultivo.

La floración se inicia de los 70 a 80 días y la cosecha se inicia a los 120 días después del trasplante. Del 80 a 90% de los frutos tienen tres lóculos. El pedúnculo se desprende fácilmente de la planta.

El fruto es alargado, liso, sin punta, de coloración verde brillante cuando está en sazón, lo que le da una excelente apariencia comercial. Tiene una longitud de 4 a 7 cm; y diámetro de 13 a 18 cm. El pericarpio tiene un espesor de 18 a 22 mm, lo cual le confiere la resistencia necesaria para el trasplante a largas distancias y mayor tiempo de anaquel en el mercado. El cultivar tampiqueño supera del 10 al 15 % el rendimiento de los materiales criollos (Acosta, 1990).

2.2.6 Importancia nutricional

El chile juega un papel importante en la alimentación ya que proporciona vitaminas y minerales. Investigaciones médicas recientes comprueban su efectividad al utilizarlo como anestésico y estimulante de la transpiración. El consumo de esta hortaliza puede ser en verde o en seco.

cuadro 1. Valores nutritivos del chile serrano (Castaños, 1993).

Agua	88.9
Proteínas	2.3 g
Carbohidrato	7.2 g
Ca.	35.0 mg
P	35.0 mg
Fe	1.7 mg
Ac ascórbico	235.9 mg
Tiamina (B1)	0.09 mg
Riboflavina	0.06 mg
B2 Rivofoamina	0.06 mg
Vitamina A	770 U.I
Vitamina C	65 mg
Calorías	35 mg

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del experimento

El desarrollo de bacterias e inoculación en semillas de chile serrano (*Capsicum annuum* L.) var. Tampiqueña 74, se llevaron a cabo en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Ubicada en colonia Buenavista, municipio de Saltillo, Coahuila, México, y cuyas coordenadas geográficas son 25° 21' 20" de latitud norte y 101° 01' 30" de longitud oeste y a una altitud msnm de 1743 m.

3.2 Descripción del experimento

Se utilizaron 12 cepas de *Azospirillum* sp. aisladas de dos localidades General Cepeda y Torreón Coahuila, (Cuadro 2). Las cuáles fueron desarrolladas en medio NFB semilíquido y posteriormente en NFB sólido.

3.3 Descripción de tratamientos

Se utilizaron cepas que fueron aisladas en Torreón y General Cepeda, Coahuila, en cultivos de nopal y tomate.

Cuadro 2. Cepas de *Azospirillum* sp. utilizadas para inocular chile serrano (*Capsicum annuum* L.) Var. Tampiqueño 74.

Tratamiento	Siglas	Descripción
1	TN2R2	Torreón nopal 2 rep 2
2	TN2R3	Torreón nopal 2 rep 3
3	TN3R3	Torreón nopal 3 rep 3
4	TN6R1	Torreón nopal 6 rep1
5	GCN1R3	General cepeda nopal 1 rep 3
6	GCN1R4	General cepeda nopal 1 rep 4
7	GCN2R3	General cepeda nopal 2 rep 3

8	GCN4R3	General cepeda nopal 4 rep 3
9	GCT3R4	General cepeda tomate 3 rep 4
10	GCT4R2	General cepeda tomate 4 rep 2
11	GCT4R4	General cepeda tomate 4 rep 4
12	GCT5R2	General cepeda tomate 5 rep 2
13	T	Testigo

3.4 Preparación del medio de cultivo NFB

Para solución semisólido: Se disolvieron cada una de las sales (Cuadro 3) por separado y se mezclaron en un matraz erlenmeyer de 1l, utilizando máximo 500 ml de agua y se aforó a 1l, se ajustó el pH a 6.8. Se llevó la solución a una parilla con agitación y se agregaron 5 gr de agar y esperando llegar a ebullición, y cuando la solución estuviera cristalina se retiró del fuego, se procedió a la esterilización en autoclave, se dejó enfriar un poco y se vació en frascos con 50 ml cada uno, una vez fríos se conservaron en el refrigerador.

Para solución sólida: El único cambio del procedimiento anterior fue en la **concentración de agar**, para el medio sólido se agregaron 20 gr de agar y se vació en cajas petri para la siembra de las cepas que fueron desarrolladas en los frascos con solución semisólida.

Cuadro 3. Reactivos para preparación de medio de cultivo NFB, solución semisólido y sólido.

Reactivos	Formula	Concentración (g/l)
Fosfato de potasio monobásico	KH_2PO_4	0.04
fosfato de potasio dibásico	K_2HPO_4	0.6
sulfato de magnesio	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2
Cloruro de sodio	NaCl	0.1

Cloruro de calcio	CaCl ₂	0.02
Molibdato de sodio	Na ₂ MoO ₄ * 2H ₂ O	0.02
Cloruro férrico	FeCl ₃	
Acido málico		5.0
Agar		20.0
Azul de bromotimol		0.5 ml/l
Ph=6.8	NaOH 0.1 N	

3.5 Fase de incubación

Con una micro pipeta de 1ml y puntillas azules, de la misma capacidad, se sembraron las cepas de las diferentes bacterias en los frascos con 50 ml de medio NFB semilíquido, se taparon sin apretar y se depositaron en la incubadora un tiempo de 48 horas a una temperatura de 30°C.

3.6 Diluciones de cepas

Pasando las 48 horas de incubación de las cepas, se procedió a las diluciones en tubos de ensayo con 9 ml de agua previamente esterilizados en autoclave a 1.5 atm de presión equivalente a 128 °C por 20 minutos, preparando 10 diluciones por cepas, esto se realizó también con la micro-pipeta de 1ml, sacando 1 ml de cepa ya incubada y realizando diluciones seriadas, marcando del 1 hasta el 10.

3.7 Siembra

Para el desarrollo de las cepas se sembraron las últimas dos diluciones es decir la 10¹⁰ UFC/mL⁻¹. Con una aza de platino se realizó cada cepa en forma de zig-zag en las cajas petri con medio NFB solido.

3.8 conteo de colonias

A partir de las 24 horas después de la siembra se hizo el conteo de colonias que fueron desarrolladas, para cada una de las cajas petri.

3.9 Inoculación de la bacteria *Azospirillum sp.* en semilla de chile serrano (*Capsicum annuum L.*) var. Tampiqueña 74.

Se inocularon las cepas de bacteria *Azospirillum* a una concentración 1×10^7 UFC mL⁻¹, el cual se imbibieron las semillas del chile serrano (*Capsicum annuum L.*), var. Tampiqueña 74, por un tiempo de 2 horas.

3.10 Siembra de semillas de chile *Capsicum annuum L.*

Pasadas las 2 horas de imbibición, se procedió a la siembra en cajas petris previamente esterilizadas, se uso como cama o sustrato, papel filtro el cual fue humedecido con agua destilada, esto con el propósito de mantener la humedad uniforme.

3.11 Condiciones de germinación

Las cajas con semillas tratadas, se llevaron a una cámara de germinación a 25 ± 1 °C con 8 horas luz y 16 horas oscuridad por 14 días; se realizaban aspersiones con agua destilada diariamente, esto para tener una humedad adecuada para la germinación de las semillas.

3.12 Variables evaluadas

Porcentaje de emergencia

El conteo de esta variable se llevó a cabo del día 1 al día 14 después de siembra, es decir cada 24 horas, contabilizando el número de semillas germinadas, se consideró el haber germinado cuando la testa se rompió y se detectaba emisión de radícula (protrucción de radícula). Expresando los resultados en porcentaje.

Germinación estándar

En esta variable se llevaron a cabo dos conteos, la primera a los 7 días después de siembra, contabilizando las plántulas normales (PN); el segundo conteo a los 14 días después de la siembra, evaluando el número de plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA) y semillas sin germinar (SSG), de acuerdo a la reglas de la ISTA (ISTA, 2004).

➤ Plántulas normales (PN)

En esta variable se cuantificaron las plántulas que tuvieran el sistema apical bien desarrollado al igual que el sistema radicular incluyendo raíz primaria, presencia de los dos cotiledones, hojas primarias verdes y expandidas, brote terminal o ápice. Expresando los resultados en porcentaje.

➤ Plántulas anormales (PA)

Para esta variable se tomaron en cuenta las plántulas que no demuestran la capacidad para desarrollarse en una planta normal cuando crecen en suelo de buena calidad y bajo condiciones favorables, son plántulas dañadas, deformes y en descomposición. Expresando los resultados en porcentaje.

➤ Semilla sin germinar (SSG)

Se tomaron en cuenta todas aquellas semillas que no han germinado al finalizar el periodo de la prueba, cuando han sido probadas bajo las condiciones necesarias, se pueden clasificar también como semillas duras, muertas, o latentes. Expresando los resultados en porcentaje.

Semillas duras: permanecen duras al final de la prueba de germinación ya que no absorben agua porque tienen cubierta impermeable.

Semillas latentes: viables (diferentes de las semillas duras), que no germinan a pesar de las condiciones óptimas de la especie.

Semillas muertas: las que no germinan y no son clasificadas como duras o latentes, no muestran ningún signo de desarrollo y comúnmente están flácidas, decoloradas y con presencia de hongos.

Vigor

➤ Longitud media de hipocotilo (LT)

Esta variable también es para medición del vigor, se realizó a los 14 días de germinación, tomando en cuenta únicamente las plántulas normales, las cuales se midieron el tallo (hipocotilo y cotiledón), expresando los resultados en centímetros.

➤ Longitud media de Radícula (LR)

Para ésta variable se tomaron en cuenta únicamente las plántulas normales y se midió con una regla. Expresando los resultados en porcentaje.

➤ Peso seco (PS)

Fue la última variable evaluada, ya que es una prueba en físico e implica destrozarse la plántula, se usaron las plántulas normales (PN), colocadas en una bolsa de papel se sometieron a la estufa de secado de circulación forzada a una temperatura de 65°C en un tiempo de 24 horas, posteriormente se sacaron las bolsas con las plántulas deshidratadas y se procedió a pesar en una balanza analítica. Expresando los resultados en mg.

3.13 Diseño experimental

Se utilizó un experimento con un diseño completamente al azar con 13 tratamientos, incluyendo el testigo, y 4 repeticiones por tratamiento.

Análisis estadístico

Para la evaluación de los resultados obtenidos de cada parámetro se realizó mediante ANOVA con una prueba Tukey ($P \leq 0.05$), los datos fueron procesados con el paquete estadístico SAS versión 9.0.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje de emergencia

Los resultados obtenidos para la variable índice de velocidad de emergencia se muestra que no existen diferencia significativa entre tratamientos para los días 3 al 11 (Cuadro 1A- 8A). A partir del día 12 al día 14 existe diferencia significativa (Tukey $P \leq 0.05$) mostrado en el (Cuadro 4). Para el día 12 los tratamientos 2(TN2R3), 6(GCN1R4) y 12(GCT5R2) mostraron alta significancia, para el día 13 y 14 se comportaron de igual manera teniendo como mejores tratamientos el 2(TN2R3), 6(GCN1R), 7(GCN2R3), 8(GCN4R3), 9(GCT3R4) y 12(GCT5R2). Al respecto, Molina *et al.* (2009) inocularon semillas de tomate Cherry con una concentración de 10^9 UFC ml^{-1} lo cual aumentó la germinación, aún y que la concentración del inóculo es mayor que la utilizada en este experimento (10^7 UFC mL^{-1}).

Cuadro 4. Prueba de comparación de medias (Tukey $P \leq 0.05$) para germinación de chile serrano, var. tampiqueña 74, en tres días de evaluación.

Tratamientos	Porcentaje de emergencia		
	Día 12	Día 13	Día 14
1	89 ab	89 ab	89 ab
2	96 a	96 a	96 a
3	93 ab	93 ab	93 ab
4	85 b	85 b	85 b
5	93 ab	93 ab	93 ab
6	96 a	96 a	96 a
7	95 ab	95 a	95 a
8	94 ab	95 a	95 a
9	94 ab	95 a	95 a
10	93 ab	93 ab	93 ab

11	92 ab	92 ab	92 ab
12	96 a	96 a	96 a
13	91 ab	91 ab	91 ab

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, medias con diferente letra son estadísticamente diferentes.

Plántulas normales (PN)

Los resultados obtenidos para la variable plántulas normales se muestra que existe diferencia significativa (Tukey $P \leq 0.05$), el tratamiento que se evidenció con más plántulas normales en el primer conteo fue el 5(GCN1R3) que muestra un 47% de plántulas normales, mientras que en el 2° conteo se muestra que no son significativamente diferentes (Cuadro 5). Por su parte Cortés (2014), en germinación de semillas de Chile habanero tratados con *Azospirillum sp.* que fueron aisladas en Nopal, obtuvo un 57.2 % de plántulas normales, usando una concentración 10^8 UFC/mL⁻¹ y 42.8 % usando una concentración 10^6 UFC/mL⁻¹. Coincidiendo estos resultados con Doebbelare y Okon (2003), quienes aseguran que en cultivos como trigo y maíz, al ser inoculados con *Azospirillum sp.* como tratamiento de semillas promueve un mayor número de plántulas normales.

Cuadro 5. Prueba de comparación de medias (Tukey $P \leq 0.05$) para evaluación de plántulas normales en dos conteos, tomando como primer conteo el día número 7 de germinación y el segundo conteo a los 14 días de germinación.

tratamientos	Plántulas normales	
	1 ^{er} conteo	2° conteo
1	10 c	79 a
2	22 abc	88 a
3	35 abc	84 a
4	23 abc	90 a
5	47 a	89 a
6	17 bc	90 a

7	14 bc	88 a
8	17 bc	85 a
9	23 abc	90 a
10	28 abc	90 a
11	21 abc	89 a
12	38 ab	89 a
13	22 abc	85 a

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, medias con diferente letra son estadísticamente diferentes.

Plántulas anormales (PA)

Para la variable plántulas anormales (PA) no existe diferencia significativa entre tratamientos (tabla 6). Esto demuestra que al utilizar *Azospirillum sp.* podemos obtener un bajo o nulo porcentaje de plántulas anormales.

Semillas sin germinar (SSG)

En los resultados obtenidos para la variable semillas sin germinar (SSG) se muestra que existe diferencia significativa (Tukey $P \leq 0.05$), los tratamientos 2(TN2R3), 6(GCN1R4), 7(GCN2R3), 8(GCN4R3), 9(GCT3R4) y 12(GCT5R2) fueron los tratamientos que tuvieron mayor incidencia de semillas sin germinar, teniendo que el tratamiento 4 (TN6R1) obtuvo mayor porcentaje de germinación, (Cuadro 6). Por su parte García (2013) para semillas de chile manzano, inoculados con *Azospirillum sp.* a una concentración 10^6 obtuvo un 12% de germinación.

Longitud media de hipocotilo (LT)

Para la variable longitud de tallo existe diferencia significativa (Tukey $P \leq 0.05$), para lo cual el tratamiento 13 correspondiente al testigo, es el que mostro mejor resultados para esta variable (Cuadro 6). El tratamiento 12 tuvo la menor

longitud de tallo. Esto pudo haberse obtenido por ser una bacteria que se establece muy bien en la zona radicular y los efectos positivos de la inoculación se reflejan en diversos parámetros morfológicos de la raíz (Fallik *et al.*, 1994), y la promoción de la división celular en el meristemo radicular (Levanony y Bashan, 1989).

Longitud media de radícula (LR)

En los resultados obtenidos para la variable Longitud de raíz (LR), se muestra diferencia significativa (Tukey $P \leq 0.05$), para los cuales los tratamientos 5(GCN1R3) con 13.3 % de incremento en relación con el testigo, 8(GCN4R3) y 10(GCT4R2) el 11 % (Cuadro 6). Al respecto Nuncio (2013), obtuvo una longitud del 25% con una concentración de 10^6 UFC mL⁻¹ en inoculación de semilla de chile jalapeño

Peso seco (PS)

Para la variable peso seco existe diferencia significativa (Tukey $P \leq 0.05$), en donde se obtuvo el mejor peso de biomasa fue en el tratamiento 5(GCN1R3), con un 18.1 % en relación al testigo (Cuadro 6). Reyes *et. al.*, (2008) demuestra que inoculando semillas de *Capsicum annum* y *Zea maíz* con *Azospirillum sp.* obtuvo un aumento de peso seco de plántulas en estas especies, además de obtener un mayor porcentaje de germinación. Aquí se muestra un efecto de la actividad de la bacteria, el cual aumenta la materia seca de la plántula.

Cuadro 6. Prueba de comparación de medias para las variables plantas anormales (PA), semillas sin germinar (SSG), longitud de tallo(LT), longitud de raíz(LR) y peso seco(PS), las cuales se evaluaron a los 14 días de germinación.

Tratamientos	PA	SSG	LT	LR	PS
1	10a	11ab	1.40 ab	3.63c	62b
2	10.5a	4b	1.37ab	4.01bc	71.5ab
3	9a	7ab	1.33ab	4.68ab	67.25ab

4	9a	15a	1.39ab	4.47abc	62.25b
5	4a	7ab	1.37ab	5.03a	81.5a
6	6a	4b	1.37ab	4.22abc	70.75ab
7	7a	5b	1.42ab	4.56ab	75.5ab
8	10a	5b	1.33ab	4.92a	70.5ab
9	5a	5b	1.33ab	4.22abc	75.75ab
10	3a	7ab	1.34ab	4.89a	71.5ab
11	3a	8ab	1.38ab	4.44abc	73.25ab
12	7a	4b	1.28b	4.82ab	72ab
13	6a	9ab	1.49a	4.44abc	69.5ab

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, medias con diferente letra son estadísticamente diferentes.

V. CONCLUSIONES

La mayor germinación la provocaron al los 12 días las cepas aisladas de raíces de nopal (N2R3) en Torreón y raíces de nopal (N1R4) y tomate (T5R2) de General Cepeda, las cuales pueden ser usadas para incremento en porcentaje de germinación y en relación al vigor el mayor Peso seco y longitud de raíz lo provocó la cepa aislada de raíces de nopal (N1R3) de General Cepeda, pudiendo esta última utilizarse cómo un enraizador.

VI. LITERATURA CITADA

- Acosta, de la C., J., 1990.** Apuntes de productividad agropecuaria, folleto de cultivos primavera verano, pp.60 -63.
- Agarwala, Dutt R., K.V.B.R. Tilak y J.P.S. Rana. 1991.** Isolation of *Azospirillum* from the interior of various parts of some graminaceous plants, *Z. Mikrobiol.* 146:217-219.
- Barbieri, P., A. Bernardi, E. Galli y G. Zanetti. 1988.** Effects of inoculation with different strains of *Azospirillum brasilense* on wheat roots development. *In: Azospirillum IV: Genetics, Physiology, Ecology*, ed. W. Klingmüller. Pp. 181-188. Berlin, Heidelberg :Springer- Verlag.
- 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.
- Bashan Y. 1986.** Alginate beads as synthetic inoculant carriers for the slow release of bacteria that affect plant growth. *Appl. Environ. Microbiol.* 51:1089-1098.
- Bashan Y. 1986.** Migration of the rhizosphere bacteria *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* towards wheat roots in the soil. *J. Gen. Microbiol.* 132: 3407-3414.
- Bashan Y. 1990.** Short exposure to *Azospirillum brasilense* Cd inoculation enhanced proton efflux in intact wheat roots. *Can. J. Microbiol.* 36: 419-425.

- Bashan, Y. and Holguin, G. 2002.** Plant growth-promoting bacteria: a potential tool for arid mangrove reforestation. *Trees-Struct. Funct.* **16**: 159-166.
- Bashan, Y. y de- Bashan. L.E. 2010.** How the plant Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum* Promotes Plant Growth- A Critical Assessment. *Advances in Agronomy.* 108: 77-122.
- Bashan, Y. y G. Holguin. 1998.** A proposal for the division of "plant growth-promoting rhizobacteria" into two classifications: biocontrol-plant growth-promoting 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. 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. y Levanony, H. 1990.** Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. *Canadian Journal of Microbiology* 36:591-608.
- Becking, J.H. 1982.** *Azospirillum lipoferum*-a reappraisal. In: *Azospirillum, Genetics, Physiology, Ecology*, ed. W Klingmüller. pp. 130-149. Basel: Birkhäuser Verlag.
- Beijerinck, M.W. 1925.** Über ein Spirillum, welches freien Stickstoff binden kann? *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Abt. 2*, 63: 353-359.

- Bottini, R., Fulchieri, M., Pearce, D y Pharis, R. P. 1989.** Identification of Gibberellins A1, A3 and Iso-A3 in Cultures of *Azospirillum lipoferum*. Plant Physiology. 90: 45-47.
- Castaños. C. M. 1993.** Horticultura manejo simplificado. Edición de la Universidad Autónoma de Chapingo México.
- Cohen, A., Bottini, R., y Piccoli, P. 2008.** *Azospirillum brasilense* sp.245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in arabidopsis plants. Plant Growth Regulation. 54: 97-103.
- Cortés, A. 2014.** Germinación y Vigor en Semillas de Chile Habanero (*Capsicum chinense* L.) Aplicando *Azospirillum* sp. y AG3 en Laboratorio e Invernadero. Tesis de licenciatura. UAAAN, Saltillo, Coahuila, México.
- Croizer, A., Arrunda, P., Jasmin, J.M., Montero, A.M. y Sandberg, G. 1998.** Analysis of indole-3-acetic acid and related indoles in culture medium from *Azospirillum lipoferum* and *Azospirillum brasilense*. Applied an Environmental Microbiology. 54: 2833-2837.
- Del Gallo, M. y I. Fendrik. 1994.** The rhizosphere and *Azospirillum*. In: *Azospirillum/Plant Associations*, ed. Y Okon, pp. 57-75. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Doebbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Vande Broek, A y Vanderleyden, J. 1999.** Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. Plant and Soil. 212: 155-164.

- Doebbelaere, S., Vanderleyden, J., and Okon, Y. 2003.** Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 22: 107-149.
- Döbereiner, J. 1978.** Influence of environmental factors on the occurrence of *Spirillum lipoferum* in soils and roots. *Ecol. Bull. (Stockholm)* 26:343-352.
- Döbereiner J. 1992.** The género *Azospirillum* and *Herbaspirillum*, En A. Balows, H. G.Trüper, M. Dworkin, W. Harder and K.-H. Schleifer (ed.), *The prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications*. Springer-Verlag. New York. p. 2236-2253.
- Döbereiner, J., I.E. Marriel y M. Nery. 1976.** Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. *Can. J. Microbiol.* 22: 1464-1473.
- Dubrovsky, J.G., M.E. Puente y Y. Bashan. 1994.** *Arabidopsis thaliana* as a model system for the study of the effect of inoculation by *Azospirillum brasilense* Sp-245 on root hairs growth. *Soil Biol. Biochem.* 26: 1657-1664.
- Falk, E.C., J.L. Johnson, V.L.D. Baldani, J. Döbereiner y N.R. Krieg. 1986.** Deoxyribonucleic and ribonucleic acid homology studies of the genera *Azospirillum* and *Conglomeromonas*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 36: 80-95.
- Fallik, E., S. Sarig y Y. Okon. 1994.** Morphology and physiology of plant roots associated with *Azospirillum*. In: *Azospirillum/Plant Associations*, ed. Y. Okon. pp. 77-85. Boca Raton, FL.: CRC Press.
- 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.

Food and Agriculture Organization (FAO). 2008. Propuestas de nuevos trabajos para normas del CODEX sobre el chile fresco y el ajo. *In:* 14^a Reunión del comité del CODEX sobre frutas y hortalizas frescas. México, D. F. 16-18 pp.

García, J., 2013. Evaluación de productos Orgánico-Hormonal y tratamientos físicos para Promover la Germinación de Semilla de Chile Manzano (*Capsicum pubescens*). Tesis de licenciatura. UAAAN, Saltillo, Coahuila, México.

Godínez-Alvares, H. Y Ríos-Casanova, L. 2007. Una historia de chile, aves y roedores. *Ciencias.* 88: Pp.18-12

Guenkov. 1987. Fundamentos de la Horticultura Cubana Instituto. Cubano del libro. 2^a ed. La Habana Cuba. P.184-185.

Hartmann, A. 1998. Ecophysiology aspect of growth and nitrogen fixation in *Azospirillum* spp. *Plant and Soil.* 10: 225-238.

Herencia, J. F.; García-Galavíz, P. A.; Ruíz-Dorado, J. A.; Maqueda, C. Comparision of nutritional quality of the crops grown in an organic and conventional fertilized soil. *Scientia horticulturae*, 2011; 129: 882-888.

Hernández, Y., Sarmiento, M. and García, O. 1996. Influence of the *Azospirillum* inoculation model on grass performance. *Cuban Journal of Agriculture Science.* 30: 219 – 226.

- Heulin, T., A. Guckert y J. Balandreau. 1987.** Stimulation of root exudation of rice seedlings by *Azospirillum* strains: carbon budget under gnotobiotic conditions. *Biol. Fertil. Soils* 4: 9-14.
- Holguín, G. Bashan, Y. y Ferrera-Cerrato, R. 1996.** Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos: III. Procedimientos para el aislamiento y caracterización de hongos micorrizicos y rizobacterias promotoras de crecimiento en plantas. *Terra*. Volumen 14. Número 2. 211-227 pp.
- Holguín, G. y Bashan, Y. 1996.** Nitrogen-fixation by *Azospirillum brasilense* Cd is promoted when co-cultured with a mangrove rhizosphere bacterium (*Staphylococcus* sp.). *Soil Biology and Biochemistry*. 28: 1651-1660.
- Holguin, G., Vazquez, P., and Bashan, Y. 2001.** The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of the mangrove ecosystems: an overview. *Biol. Fertil. Soils* 33: 265-278.
- Holt, J., Krieg, N., Sneath, P., Staley, J. y Williams, S. 1994.** *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Novena edición. Williams & Wilkins. Baltimore, USA. 39- 56 pp.
- Hunziker, A.T. 1979.** *South American Solanaceae: A Sinoptic Survey* in Hawkes, J.G., Lester, R. N.
- International Seed Testing Association (ISTA). 2004.** *International rules for seed testing*. Bassersdorf, Switzerland.
- Johri BN, Sharma A, Virdi JS. 2003.** Rhizobacterial diversity in India and its influence on soil and plant health. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 84:49-89.

- Kolb, W. y P. Martin. 1985.** Response of plant roots to inoculation with *Azospirillum brasilense* and to application of indole acetic acid. *In: Azospirillum III: Genetics, Physiology, Ecology*, ed. W. Klingmüller. pp. 215-221, Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Krieg, N.R. y J. Döbereiner. 1986.** The genus *Azospirillum*. *In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, eds. NR Krieg, JG Holt, 1:96- 104, Baltimore: The Williams and Wilkins Co.
- Kucey, R.M.N. 1988.** Plant growth-altering effects of *Azospirillum brasilense* and *Bacillus* C-11-25 on two wheat cultivars. *J. Appl. Bacteriol.* 64: 187-196.
- Laborde, C.A. y O. Pozo C. 1984.** Presente y pasado del chile en México, 2° Ed. SARH, instituto nacional de investigación agrícola, Mexico. 80 p.
- Lara – Mantilla, C., Oviedo – Zumaqué, L.E. y Betancur – Hurtado, C.A. 2011.** Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indolacético para mejorar los pastos. *Revista Zootecnia Tropical.* 29: 187 –194.
- Lee, K.J. y M.H. Gaskins. 1982.** Increased root exudation of ¹⁴C-compounds by sorghum seedlings inoculated with nitrogen-fixing bacteria. *Plant Soil* 69: 391-399.
- Lesur, Luis. 2006.** Manuel del cultivo del chile una guía paso a paso, México trillas, 2006.
- Levanony, H. y Y. Bashan. 1989.** Localization of specific antigens of *Azospirillum brasilense* Cd in its exopolysaccharide by immuno-gold staining. *Curr. Microbiol.* 18: 145-149.

- Lin, W., Y. Okon y R.W.F. Hardy. 1983.** Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Appl. Environ. Microbiol.* 45: 1775-1779.
- 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* 21:583-606.
- Luna – Martínez, L., Martínez – Peniche, R. A., Hernández Iturriaga, M., Arvizu – Medrano, S . M. and Pacheco – Aguilar, J. R. 2013.** Characterization of rhizobacteria isolated from tomato and their effect on tomato and bell pepper growth. *Revista Fitotecnia Mexicana.* 36: 63 –69.
- Madigan, M., Martinko, J. y Parker, J. 1999.** *Biología de los microorganismos.* Ed. Prentice Hall Iberia. 8va edición. Madrid España. p 986.
- Martin, P. y A. Glatzle. 1982.** Mutual influences of *Azospirillum* spp. and grass seedlings. *In: Azospirillum: Genetics, Physiology, Ecology,* ed. W. Klingmüller., Basel: Birkhäuser Verlag. pp. 108-120.
- Martínez, R. Toledo, N. y Arguelles, C. 1999.** Introducción al conocimiento de los biofertilizantes. Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense, México. 43p.
- Mejía, G. 1995 Agricultura para la vida: movimientos alternativos frente a la agricultura química.** Cali, Colombia: Feriva, 252 pp.
- Molina, S., Mendoza, R., Torres, A., Sifuentes, D. y Rojas, B. 2009.** Germinación de semillas de tomate cherry (*Lycopersicon pimpinellifolium*) inoculadas con diferentes cepas de *Azospirillum* sp. XIII

Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas A.C.
Torreón, Coahuila, México. P 49.

Murty, M.G. y J.K. Ladha. 1988. Influence of *Azospirillum* inoculation on the mineral uptake and growth of rice under hydroponic conditions. *Plant Soil* 108: 281-285.

New, P. B., and Kennedy, I. R. 1989. Regional distribution and pH sensitivity of *Azospirillum* associated with wheat roots in Eastern Australia. *Microb. Ecol.* 17:299-309.

Nieto-Garibay, A.; Murillo-Amador, B.; Troyo-Diéguez, E. Larringa-Mayoral, J. A. García-Hernández, J. L. 2002. El uso de compostas como alternativa ecológica para la producción sostenible del chile (*Capsicum annuum* L.) en zonas áridas. *Interciencia.* 27(8): 417-421.

Nuez, F. Gil.Ortega, R. Costa, J. 2006. El cultivo de pimientos, Chiles y ajíes. Ediciones Mundi-Prensa Madrid-España. 586 p.

Nuez, V.F., R. Gil, O. y J., Costa, G.,. 1996. El cultivo de pimiento, chiles y ajíes, Ed. Mundi-Prensa. 607p.

Nuncio, G., 2013. Aislamiento y caracterización de *Azospirillum* sp. inoculado en el cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. híbrido "grande"). Tesis de M.C. UAAAN, Saltillo, Coahuila México.

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.

Okon, Y. y Kapulnik, Y. 1986. Development and function of *Azospirillum* inoculated roots. *Plant Soil* 90: 30-35.

Piccinin, G.C., Braccini, A.L., Dan, L.G.M., Scapim, C.A., Ricci, T.T. and Bazo, G.L. 2013. Efficiency of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* on agronomic characteristics and yield of wheat. *Industrial crops products*. 43: 393 – 397.

Pozo campodomico, O.,. 1981. Descripción y tipos de cultivares de chile (*Capsicum spp*) en México; folleto técnico numero 77 octubre 1981 INIA, SA4RH, México, D.F.

Puente, M.E., Li, C.Y., and Bashan, Y. 2004. Microbial populations and activities in the rhizoplane of rock-weathering desert plants, II. Growth promotion of cactus seedlings. *Plant Biology* **6**: 643-650.

Reyes I., Álvarez L. y Valery A. 2008. Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimiento y maíz. *Bioagro*. Vol. 20. Pp. 45-46.

Rincón, S. y Zavala, G. F. 2000. Recursos filogenéticos de México para la agricultura. Informe Nacional. SNICS y SOMEFI A. C. Chapingo, Estado de México. 16-21 pp.

Rodriguez, C. 1982. Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp. *Environ. Microbiology*. 44: 990-991.

Rodríguez, M.R.,. 1998. Estudio preliminar sobre el mosaico del chile en la región del bajo. Tesis C.P. Chapingo, México p51.

Rojas – Sierra, J. y Moreno – Sarmiento, 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.

Sabori, P. R., 1998. Efectos de fertilización con K.P. en producción de calidad de las hortalizas. V congreso internacional de hortalizas. Sociedad de ciencias hortícolas. A.C. Hermosillo Sonora.

Saíto, S. y Gracioli, L. 1981. Relationships between *Azospirillum* spp. isolates from maize and sugar cane. En: Associative N₂-Fixation. Volume II. Editado por: P. Vose y A. Ruschel. CRC Press. Florida, U.S.A. pp. 163-168.

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.

Schank, S.C., K.C. Weier y I.C. Macrae. 1981. Plant yield and nitrogen content of a digitgrass in response to *Azospirillum* inoculation. *Appl. Environ. Microbiol.* 41: 342-345.

Shankar – Sing, J., Chandra – Pandey, V. and Singh, D. P. 2011. Efficient soil microorganisms: A new dimension for sustainable agriculture and environmental development. *Agriculture, Ecosystems & Environment.* 140: 339 – 353.

Singh, C.S. 1992. Mass inoculum production of vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizae. 1. Selection of host in the presence of *Azospirillum brasilense*. *Zentral. Microbiol.* 147: 447-453.

- Smith, R.L., S.C. Schank, J.R. Milam y A.A. Baltensperger. 1984.** Responses of *Sorghum* and *Pennisetum* species to the N₂-fixing bacterium *Azospirillum brasilense*. *Appl. Environ. Microbiol.* 47: 1331-1336.
- Tarrand, J., Krieg, N. and Döbereiner, J. 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.
- Tarrand, J.J., N.R. Krieg y 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.
- Tien, T.M., M.H. Gaskins y D.H. Hubbell. 1979.** Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). *Appl. Environ. Microbiol.* 37: 1016-1024.
- Umali-Garcia, M., D.H. Hubbell, M.H. Gaskins y F.B. Dazzo. 1980.** Association of *Azospirillum* with grass roots. *Appl. Environ. Microbiol.* 39: 219-226.
- Vessey JK 2003.** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255:571-586.
- Zapata N. M.,. 1992.** El pimiento. Editorial Acribia España.

VII. APÉNDICE

Cuadro 7. Análisis de varianza para índice de velocidad de emergencia (IVE), para el día número 3 de germinación..

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr>F
Tratamientos	12	788.92	65.74	0.95 NS	0.51
Error	39	2700.00	69.23		
Total corregido	51	3488.92			

C V: 47.65 NS: No significativo

Cuadro 8. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 4 de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
tratamientos	12	1352.00	112.667	0.62 NS	0.810
Error	39	7064.00	181.128		
Total corregido	51	8416.00			

CV: 21.03 NS: No significativo

Cuadro 9. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 5 de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
tratamientos	12	980.92	81.74	1.11 NS	0.38
Error	39	2880.00	73.85		
Total corregido	51	3860.92			

CV: 11.24 NS: No significativo

Cuadro 10. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 6 de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
tratamientos	12	732.92	61.08	1.37NS	0.22
Error	39	1736.00	44.51		
Total corregido	51	2468.92			

CV: 7.80 NS: No significativo

Cuadro 11. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 7 de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
tratamientos	12	491.08	40.92	0.93 NS	0.52
Error	39	1708.00	43.79		
Total corregido	51	2199.08			

CV: 7.41 NS: No significativo

Cuadro 12. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 8 de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
tratamientos	12	548.92	45.74	1.30 NS	0.26
Error	39	1372.00	35.18		
Total corregido	51	1920.92			

CV: 6.55 NS: No significativo

Cuadro 13. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 9 de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tratamientos	12	404.92	33.74	1.16 NS	0.34
Error	39	1132.00	29.03		
Total corregido	51	1536.92			

CV: 5.89 NS: No significativo

Cuadro 14. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 10 de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tratamientos	12	406.77	33.90	1.37 NS	0.22
Error	39	968.00	24.82		
Total corregido	51	1374.77			

CV: 5.42 NS: No significativo

Cuadro 15. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 11 de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tratamientos	12	422.77	35.23	1.61 NS	0.13
Error	39	856.00	21.95		
Total corregido	51	1278.77			

CV: 5.08 NS: No significativo

Cuadro 16. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 12 de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tratamientos	12	470.77	39.23	2.21*	0.03
Error	39	692.00	17.74		
Total corregido	51	1162.77			

CV: 4.54 *significativo ($P \leq 0.05$).

Cuadro 17. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 13 de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	12	496.00	41.33	2.60 *	0.01
Error	39	620.00	15.90		
Total corregido	51	1116.00			

CV: 4.29 *significativo ($P \leq 0.05$).

Cuadro 18. Análisis de varianza para porcentaje de emergencia, para el día número 14 de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tratamientos	12	496.00	41.33	2.60*	0.01
Error	39	620.00	15.90		
Total corregido	51	1116.00			

CV: 4.29 *significativo ($P \leq 0.05$).

Cuadro 19. Análisis de varianza para plantas normales (PN), en un primer conteo a los 7 días de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tratamientos	12	5092.31	424.36	3.64**	0.001
Error	39	4548.00	116.62		
Total corregido	51	9640.31			

CV: 44.29 ** altamente significativo ($P \leq 0.01$).

Cuadro 20. Análisis de varianza para plantas normales (PN), en un segundo conteo a los 14 días de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tratamientos	12	947.08	78.92	2.20*	0.03
Error	39	1400.00	35.90		
Total corregido	51	2347.08			

CV: 6.94 *significativo ($P \leq 0.05$).

Cuadro 21. Análisis de varianza para plantas anormales (PA), en un primer conteo a los 14 días de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tratamientos	12	340.31	28.36	1.36 NS	0.23
Error	39	815.00	20.90		
Total corregido	51	1155.31			

CV: 66.40 NS: no significativo

Cuadro 22. Análisis de varianza para semillas sin germinar (SSG), en un primer conteo a los 14 días de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tratamientos	12	496.00	41.33	2.60 *	0.01
Error	39	620.00	15.90		
Total corregido	51	1116.00			

CV: 56.959 *significativo ($P \leq 0.05$).

Cuadro 23. Análisis de varianza para la variable longitud de tallo (LT), en una primera evaluación a los 14 días de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tratamientos	15	0.21	0.01	2.40*	0.02
Error	36	0.21	0.01		
Total	51	0.42			

CV: 5.55 *significativo ($P \leq 0.05$).

Cuadro 24. Análisis de varianza para longitud de raíz (LR), en una primera evaluación a los 14 días de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tratamientos	15	8.27	0.55	4.46**	0.0001
Error	36	4.45	0.12		
Total	51	12.72			

CV: 7.83 ** altamente significativo ($P \leq 0.01$).

Cuadro 25. Análisis de varianza para peso seco (PS), en una primera evaluación a los 14 días de germinación.

FV	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Tratamientos	12	1335.23	111.27	2.02*	0.05
Error	39	2149.75	55.12		
Total	51	3484.98			

CV: 10.45 *significativo ($P \leq 0.05$).