

# **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”**



**DIVISIÓN DE INGENIERÍA**

**PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DE TOMATE, Y  
CRECIMIENTO INVITRO DE SEMILLAS DE ALFAFA A LA APLICACIÓN DE  
BACTERIAS HALÓFILAS Y FIJADORAS DE NITRÓGENO**

**POR:**

**María Nelly Hernández Romero**

**TESIS**

**Presentada como requisito para obtener el título de:**

**Ingeniero Agrícola y Ambiental**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, Junio 2012**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO  
NARRO"

DIVISIÓN DE INGENIERÍA  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DEL SUELO

TEMA:

PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DE TOMATE, Y  
CRECIMIENTO IN VITRO DE SEMILLAS DE ALFALFA A LA APLICACIÓN  
DE BACTERIAS HALÓFILAS Y FIJADORAS DE NITRÓGENO

POR

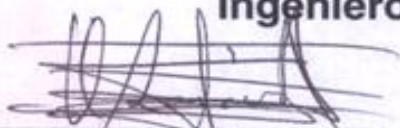
María Nelly Hernández Romero


TESIS

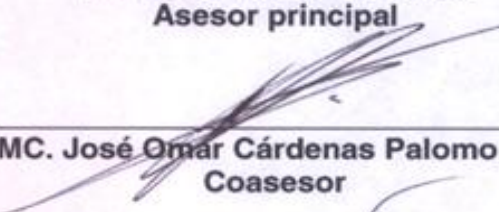
Que se somete a la consideración del H. jurado examinador como requisito  
parcial para obtener el título de:


**Ingeniero Agrícola y Ambiental**

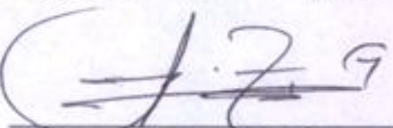
APROBADA

  
Dr. Emilio Raseón Alvarado  
Asesor principal


  
Dr. Valentín Robledo Torres  
Coasesor

  
MC. José Omar Cárdenas Palomo  
Coasesor

  
MC. Juan Antonio Villarreal Sánchez  
Coasesor  
Universidad Autónoma Agraria  
"ANTONIO NARRO"

  
MC. Luis Rodríguez Gutiérrez  
Coordinador de la División de Ingeniería

Buenavista, Saltillo, México, Junio 2012

  
Coordinación de  
Ingeniería

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO  
NARRO"

DIVISIÓN DE INGENIERÍA  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DEL SUELO

TEMA:

PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO Y RENDIMIENTO DE TOMATE, Y  
CRECIMIENTO IN VITRO DE SEMILLAS DE ALFALFA A LA APLICACIÓN  
DE BACTERIAS HALÓFILAS Y FIJADORAS DE NITRÓGENO

POR

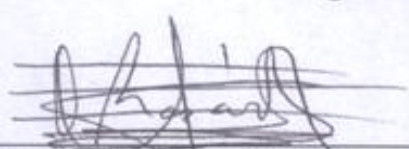
María Nelly Hernández Romero


TESIS

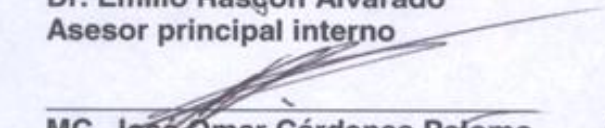
Que se somete a la consideración del H. jurado examinador como requisito  
parcial para obtener el título de:

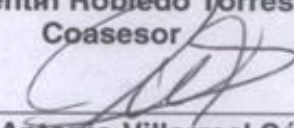
**Ingeniero Agrícola y Ambiental**

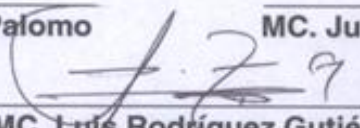
APROBADA

  
Dr. Emilio Rascón Alvarado  
Asesor principal interno


  
Dr. Valentín Robledo Torres  
Coasesor

  
MC. José Omar Cárdenas Palomo  
Asesor principal externo

  
MC. Juan Antonio Villarreal Sánchez  
Coasesor  
Universidad Autónoma Agraria  
ANTONIO NARRO

  
MC. Luis Rodríguez Gutiérrez  
Coordinador de la División de Ingeniería

Buenvista, Saltillo, México, Junio 2012

  
Coordinación de  
Ingeniería

## DEDICATORIAS

A Dios por que él sabe cómo y cuándo es la oportunidad de cada uno para salir adelante, porque no me dejo sola ni a mi familia y porque cada lección de la vida tiene sentido por él.

A mi madre Flora Romero Vázquez, que a pesar de los tropiezos no perdió las esperanzas de este momento, porque ante cada circunstancia de la vida sabe como resolver los problemas siempre apoyando a la familia y sobre todas las cosas es la mejor mamá del mundo.

A mis hermanos Aldo, Hafid, Levi y Ángel (†), sin su apoyo y su madurez, no hubiera logrado nada, gracias por todos los momentos de su vida, los quiero mucho.

A mi hijo Juan Felipe por llenar mi vida de motivos para sonreír cada mañana, de fe y ganas de vivir por el resto de mis días.

A la familia Romero Vázquez y Hernández Ramírez y a mis abuelos (†), por ser la extraordinaria familia que son y por el apoyo incondicional para conmigo.

A mi esposo Luis Alejandro López Ochoa, por permitirme entrar en su vida y compartir momentos inolvidables, gracias por demostrarme que la vida es tan maravillosa y que estarás para mi siempre que te necesite. Te amo Alex

A mi padre Adolfo Hernández Ramírez, porque a pesar de su ausencia siempre estará en mi corazón y en mis pensamientos, te quiero mucho papi.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi alma mater, por haberme permitido cruzar la línea de mi vida por sus instalaciones, su personal y los miles de estudiantes que como yo su principal sueño es una vida digna para ellos y el pueblo mexicano.

Al departamento de Ciencias del Suelo, porque con todos sus maestros y personal hicieron de esta estancia en la universidad un pasaje ligero de la vida que recordare con mucho cariño y respeto.

Al ingeniero Benito Canales López y al M.C. Omar Cárdenas Palomo por haberme permitido participar en este proyecto y por todas las enseñanzas que me dejaron al final de mi carrera; Gracias por sus atenciones para conmigo.

Al M.C. Antonio Villareal, al Dr. Emilio Rascón Alvarado y al Dr. Valentín Robledo Torres, por su apoyo y colaboración en la realización de este trabajo.

A mis grandes amigos y compañeros de la primera generación de Agrícola y Ambiental por todos los momentos y todo el apoyo que como excelentes personas siempre me brindaron (Milo, Víctor B., Donovan, Aracely, Pedro, etc).

A mis amigos y a mis amigas que sin importar nada me apoyaron en todas mis decisiones y en los momentos difíciles de mi vida (Candy, Paola, Marisol, Deyanira, William, Lucerito).

Y a todas las personas que en algún momento de su vida han estado a mi lado, brindándome su amistad y su tiempo, Gracias.

## ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIAS .....	ix
AGRADECIMIENTOS .....	xi
INDICE DE CUADROS .....	xvi
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xviii
RESUMEN .....	xix
INTRODUCCIÓN .....	1
Objetivos .....	3
Hipótesis.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
Cultivo del Tomate .....	5
Antecedentes.....	5
Taxonomía del Tomate .....	5
Descripción Botánica.....	6
Sistema Radicular.....	6
Tallo Principal .....	7
Hoja .....	7
Flor.....	8
Fruto .....	9
Requerimientos Edafoclimáticos.....	9
Temperatura .....	9
Humedad .....	10
Luminosidad .....	11
Suelo.....	12
Cultivo de la Alfalfa.....	12
Antecedentes.....	12
Taxonomía.....	13
Descripción Botánica.....	14

Raíz .....	15
Tallo.....	15
Hojas.....	16
Flor.....	17
Fruto .....	17
Semilla .....	18
Requerimientos Edafoclimáticos.....	18
Temperatura .....	19
pH .....	20
Salinidad .....	20
Biofertilizantes .....	21
Importancia del Nitrógeno para las Plantas .....	21
Formas de Nitrógeno Pprovechadas por la Planta .....	22
Ciclo del Nitrógeno.....	22
Bacterias Fijadoras de Nitrógeno.....	24
Azotobacter spp.....	26
Azospirillum spp.....	27
Bacterias Halófilas .....	29
Hormonas Vegetales .....	30
MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
Localización del sitio para el experimento para evaluación de crecimiento y rendimiento en invernadero de plantas de tomate .....	34
Material utilizado .....	34
Establecimiento del Experimento .....	35
Variables Evaluadas.....	37
Localización del sitio para el experimento de germinación de semillas de tomate y alfalfa en laboratorio .....	41
Materiales.....	41
Sustrato.....	41
Establecimiento del Experimento .....	42
Variables Evaluadas.....	44

Análisis estadístico .....	46
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>47</b>
Análisis de Varianza .....	47
Diámetro de tallo en plantas .....	53
Altura de plantas.....	55
Contenido de clorofila en plantas.....	57
Contenido de nitrógeno en hojas .....	58
Contenido de nitrógeno en peciolo .....	59
Cosecha de tomates .....	61
Diámetro ecuatorial de tomates .....	61
Diámetro polar de tomates.....	63
Grosor de pericarpio en tomates .....	64
Contenido de azúcar en frutos de tomate .....	66
Peso total de frutos cosechados.....	68
Peso fresco de las plantas.....	69
Peso seco de las plantas .....	70
Experimento de germinación de semillas de tomate y alfalfa en laboratorio .	71
Semillas germinadas de tomate.....	71
Longitud de tallo en plántulas de tomate .....	74
Longitud de radícula en plántulas de tomate .....	76
Índice de germinación en semillas de tomate .....	79
Porcentaje de germinación en semillas de tomate .....	80
Semillas germinadas de alfalfa .....	83
Longitud de tallo en plántulas de alfalfa.....	85
Longitud de radícula en plántulas de alfalfa.....	87
Índice de germinación en semillas de alfalfa .....	89
Porcentaje de germinación en semillas de alfalfa.....	91
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>96</b>
Para el experimento en invernadero .....	96
Para el experimento en laboratorio .....	97



RECOMENDACIONES ..... 98

LITERATURA CITADA..... **¡Error! Marcador no definido.**

## INDICE DE CUADROS

Cuadro 3.1 .....	35
Cuadro 3.2 Descripción de Concentraciones de los tratamientos.....	42
Cuadro 3.3. Identificación de tratamientos de acuerdo a su dosis aplicada. ....	43
Cuadro 4.1.1 Cuadrados Medios y significancias para las diferentes variables evaluadas en el análisis de varianza en producción de tomate bajo invernadero. .....	50
Cuadro 4.1.2 Cuadrados Medios y significancias para las diferentes variables evaluadas en el análisis de varianza en producción de tomate bajo invernadero. .....	50
Cuadro 4.1.3 Cuadrados Medios y significancias para las diferentes variables evaluadas en el análisis de varianza en Cosechas de tomate.....	51
Cuadro 4.1.4 Cuadrados Medios y significancias para las diferentes variables evaluadas en el análisis de varianza en Cosechas de tomate.....	52
Cuadro 4.1.5 Cuadrados Medios y significancias para las diferentes variables evaluadas en el análisis de varianza en Germinación de semillas de Tomate. ....	53
Cuadro 4.1.6 Cuadrados Medios y significancias para las diferentes variables evaluadas en el análisis de varianza en Germinación de semillas de Alfalfa....	53
Cuadro 4.2.1 Diámetro de tallo en plantas de tomate. ....	54
Cuadro 4.2.2 Altura de plantas de tomate.....	55
Cuadro 4.2.3 Contenido de clorofila en plantas de tomate. ....	57
Cuadro 4.2.4 Contenido de N-NO <sub>3</sub> en hojas. ....	58
Cuadro 4.2.5 Contenido de N-NO <sub>3</sub> en peciolo. ....	59
Cuadro 4.3.1 Comportamiento del Diámetro ecuatorial (Ø) de tomates durante la cosecha.....	62

Cuadro 4.3.2 Comportamiento del Diámetro Polar ( $\emptyset$ ) de tomates durante la cosecha.....	64
Cuadro 4.3.3. Comportamiento del Grosor del Pericarpio de tomates durante la cosecha.....	65
Cuadro 4.3.4 Comportamiento del contenido de azúcar ( $^{\circ}$ Bx) de tomates durante la cosecha.....	67
Cuadro 4.3.5 Comportamiento de los frutos de tomate en la variable Peso Promedio de frutos.....	68
Cuadro 4.3.6 Peso fresco de las plantas .....	70
Cuadro 4.3.7 Peso seco de las plantas .....	70
Cuadro 4.4.1 Semillas germinadas de tomate. ....	72
Cuadro 4.4.2 Longitud de tallo en plántulas de tomate. ....	75
Cuadro 4.4.3 Longitud de radícula en plántulas de tomate. ....	77
Cuadro 4.4.4 Índice de germinación en semillas de tomate.....	79
Cuadro 4.4.5 Porcentaje de germinación en semillas de tomate. ....	81
Cuadro 4.5.1 Semillas germinadas de alfalfa.....	83
Cuadro 4.5.2 Longitud de tallo en plántulas de alfalfa. ....	85
Cuadro 4.5.3 Longitud de radícula en plántulas de alfalfa. ....	88
Cuadro 4.5.4 Índice de germinación en semillas de alfalfa. ....	90
Cuadro 4.4.5 Porcentaje de germinación en semillas de alfalfa. ....	92

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Peso promedio de las cosechas por tratamiento. ....	69
<b>Figura 2.</b> Interacción de cuatro grupos de bacterias y sus concentraciones en el Número de Semillas Germinadas de Tomate. ....	73
<b>Figura 3.</b> Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en Longitud de Tallo en plántulas de Tomate. ....	76
<b>Figura 4.</b> Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en Longitud de Radícula en plántulas de Tomate. ....	78
<b>Figura 5.</b> Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en el Índice de Germinación de semillas de Tomate. ....	80
<b>Figura 6.</b> Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en el Porcentaje de Germinación en semillas de Tomate. ....	82
<b>Figura 7.</b> Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en Semillas germinadas de Alfalfa. ....	84
<b>Figura 9.</b> Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en Longitud de Radícula de plántulas de Alfalfa. ....	89
<b>Figura 10.</b> Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en el Índice de Germinación en semillas de Alfalfa. ....	91
<b>Figura 11.</b> Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en el Porcentaje de Germinación en Semillas de Alfalfa. ....	93

## RESUMEN

El objetivo del trabajo fue conocer el efecto de aplicación de bacterias fijadoras de nitrógeno y halófilas en plantas de tomate y en germinación de semillas de tomate y alfalfa. En invernadero el experimento consistió en aplicación de bacterias con una concentración de 1 %, se utilizó el Diseño Experimental Bloques al Azar con cinco tratamientos con ocho repeticiones por tratamiento. Durante el experimento se aplicó cuatro veces fertilizante. Se realizó la toma de datos cada 30 días de variables altura de la planta, diámetro de tallo, contenido de clorofila y contenido de nitrógeno en forma de nitratos. Se regó cada 3 días (2 lt por planta). La cosecha comenzó en noviembre de 2011 concluyendo el 6 de enero del 2012. En las variables evaluadas se encontraron diferencias significativas. Donde el mejor tratamiento es T4 (N4) para las variables de nitrógeno en hojas y pecíolo, además este tratamiento presentó los valores más altos en contenido de azúcar en frutos y rendimiento total de frutos.

En laboratorio el experimento consistió en aplicación de cuatro bacterias a semillas de tomate y alfalfa a diferentes concentraciones (0.0045, 0.009, 0.027, 0.045, 0.0909, 0.1818 %) de bacterias, para realizarlo se utilizaron cuatro tratamientos a seis concentraciones y un testigo absoluto con dos repeticiones por tratamiento, dando un total de 25 tratamientos para cada tipo de semilla. Se utilizaron cajas de Petri, seis gramos de perlita por caja (como sustrato), se colocaron 10 semillas de tomate y alfalfa respectivamente distribuidas en las cajas y se cerraron de forma parcial manteniéndola en una cámara de

germinación de siete a nueve días respectivamente con temperatura de 25 °C sin luz. Se monitorearon, y cada tres días se agregaron 10 ml de agua para mantener la humedad, germinadas las semillas las cajas fueron destapadas. Al final del experimento a las plántulas se les midió la altura de tallo, longitud de raíz y se determinó el porcentaje de germinación. En las variables evaluadas se encontró diferencias significativas, donde el mejor tratamiento resulto T14 (N4 = 0.045 %) para las variables semillas germinadas, IG y porcentaje de germinación, para altura de tallo fue T3 (Halófila = 0.009 %), para longitud de raíz T21 (N5 = 0.009 %) en semillas de tomate. Para las semillas de alfalfa el mejor tratamiento fue T20 (N5 =0.045 %) para variables semillas germinadas, IG y porcentaje de germinación. En altura de tallo T14 (N4 =0.045 %) y para longitud de raíz T3 (Halófila =0.009 %).

**Palabras Clave:** *Lycopersicon esculentum* Mill, *Medicago sativa*, invernadero, in vitro, agricultura orgánica.

## INTRODUCCIÓN

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), es una hortaliza importante en el mundo y su popularidad aumenta constantemente. En el ámbito mundial, se clasifica como el segundo vegetal más importante, superado únicamente por la papa. Los principales países productores son China con aproximadamente 12,832,440 toneladas de tomate, representando el 15 % de la producción mundial, seguido por Estados Unidos, Turquía, Italia, Egipto, Brasil, Rusia y Chile (Grain, 1998).

En México el tomate es un cultivo importante en cuanto a generación de empleo, reportando una exportación de 963,798 toneladas (USDA, 1998). La superficie sembrada con tomate en el año 2000 fue de 76,234 has, siendo Sinaloa, Michoacán y Baja California Norte los estados más importante en producción (INEGI, 2001).

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) en la actualidad constituye el forraje más importante para la industria lechera del altiplano central y norte del país, se cultiva en gran parte del mundo y en México es cultivada aproximadamente desde siglo XVI. La alfalfa es usada principalmente para alimentación de ganado bovino lechero y elaboración de alimentos balanceados para otros animales.

La alfalfa presenta las cualidades nutricionales, facilidad de manejo, fijación de nitrógeno atmosférico, conservación del suelo mejorando la estructura, resiste la salinidad, alcalinidad, además se utiliza en verde, ensilado, y henificado como harina o mezclas.

Considerando la importancia de los cultivos se busca obtener mayor producción e incremento en rendimiento, lo cual se considera la biofertilización nitrogenada como una alternativa de sustitución de fertilizantes minerales, el cual permite disminuir el riesgo de contaminación y daños ecológicos en aguas subterráneas, lagos y ríos. Con el uso de fertilizantes nitrogenados se consigue fijar nitrógeno en el suelo disponible para las plantas.

La agricultura orgánica es una alternativa para solventar y mitigar algunos problemas que actualmente presenta la agricultura convencional, es una visión holística de la agricultura que promueve la intensificación de los procesos naturales para incrementar la producción. Es una estrategia de desarrollo que se fundamenta en mejor manejo del suelo, uso de insumos locales y valor agregado al producto (Codex, 1999).

El uso de microorganismos puede tener un potencial considerable como agente de biocontrol o biofertilizantes. En este sentido se distinguen tres grandes grupos; microorganismos fijadores de nitrógeno, hongos micorrizicos y bacterias promotoras de crecimiento (Virgen *et al.*, 2001).



Las bacterias fijadoras de nitrógeno son organismos unicelulares que son literalmente, fábricas de urea en miniatura, fijando el nitrógeno atmosférico en la planta y convirtiéndolo en formas de aminas y/o amonio disponible realizado por la enzima nitrogenasa. Las bacterias halófilas, pertenecen al grupo de microorganismos extremófilos capaces de vivir en ambientes salinos.

Las bacterias fijadoras de nitrógeno y halófilas podrían ser una opción para reducir los problemas de salinidad en suelos agrícolas y respuesta de plantas hortícolas a su aplicación, sin embargo, es muy reducido su estudio, razón por la cual se plantea la presente investigación, con los siguientes objetivos e hipótesis:

### **Objetivos**

- Evaluar el comportamiento de las bacterias fijadoras de nitrógeno y halófilas en el desarrollo del cultivo de tomate
- Evaluar el efecto fitohormonal de las bacterias fijadoras de nitrógeno y halófilas en germinación de semillas de tomate y alfalfa

### **Hipótesis**

- Ho: Todos los tratamientos con estas bacterias no inducen en el desarrollo de las plantas y germinación de semillas

- Ha: Por lo menos un tratamiento con estas bacterias inducirá el desarrollo superior de la plántula, en comparación con plántulas testigo
- Ha: por lo menos un tratamiento inducirá la germinación de semillas de tomate y alfalfa con valores mas altos que en el testigo o con un IG mayor al del testigo

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Cultivo del Tomate

#### Antecedentes

El jitomate o "tomate rojo" es originario de América del Sur, se considera a México como centro de su domesticación (Maroto, 1983). Con la llegada de los españoles se expandió al viejo continente y de ahí a todo el mundo; con su comercialización y difusión lograda, actualmente forma parte de la dieta alimenticia de varias culturas del mundo.

El tomate es una planta de la familia Solanáceas, cuya especie se denomina científicamente *Lycopersicon esculentum* Mill. Puede desarrollarse de forma rastrera, semi-erecta o erecta. Existen variedades de crecimiento limitado (determinadas) y de crecimiento ilimitado (indeterminadas). El tomate se cultiva en todas las zonas medias de nuestro país, con diferencias en los sistemas de cultivo empleados por los agricultores (Hebbar *et al.*, 2004).

#### Taxonomía del Tomate

Flores (1980) reporta que el tomate se encuentra dentro de la siguiente Taxa:

Reino -----Vegetal

División -----Tracheophyta

Subdivisión ----- Pteropsidae

Clase ----- Angiospermae

Subclase ----- Personotae

Orden ----- Solanales

Familia -----Solanaceae

Genero ----- *Lycopersicon*

Especie ----- *esculentum*

## **Descripción Botánica**

Planta Perenne de porte arbustivo que se cultiva como anual.

## **Sistema Radicular**

Raíz principal (corta y débil), raíces secundarias (numerosas y potentes) y raíces adventicias. La raíz principal pone de manifiesto la existencia de tres zonas claramente diferenciadas la epidermis, donde se ubican los pelos absorbentes especializados en tomar agua y nutrientes, el córtex y el cilindro central o vascular, donde se sitúa el xilema (conjunto de vasos especializados en el transporte de los nutrientes). En los primeros 30 cm de la capa del suelo se concentra el 70 % de la biomasa radical (Chamarro, 1995).

## **Tallo Principal**

Eje sobre el cual se desarrollan las hojas, tallos secundarios (ramificación simpoidal), flores y frutos, con un grosor que oscila entre 2 y 4 cm en su base. Su estructura, de fuera hacia dentro, consta de: epidermis, de la que parten hacia el exterior los pelos glandulares, corteza o cortex, cuyas células más externas son fotosintéticas y las más internas son colenquimáticas, cilindro vascular y tejido medular. En el extremo del tallo principal se encuentra el meristemo apical, donde se inician los nuevos primordios foliares y florales; tiene forma de de cúpula y está protegido por las hojas recién formadas (Rick, 1978).

## **Hoja**

Tiene un eje central o peciolo, de este salen pequeñas hojitas llamadas foliolos que son peciolados, lobulados y con borde dentado, en número de 7 a 9 y recubiertos de pelos glandulares. Las hojas se disponen de forma alterna sobre el tallo. El mesófilo o tejido parenquimático está recubierto por una epidermis superior e inferior, ambas sin cloroplastos. La epidermis inferior presenta un alto número de estomas. Dentro del parénquima, la zona superior o zona en empalizada, es rica en cloroplastos. Los haces vasculares son prominentes, sobre todo en el envés, y constan de un nervio principal (Nuez, 1999).

## **Flor**

Es perfecta, regular e hipogina y consta de 5 o más sépalos, de igual número de pétalos de color amarillo y dispuestos de forma helicoidal a intervalos de  $135^{\circ}$ , de igual número de estambres soldados que se alternan con los pétalos y forman un cono estaminal que envuelve al gineceo, y de un ovario bi o plurilocular.

Las flores se agrupan en inflorescencias de tipo racimos, generalmente en número de 3 a 10 en variedades comerciales de tomate; es frecuente que el eje principal de la inflorescencia se ramifique por debajo de la primera flor formada dando lugar a una inflorescencia compuesta, de forma que se han descrito algunas con más de 300 flores.

La primera flor se forma en la yema apical y las demás se disponen lateralmente por debajo de la primera, alrededor del eje principal. La flor se une al eje floral por medio de un pedicelo articulado que contiene la zona de abscisión, que se distingue por un engrosamiento con un pequeño surco originado por una reducción del espesor del cortex. Las inflorescencias se desarrollan cada 2-3 hojas en las axilas (Nuez, 1999).

## **Fruto**

Baya bi o plurilocular que puede alcanzar un peso que oscila entre unos pocos miligramos y 600 gramos. Está constituido por el pericarpio, el tejido placentario y las semillas. El fruto puede recolectarse separándolo por la zona de abscisión del pedicelo, como ocurre en las variedades industriales, en las que es indeseable la presencia de parte del pecíolo, o bien puede separarse por la zona peduncular de unión al fruto (Nuez, 1999).

## **Requerimientos Edafoclimáticos**

El manejo racional de los factores climáticos de forma conjunta es fundamental para el funcionamiento adecuado del cultivo, ya que todos se encuentran estrechamente relacionados y la actuación sobre uno de estos incide sobre el resto. Existen tres factores climatológicos que ejercen una gran influencia sobre el cultivo y que merecen una consideración especial: temperatura, humedad y luminosidad (Castellanos, 2009).

## **Temperatura**

La temperatura óptima de desarrollo oscila entre 20 y 30 °C durante el día y entre 1 y 17 °C durante la noche; temperaturas superiores a los 35 °C afecta la fructificación, por mal desarrollo de óvulos y al desarrollo de la planta en general y del sistema radicular en particular. Temperaturas inferiores de 12°C

también originan problemas en el desarrollo de la planta. A temperaturas superiores a 25 °C e inferiores a 12 °C la fecundación es defectuosa o nula.

La maduración del fruto está muy influida por la temperatura en lo referente tanto a la precocidad como a la coloración, de forma que valores cercanos a los 10 °C así como superiores a los 30 °C originan tonalidades amarillentas. No obstante, los valores de temperatura descritos son meramente indicativos, debiendo tener en cuenta las interacciones de la temperatura con el resto de los parámetros climáticos.

La temperatura generalmente no actúa en forma individual, sino interactuando con la luz, agua, CO<sub>2</sub>, y/o nutrición. La planta controla su temperatura mediante la transpiración, disipando hasta un 50 % de la energía que absorbe. Todas las especies responden a un rango de temperatura, dado que las reacciones bioquímicas están controladas por enzimas sensitivas al calor (Leskovar, 2001).

## **Humedad**

La humedad relativa óptima oscila entre un 60 y 80 %. Humedades relativas muy elevadas favorecen el desarrollo de enfermedades aéreas y el agrietamiento del fruto y dificultan la fecundación, debido a que el polen se compacta, abortando parte de las flores. El rajado del fruto igualmente puede



tener su origen en un exceso de humedad edáfica o riego abundante tras un período de estrés hídrico. También la humedad relativa baja dificulta la fijación del polen al estigma de la flor (Pérez y Castro, 1999).

## **Luminosidad**

Los niveles óptimos de luz para el cultivo de jitomate, varían de acuerdo a la etapa de desarrollo de la planta; por ejemplo, en el caso de la producción de tomate en invernadero en México, se han observado como óptimos los siguientes: durante la etapa de plántula, desde emergencia hasta que alcanza a tener 4 hojas verdaderas, requiere una intensidad máxima de 2500 bujías por pie; en momento de trasplante y la aparición del primer racimo floral, las necesidades de luz aumentan a 4000 bujías por pie; durante crecimiento de los frutos, desde floración hasta maduración de frutos, requiere aproximadamente 5000 bujías por pie (Pérez y Castro, 1999).

Valores reducidos de luminosidad pueden incidir de forma negativa sobre los procesos de la floración, fecundación así como el desarrollo vegetativo de la planta. En los momentos críticos durante el período vegetativo resulta crucial la interrelación existente entre la temperatura diurna y nocturna y la luminosidad.

## **Suelo**

La planta de tomate no es muy exigente en cuanto a suelos, excepto en lo referente al drenaje, prefiere suelos sueltos de textura silíceo-arcillosa y ricos en materia orgánica. Se desarrolla perfectamente en suelos arcillosos enarenados con pH ligeramente ácidos hasta ligeramente alcalinos. Es la especie cultivada en invernadero que mejor tolera las condiciones de salinidad tanto del suelo como del agua de riego.

## **Cultivo de la Alfalfa**

### **Antecedentes**

La alfalfa, es la planta forrajera tal vez más antigua, esta hoy prácticamente extendida por todo el mundo. Por la gran variedad de ecotipos existentes en estado espontáneo en la región, se fija su área de origen en Asia menor y sur del Cáucaso (De Candolle, 1919., Citado por Pozo en 1977).

Se cree que es nativa del suroeste de Asia, de una región comprendida entre Mesopotamia, Persia, Turkestan y Siberia. Como probable centro de origen el Asia occidental o Asia central, las regiones montañosas de la India, el Asia menor y transcaucásica. Abarcando esta zona geográfica Turquía, Siria, Irak, Irán, Afganistán, parte occidental de Pakistán y Cachemira.

De aquí es probable que fue llevada a Grecia por los persas en el año 490 a.C., y que fue usada por los romanos en su conquista a Grecia como alimento para sus caballos y llevada a Italia en el año 146 a.C. (Hill, 1937., citado por Robles S. 1985). Los árabes la llamaron "alfafacah" que significaba el mejor forraje, y la transportaron de nuevo, a través del norte de África, desde Persia hasta la recientemente conquistada España. De la península ibérica saltó al resto del mundo (Pozo, 1977).

Se tiene el conocimiento que la técnica usada en este cultivo hace dos mil años es en gran parte, similar a la actual, pero lo más alarmante es darnos cuenta que los rendimientos no difieren en mucho de los obtenidos hoy en día, reconociendo con esto, que los adelantos obtenidos en la práctica de este cultivo son muy modestos (Morua, 1997).

El nombre Alfalfa es de origen árabe; etimológicamente significa "el mejor pasto".

## **Taxonomía**

Según Cantú, citado por Morua (1997)

Reino: ----- Vegetal.

División: -----Tracheophita.

División: -----Peroxida.

Clase: -----Angiospermae.

Subclase: -----Dicotyledoneae.

Familia: -----Leguminosae.

Subfamilia: -----Papilionaceae.

Tribu: -----Trifoliada.

Género: -----*Medicago*.

Especie: ----- *sativa*.

### **Descripción Botánica**

La alfalfa es una leguminosa herbácea perenne muy extendida. Sus flores pueden ser de varios tonos de púrpura o amarillas o blancas; se forman en racimos abiertos. Las vainas son retorcidas y tienen de una a cinco espirales. Cada vaina lleva varias semillas en forma arriñonada. Las hojas, dispuestas alternativamente sobre el tallo, son pinadas y trifoliadas.

El sistema radicular tiene una raíz principal bien definida, que puede penetrar en el suelo hasta una profundidad de 7.5 a 9 mts. o más. Los tallos erectos, suelen alcanzar una altura de 60 a 90 cm. puede haber de 5 a 25 tallos o mas tallos por planta, que nacen de una corona leñosa (Hughes *et al.*, 1984). Es una planta herbácea perenne; su promedio de vida es de 5 a 7 años dependiendo de la variedad y de los factores clima, agua y suelo.

## **Raíz**

Las raíces de la alfalfa son abundantes, profundas. Constan de una raíz principal, robusta y pivotante, y numerosas secundarias. Además penetra más que ninguna otra herbácea cultivada. Las plantas nuevas desarrollan una raíz principal pivotante que penetra rápidamente, y llega hasta la capa freática o roca madre a grandes profundidades. Se ha estimado que una sola planta de un año, ocupa un volumen de suelo de 90 cm. de diámetro y 2 m de profundidad. Para el segundo año puede penetrar de 7.5 a 9 m o más, y la raíz principal con un diámetro de 2 a 3 cm. Desarrollan unas pocas raíces secundarias en los primeros centímetros del suelo, pero estas raíces, en vez de extenderse lateralmente, penetran a mayor profundidad, siguiendo un curso paralelo a la raíz principal. Las raíces secundarias son limitadas en número, siendo la raíz principal la más importante del sistema radicular.

## **Tallo**

Tiene tallos herbáceos, delgados, erectos y muy ramificados de 60 a 90 cm. En la germinación el primer tallo nace entre los cotiledones. En las axilas de los cotiledones, o cuando estos desaparecen de las hojas inferiores, se producen yemas que posteriormente dan origen a nuevos tallos, que vienen a desarrollarse a la salida del verano, mientras que los tallos viejos se lignifican, endurecen y mueren.

Lo mismo ocurre después de cada siega o pase de ganado. Todos estos tallos viejos o nuevos forman un conjunto que recibe el nombre de corona, fracción fundamental de la planta de alfalfa. Las variedades adaptadas a climas cálidos presentan típicamente coronas sobre la superficie del suelo; no así en climas fríos, donde la corona aparece bien por debajo de dicho nivel. Puede haber de 5 a 25 o más tallos.

## **Hojas**

Las primeras hojas verdaderas después de los cotiledones son unifoliadas. Posteriormente, las hojas normales son trifoliadas, pecioladas, con folíolos peciolados, particularmente el central. Los folíolos adoptan distintas formas más o menos oblongos y ovalado-oblongos, dentados hacia sus ápices con escasas estipulas en forma de leznas adheridas al pecíolo.

El pecíolo es a modo de un pequeño tallo que une el raquis al resto de la planta. Los folíolos son como pequeñas hojas, el conjunto de las cuales forman la hoja propiamente dicha. El haz o cara superior de los folíolos suelen ser de un verde más intenso que el envés o cara inferior, generalmente mas pubescente y con marcadas nerviaciones (Morua, 1997).

## **Flor**

Las flores van reunidas en racimos axilares de distinto tamaño y densidad. La primera inflorescencia se sitúa en el nudo catorce. Tienen color violeta con distintas tonalidades que van del azul pálido al morado oscuro. Sin embargo otras especies de *Medicago* presentan flores color amarillo y los híbridos tienen flores vareadas (o variadas) que suelen ser violetas cuando están en capullo, verdes al abrirse y, finalmente, amarillas o casi blancas al madurar.

En cuanto a la conformación de la flor presenta un gran estandarte con dos alas mayores que la quilla. Los estambres, diadelfos, forman por un lado un paquete de nueve estambres, reunidos en un tubo estaminal que envuelve el estilo y estigma. Las alas poseen a ambos lados una especie de ganchos que obligan al conjunto de estambres y pistilo a permanecer dentro de la quilla.

## **Fruto**

El fruto maduro es una vaina curvada de color café con 3.5 espirales, ligeramente pubescentes. Cada vaina lleva varias semillas en forma arriñonada. La dehiscencia se realiza a lo largo de las suturas dorsal y/o ventral. Esto puede ocurrir de forma pasiva, o bien activa, si al dividirse la legumbre (vaina) en sus dos valvas se produce un movimiento por el que estas se separan, dejando las semillas en libertad (Pozo, 1977).

## **Semilla**

Las semillas son ovaladas o de aspecto de riñón y combada en varias formas; con una cicatriz en una depresión ancha cerca de un extremo en las semillas ovaladas en una incisión definida, cerca de la mitad en las semillas de forma de riñón; su color es amarillo verdoso a café claro y con longitud de 1.5 mm. o más (Robles, 1985).

## **Requerimientos Edafoclimáticos**

La alfalfa se desarrolla en condiciones de climas diversos abarcando desde regiones con temperaturas de invierno muy extremas, o con temperaturas de verano muy altas, se adapta a los climas templados, cálidos y secos, teniéndose la impresión de que entre más secos, favorece mas su producción. (Cantú, 1989). Es resistente a la sequía, en regiones con clima cálido húmedo se desarrolla bien, pero la calidad del forraje es reducida por el ataque de plagas y enfermedades.

Se siembra desde el nivel del mar hasta los 2440 m.s.n.m. En México se produce en varias zonas altas, siendo la altura 500 a 600 m.s.n.m., el límite mas bajo para su mejor desarrollo.

Esta especie requiere de suelos aireados y profundos, está morfológica y fisiológicamente adaptada para resistir deficiencias hídricas prolongadas



además está dotada de una raíz que le permite penetrar en el perfil del suelo y continuar produciendo hasta un 35 % del agua útil del mismo. Es muy sensible a la falta de oxigenación que ocurre con el anegamiento del suelo.

Los requerimientos hídricos, como en todos los vegetales, dependen de la pérdida evaporativa, que está regulada por factores ambientales (temperaturas, vientos, humedad relativa) y morfológicos (número y tamaño de estomas, área folicular, estructura de la planta). Las condiciones ambientales van a influir directamente en el crecimiento, calidad y rendimiento de la alfalfa. Además se ha calculado que en una planta adulta, 8 días de suelos saturados de agua disminuye la fotosíntesis en un 30 %.

## **Temperatura**

La combinación de la temperatura y el fotoperiodo explica las diferencias entre variedades dentro de la especie *Medicago sativa*. Así las alfalfas mediterráneas pueden crecer en climas de inviernos frescos debido a la selección y a la sequía que impediría su crecimiento; sin embargo, las alfalfas de tipo nórdico están orientadas hacia crecimientos estivales, ya que las bajas temperaturas del invierno provocan un paro en el crecimiento de la planta y una mejor resistencia en el frío.

La semilla de alfalfa comienza a germinar a temperaturas de 2 a 3 °C, siempre que los restantes factores (humedad, fertilizantes, etc.) no actúen como

limitantes. La germinación es más rápida cuanto más alta sea la temperatura, hasta alcanzar un óptimo aproximadamente a los 28 a 30 °C. Temperaturas por encima de los 38 °C resultan letales para la plántula joven. La alfalfa, especialmente algunas variedades, tolera sin dificultad temperaturas tan bajas como los 10 y 15 °C. La temperatura óptima ó sitúa, según las variedades, entre 18 y 28 °C (Pozo, 1977).

## **pH**

El factor limitante en el cultivo de la alfalfa es la acidez, excepto en la germinación, pudiéndose ser de hasta 4. El pH óptimo del cultivo es de 7.2, recurriendo a encalados siempre que el pH baje de 6.8, además los encalados contribuyen a incrementar la cantidad de iones de calcio en el suelo disponibles para la planta y reducir la absorción de aluminio y manganeso que son tóxicos para la alfalfa.

Existe una relación directa entre la formación de nódulos y el efecto del pH sobre la alfalfa. La bacteria nodulante de la alfalfa es *Rhizobium meliloti*, esta especie es neutrófila y deja de reproducirse por debajo de pH 5.

## **Salinidad**

La alfalfa es muy sensible a la salinidad, cuyos síntomas comienzan con la palidez de algunos tejidos, la disminución del tamaño de las hojas y finalmente la parada vegetativa con el consiguiente achaparrado y arroseteado. El

incremento de la salinidad induce desequilibrios entre la raíz y la parte aérea. Así como el efecto que tiene sobre la limitante de la absorción de agua por la planta.

### **Biofertilizantes**

Se denomina biofertilizante a un producto que contiene uno o varios microorganismos del suelo y puede ser aplicado a la semilla o suelo con el fin de incrementar su número, asociarse directa o indirectamente al sistema radical de las plantas, favorecer su interacción e incrementar el desarrollo vegetal y reproductivo de la planta huésped (Aguirre *et al.*, 2009).

La fertilización busca principalmente aumentar la producción agrícola. Es muy importante recordar que los fertilizantes contribuyen, en promedio, en un 50 % del aumento de la producción (Gómez, 1996).

### **Importancia del Nitrógeno para las Plantas**

El nitrógeno es importante porque actúa en forma específica en procesos metabólicos en las plantas, y en forma estructural. En las plantas existen formas nitrogenadas además de los aminoácidos y proteínas en las que se incluyen: vitaminas, hormonas, pigmentos, purinas y pirimidinas. Es además componente esencial de la clorofila (Kass, 1998).

El nitrógeno estimula el crecimiento vegetativo, incrementa la masa protoplasmática y aumenta la succulencia foliar. Cuando el aporte de nitrógeno es insuficiente, las plantas se observan raquílicas, delgadas y mal desarrolladas. El crecimiento es lento y hay clorosis generalizada. Si la deficiencia es severa, las hojas adquieren un color pardo oscuro y mueren (Kass, 1998).

### **Formas de Nitrógeno Aprovechadas por la Planta**

Las plantas lo pueden emplear en sus procesos sintéticos tomándolo en diferentes grados de oxidación o de reducción, por ejemplo, como ácido nitroso, ácido hiponitroso, amoníaco o hidrolamina y hasta elemento libre, en el caso de las plantas inferiores (Pranishnikov, 1954).

### **Ciclo del Nitrógeno**

El Nitrógeno(N) se encuentra en varias formas y los organismos son los responsables de las interconversiones. El principal reservorio de nitrógeno es la atmósfera, con 78 %. Este nitrógeno gaseoso está compuesto de dos átomos de nitrógeno unidos, el  $N_2$  es un gas inerte, y se necesita una gran cantidad de energía para romper esta unión y combinarlo con otros elementos como el carbono y el oxígeno.

Esta ruptura puede hacerse por dos mecanismos: las descargas eléctricas y la fijación fotoquímica, que proveen suficiente energía para romper la unión del nitrógeno y unirse a tres átomos de Oxígeno para formar nitratos ( $\text{NO}_3$ ). Este procedimiento es reproducido en las plantas productoras de fertilizantes (González y Raciman, 2000).

La segunda forma de fijación del nitrógeno es realizado por bacterias que usan enzimas especiales en lugar de la luz solar o las descargas eléctricas. Entre estas bacterias se encuentran las que pueden vivir libres en el suelo, aquellas en simbiosis con raíces de ciertas plantas (Fabáceas) y las cianobacterias fotosintéticas (las antiguas "algas verde-azuladas") que viven libres en el agua. Las tres fijan N, tanto como nitratos ( $\text{NO}_3$ ) o como amonio ( $\text{NH}_4$ ). Las plantas toman los nitratos y los convierten en aminoácidos, los cuales pasan a los animales que los consumen. Cuando las plantas y animales mueren (o liberan sus desechos) el nitrógeno retorna al suelo. La forma más común en que el nitrógeno regresa al suelo es como amonio.

El amonio es tóxico, pero afortunadamente, existen bacterias nitrificantes (*Nitrosomonas* y *Nitrosococcus*) que oxidan el amonio a nitritos, con dos oxígenos. Otro tipo de bacteria (*Nitrobacter*) continúa la oxidación del nitrito ( $\text{NO}_2$ ) a nitrato ( $\text{NO}_3$ ) el cual es absorbido por las plantas que completan el ciclo (González y Raciman, 2000). Existe un tercer grupo de bacterias desnitrificantes (entre ellas *Pseudomonas desnitrificans*) que convierten nitritos y nitratos en nitrógeno gaseoso (González y Raciman, 2000).

## **Bacterias Fijadoras de Nitrógeno**

Son organismos multicelulares que posee la enzima nitrogenasa, convierten el nitrógeno atmosférico en formas de amina y/o amonio para que la planta pueda aprovecharlo. Además colonizan las raíces de las plantas produciendo fitohormonas de crecimiento vegetal como las citocininas (fomentan y favorecen el crecimiento de las yemas laterales), auxinas (sustancias promotoras de crecimiento vegetal), esto trae consigo un aumento en la captación de nutrientes.

Se conoce un gran número de bacterias de vida libre o asociativa que fijan N, pero solo algunas destacan por su potencial como biofertilizantes o promotoras de crecimiento. Entre los géneros más conocidos están *Azobacter*, *Beijerinckia*, *Derxia* y *Azospirillum*, dentro del grupo de aerobias; en las aerobias facultativas se presentan *Enterobacter*, *Pseudomonas* y *Bacillus*; y los géneros de bacteria anaerobia *Metanobacterium*, *Clostridium* y *Desulfovibrio* (Beringer, 1984; Ferrera-Cerrato, 1995; Rodriguez, 1995).

Se conoce que algunos géneros de *Azospirillum* y *Azobacter* penetran la corteza de la raíz y producen fitohormonas como giberelinas, auxinas (ácido indolacético), citocininas, ácido absísico y fijan nitrógeno (Curl y Truelove, 1986; Lynch, 1990).

Se ha retomado el interés de utilizar bacterias promotoras de crecimiento en la producción de cultivos. Estas bacterias se han aplicado a semillas, tubérculos o raíz, y son capaces de colonizar las raíces de las plantas y estimular el crecimiento y rendimiento de cultivos (Chanway *et al.*, 1989). Los mecanismos del efecto de las bacterias promotoras de crecimiento no son bien comprendidos, sin embargo, se ha sugerido un amplio rango de posibilidades que incluye efectos directos o indirectos.

El efecto directo consiste en un aumento en la movilización de nutrientes solubles, seguido por el mejoramiento de absorción de las plantas (*Lifshitz et al.*, 1987), la producción de antibióticos para hongos, bacterias y virus (Hoffland *et al.*, 1997) y de fitohormonas (Schroth y Weinhold, 1986; Chanway, 1997). Efectos indirectos incluyen el aumento de fijación de N<sub>2</sub>, al mejorar el número de nódulos de la raíz y el aumento de la actividad nitrogenasa (Zhang *et al.*, 1996), los cuales inducen resistencia sistémica a la planta (Chanway, 1997).

Diferentes estudios han mostrado que *A. brasilense* tiene la habilidad para adherirse a las raíces de plantas gramíneas como el mijo, trigo, maíz, así como a las raíces de plantas de otras familias que incluyen al algodón y tomate, e incluso a superficies inertes como poliestireno y arena (Caballero, 2001; Bashan, 1998).

Las bacterias rizosféricas promotoras de crecimiento vegetal (PGPBs) fijan N<sub>2</sub>, con capacidad de producir fitohormonas como giberelinas y ácido

indolacético (De Freitas y Germida, 1989; Muhammad y Frankenberger, 1991), lo que estimula la germinación, el crecimiento, la producción de raíces laterales y pelos radicales y favorecen la absorción de nutrientes (Bashan y Holguin, 1994).

Según Kloepper *et al.* (1991), algunas PGPBs productoras de auxinas pueden incrementar la emergencia de semillas vegetales por lo cual se conocen como bacterias promotoras de emergencia, dentro de ellas se encuentra *Azospirillum brasilense*. Estas bacterias pueden presentarse en sistemas radicales micorrizados.

### **Azotobacter spp**

Las bacterias *Azotobacter spp* son bacilos grandes que pueden poseer un diámetro de 2 a 4  $\mu\text{m}$ . Son bacterias Gram negativas y aerobias estrictas. Algunas cepas presentan motilidad por flagelos peritricos. En medios con carbohidratos las bacterias de vida libre forman cápsulas formadas de gruesas capas de mucílago (Madigan *et al.*, 1999). Crecen muy bien en medios de cultivo que contengan como fuente de carbono: manitol, glucosa, sacarosa o ácidos orgánicos (Rao, 1984).

Presenta formas resistentes llamados cistes y son diferenciados en presencia de algunas fuentes de carbono como el butanol y el hydroxybutyrato (Rao, 1984). Estos cistes presentan una respiración endógena mínima y



resisten la desecación, la desintegración mecánica y las radiaciones ultravioleta e ionizantes. No obstante, no son resistentes al calor y oxidan rápidamente las fuentes de energía exógena (Madigan, Martinko & Parker; 1999).

La especie *A. chroococcum* fue la primera que demostró que podía crecer a partir de nitrógeno atmosférico en ausencia total de molibdeno pero en presencia de vanadio (Madigan, Martinko & Parker; 1999).

Las bacterias del género *Azotobacter* se presentan como una alternativa útil debido a que es un fijador de nitrógeno de vida libre, promueve el crecimiento de raíces y aumenta la concentración de materia seca, contribuye a la solubilización de fosfatos y calcio también se ha reportado como eficiente productor de fitohormonas, sideróforos y sustancias antifúngicas. De esta forma *Azotobacter* spp se puede considerar como un biofertilizante con un amplio espectro de aplicación que incluye especies como maíz, trigo, zanahoria, papa etc.

### **Azospirillum spp**

Esta especie fue descubierta en 1922 por Beijerinck y se le llamó inicialmente *Spirillum lipoferum* (Rao, 1984). Estas bacterias son bacilos ligeramente curvados a menudo con puntos en los extremos, Gram negativos, presentan motilidad, es microaerofílica, y su diámetro celular es de 1  $\mu\text{m}$ , el pH

del medio debe estar entre 6.8 y 7.8 (Madigan *et al*, 1999; Krieg & Döbereiner, 1984). Se ha descubierto que establece una relación simbiótica laxa con plantas herbáceas tropicales y con cereales cultivados. También puede ser de vida libre o asociado con plantas tuberosas (Madigan *et al*, 1999; Krieg & Döbereiner, 1984).

Se ha reportado que esta bacteria puede ser de vida libre o asociada con las raíces de los cereales, pastos y plantas tuberosas (Krieg & Döbereiner, 1984).

También existen revisiones en las que se les menciona como biocontrolador, ya que tiene la habilidad de producir sustancias antibacteriales como bacteriocinas y sideróforos (Tapia *et al*, 1990), y también debido a la capacidad de reproducirse en grandes cantidades bajo condiciones de alta humedad relativa, desplazando a los patógenos por la competencia generada o por la fortaleza fisiológica que adquiere la planta (Bashan & Bashan, 2002).

La mayoría son desnitrificantes (liberan  $N_2$  a la atmósfera) en condiciones anaeróbicas. La fijación ocurre en estadíos tempranos del crecimiento por un período corto de tiempo antes de la asimilación del amonio resultando en la reducción a nitrato (Rao, 1984). Todas las especies reducen el nitrato a nitrito en condiciones aeróbicas (Krieg & Döbereiner, 1984).

El *Azospirillum* produce fitohormonas (ácido indolacético y citoquininas) capaces de acelerar y potenciar el crecimiento de las plantas; promueve la formación de sideróforos, sustancias antifúngicas y genera enzimas que favorecen la solubilización de fosfatos y oligoelementos facilitando la asimilación de estos compuestos.

### **Bacterias Halófilas**

Los ambientes hipersalinos (lagos salados, salmueras), albergan grandes poblaciones de un pequeño y característico grupo de bacterias cocos sin motilidad (*Halococcus*), bacilos pequeños de flagelación polar (*Halobacterium*), y algunos otros. A pesar de las diferencias morfológicas, estos organismos comparten una serie de propiedades, muchas de las cuales son claramente adaptaciones a la elevada salinidad e intensidad lumínica de sus hábitats naturales.

Las aplicaciones biotecnológicas son diversos de las que podemos citar: producción de alimentos fermentados, producción de salsa de soya, colorantes, extremozimas resistentes a altas concentraciones de sal, aditivos utilizados en cosméticos, plásticos biodegradables y producción de agentes gelificantes como exopolisacáridos EPS.

Una característica de los halófilos extremos es su contenido en carotenoides rojos, que están incorporados en la membrana celular. Los carotenoides de *Halobacterium* protegen a la célula de daños fotoquímicos por altas intensidades lumínicas propias del ambiente natural.

## **Hormonas Vegetales**

Las hormonas vegetales son producto de las glándulas de secreción interna que regula la mayor parte del proceso metabólico. El término fitorregulador refiriéndose a compuestos naturales o sintéticos que inducen respuestas en el crecimiento, desarrollo o metabolismo de las plantas (Bidwell, 1993). Estas sustancias ejercen una acción estimulando un proceso fisiológico tanto en la zona de producción como en otras áreas de la planta y causan la producción y/o activación de enzimas que utilizan los procesos de fotosíntesis para construir, mantener y repartir la planta (Iñiguez, 1983).

La respuesta de una planta a un fitorregulador puede ser muy variada; aun entre variedades de la misma especie, el tipo de respuesta difiere dependiendo de su edad, condiciones ambientales, estado fisiológico y contenido hormonal (Nickell, 1979).

Los organismos del reino vegetal poseen hormonas que regulan los procesos fisiológicos y bioquímicos. El término hormona se derivó del concepto

usado en fisiología de mamífero y significa mensajero químico. Este abarca tanto en reguladores naturales como los sintéticos y se clasifican en cinco grupos:

Las giberelinas, auxinas, citocininas, inhibidores y etileno (Weaver, 1996). Un compuesto que en cantidades muy pequeñas, acelera el crecimiento del tallo, son las “giberelinas”. Su papel en la planta es alterar el balance entre crecimiento del entrenudo y el desarrollo de las hojas, otro efecto es inducir la síntesis de enzimas como la amilasa y proteasa durante la germinación de semillas de cereales como la cebada y el trigo (Ray, 1985).

Son compuestos que estimulan la división o la prolongación celular o ambas cosas, éstas pueden provocar un aumento sorprendente en la prolongación de los brotes de muchas especies, tienen como acción básica el modificar el mensaje genético que lleva el ARN (Rojas y Vázquez, 1995). Constituyen un amplio grupo de compuestos naturales (ácidos diterpenotetracíclicos) que regulan diversos procesos en el crecimiento y desarrollo de las plantas, tales como la germinación, el alargamiento caulinar, la floración y fructificación (Davies, 1995).

Las auxinas son compuestos caracterizados por su capacidad para inducir la extensión de las células de los brotes, son hormonas cuya acción fisiológica básica es sobre el mensaje genético contenido en el ADN, determinando que la planta sintetice proteínas y enzimas nuevas cambiando su química y fisiología

(Rojas y Vázquez, 1995). Su producción se efectúa en el ápice del brote y en particular en las hojas jóvenes, proporciona un medio para la elongación de entrenudos en cantidades muy pequeñas.

Es típica su acción inductora del alargamiento de la célula a bajas concentraciones pues se causa cuando distribuye desigualmente crecimiento anormal, dando malformaciones en hojas y tallos o crecimiento en una dirección determinada, pues si las células de un lado del tallo se alargan más que las del otro, el tallo cambia la dirección de su crecimiento. A altas concentraciones se deprime el alargamiento.

A bajas concentraciones produce una aceleración de la respiración que repercute en un intenso metabolismo (Rojas, 1982). Otros efectos: Dominancia apical, aumenta el crecimiento de los tallos, promueve la división celular en el cambium vascular, diferenciación del xilema secundario, estimula la formación de raíces adventicias, formación de frutos, fototropismo, promueve la división celular, floración en algunas especies, la síntesis de etileno, favorece el cuaje y maduración de los frutos e inhibe abscisión ó caída de los frutos.

Las citocininas forman el grupo de hormonas naturales, son hormonas cuya acción típica es activar la división celular o retardar la senescencia de los órganos (Rojas, 1982). Estimulan la división celular en tejidos no meristemáticos. Su característica más importante es que estimulan las divisiones celulares en plantas y retrasan el envejecimiento. Influyen en

múltiples procesos bioquímicos, como la estimulación de la biosíntesis de los ácidos nucleídos y de diferentes proteínas.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Localización del sitio para el experimento para evaluación de crecimiento y rendimiento en invernadero de plantas de tomate**

El proyecto se realizo en el invernadero de la empresa Palau Bioquim S.A. de C.V. que es un macro túnel con cubierta de polietileno y malla antiáfidos.

### **Material utilizado**

#### **Plantas**

Se utilizaron ocho plántulas de tomate de la variedad Rio Grande para cada tratamiento.

#### **Macetas**

Se utilizaron macetas de plástico de aproximadamente 8 kg.

#### **Sustrato**

Se preparo un sustrato inerte a base de peat moss y perlita con una relación 2:1.



## Métodos

El presente trabajo consistió en cinco tratamientos con 8 repeticiones usando diferentes tipos de bacterias fijadoras de nitrógeno y halófilas.

Cuadro 3.1. Descripción de los tratamientos a base de bacterias fijadoras de nitrógeno y halófilas aplicados a plántulas de tomate.

Tratamiento	Bacterias Fijadoras de Nitrógeno y Halófilas	UFC/ml
1	Testigo	
2	Halo 5	$1.49 \times 10^6$
3	N <sub>2</sub> 2	$1.0 \times 10^8$
4	N <sub>2</sub> 4	$1.0 \times 10^6$
5	N <sub>2</sub> 5	$4.9 \times 10^9$

Halo 5: bacterias Halófilas, N<sub>2</sub>: Bacterias Fijadoras de Nitrógeno, UFC: unidades formadoras de colonias.

## Establecimiento del Experimento

### Inoculación

Para la inoculación de las plantas se utilizó una solución al 1% (1000 ml de agua/10 ml bacterias) de las bacterias fijadoras de nitrógeno y halófilas, humedeciendo la raíz de las plantas por tres minutos aproximadamente en inmersión, al testigo solo se le aplicó agua.

Se realizaron dos aplicaciones de bacterias durante todo el experimento, al momento de trasplante y a los 37 días después de trasplante donde se agregó un litro de agua por planta con una concentración al 1 % de bacterias.

### **Trasplante**

Al sustrato se le agregó agua hasta poner la mezcla a capacidad de campo, se llenaron las macetas y se procedió al trasplante.

### **Riego**

Los riegos se programaron cada tres días, se aplicaron dos litros de agua por maceta en cada riego.

### **Tutores**

Los tutores se colocaron a los 25 días después del trasplante, utilizando rafia y algunos alambres para ajustarlos a la estructura del invernadero.

### **Fertilización**

En esta investigación se realizaron cuatro aplicaciones de fertilizante, desde el trasplante hasta después de la primera cosecha. Esto con el objetivo

de promover un adecuado crecimiento de las plantas. La fertilización consistió en la aplicación de fertilizantes a base de sulfatos, MAP y cloruro de calcio.

La primera aplicación se realizó a los 30 días después del trasplante, la segunda a los 53 días, la tercera a los 75 días y la última aplicación a los 95 días aplicando un total de fertilizante de sulfato de amonio 542.69 g, sulfato de potasio 2217.74 g, sulfato de magnesio 912.04 g, MAP 532.971 g y cloruro de calcio 784.06 g.

### **Control de plagas**

Durante el desarrollo del cultivo se presentaron plagas como fue gusano falso medidor el cual se presentó a los 13 días después del trasplante al cual se le aplicó permetrina 500 con una dosis de 400 cc / ha; y minador en las hojas de las plantas el cual se presentó a los 26 días después del trasplante al cual se le aplicó imidacloprid con una dosis de 1 gr / lt.

### **Variables Evaluadas**

Las tomas de datos fueron realizadas en instalaciones de la empresa PALAU BIOQUIM, las evaluaciones fueron el 12 de agosto, 12 de septiembre, 12 de octubre y 12 de noviembre del 2011, y las variables estimadas fueron:

### **Diámetro de Tallo**

El diámetro se tomo a la base del tallo de la planta, para esto se utilizo un vernier digital de la marca SURTEK con escala en milímetros (mm), se tomo una sola lectura por tallo.

### **Altura de Plántula**

La altura de tallo se estimó desde la base de la planta hasta la primera ramificación del tallo. Con apoyo de un flexometro (cm).

### **Contenido de clorofila**

Se tomo el porcentaje de clorofila con el equipo SPAD de la marca KONICA MINOLTA modelo 502-Plus, la lectura se tomó de la hoja más recientemente madura extendida (aproximadamente a los 15 cm de arriba hacia abajo). A cada repetición se le tomaron 6 lecturas y posteriormente se obtuvo una media. Los datos se reportaron como unidades SPAD.

### **Contenido de Nitrógeno**

Se tomo el contenido de nitratos en peciolos y hojas, para esta lectura se utilizó la hoja de los datos anteriores, se maceró por separado peciolos y hojas, para estas mediciones se utilizó el equipo twin NO<sub>3</sub> de la marca HORIBA

modelo B-343 que mide el contenido de nitratos en plantas, se utilizó aproximadamente de 0.3 a 2 ml de savia obtenida de la maceración hasta cubrir el lector del twin, se hizo la lectura, se obtuvo la media y se multiplicó por 0.226 para obtener el contenido de Nitrógeno, se reportaron los datos en parte por millón de Nitratos (ppm de N-NO<sub>3</sub>).

### **Peso fresco y peso seco de las plantas**

Una vez cosechados todos los frutos se obtuvo el peso fresco de las plantas, se llevaron en bolsas de papel etiquetadas a una estufa a 45° C donde se quedaron por 72 hrs, se sacaron las muestras y se pesaron obteniendo el peso seco. Los datos se analizaron en el estadístico SAS.

### **Cosechas**

Una vez que los frutos estaban maduros se consideró realizar los cortes; se hicieron siete cosechas la primera el 03 de noviembre, la segunda el 08 de noviembre, la tercera el 15 de noviembre, la cuarta el 23 de noviembre, la quinta el 01 de diciembre, la sexta el 14 de diciembre y la séptima el 04 de enero del 2012.

Para las cosechas se evaluaron las variables:

### **Diámetro ecuatorial**

Se midió el diámetro ecuatorial de todos los fruto por tratamiento, esto con apoyo de un vernier digital (mm), se tomaron 2 lecturas por fruto y después se consideró una media para el reporte de los datos.

### **Diámetro polar**

Se midió el diámetro polar para cada fruto por tratamiento realizando solo una lectura por muestra (mm).

### **Grosor del pericarpio**

Esta variable se midió tomando 2 lecturas sobre la misma muestra de cada tratamiento, para el reporte de los datos se considero obtener una media (mm).

### **Contenido de azúcar en los frutos.**

Se utilizó un REFRACTÓMETRO HANNAH. Se eligió un ejemplar para determinar contenido de azúcar, se obtuvieron aprox. 2 ml de savia del fruto se colocó en el lector óptico del aparato el cual nos dio el contenido de GRADOS BRIX (°Bx) del fruto.

## **Peso total**

El peso se consideró el total de los frutos por tratamiento, el cual se obtuvo pesando todos los frutos en una báscula eléctrica de la marca OHAUS modelo Scoutt- pro.

## **Localización del sitio para el experimento de germinación de semillas de tomate y alfalfa en laboratorio**

El proyecto se desarrolló en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Autónoma de Coahuila (UAC).

## **Materiales**

### **Sustrato**

Se utilizó como medio de cultivo perlita.

### **Cajas de petri**

Se utilizaron 30 cajas de petri de plástico con tapa.

## Semillas

Se utilizaron semillas de tomate de la variedad Rio Grande y semillas de alfalfa que se proporcionaron por el Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA).

## Métodos

El presente trabajo consistió en cinco tratamientos con 8 repeticiones usando diferentes tipos de bacterias fijadoras de nitrógeno y halófilas.

Cuadro 3.2 Descripción de Concentraciones de los tratamientos.

Tratamiento	UFC/ml
Testigo	
Halo	$1.49 \times 10^6$
N2	$1.0 \times 10^8$
N4	$1.0 \times 10^6$
N5	$4.9 \times 10^9$

Halo 5: bacterias Halófilas, N<sub>2</sub>: Bacterias Fijadoras de Nitrógeno, UFC: unidades formadoras de colonias.

## Establecimiento del Experimento

### Determinación de concentraciones

Para este experimento se realizaron las siguientes concentraciones al 0.0045, 0.0090, 0.0270, 0.0450, 0.0909, 0.1818 % (100 ml de agua/ ml bacterias) de bacterias halófilas y fijadoras de nitrógeno.



Cuadro 3.3. Identificación de tratamientos de acuerdo a su dosis aplicada.

TRATAMIENTO	IDENTIFICACION	CONCENTRACION (%)
TESTIGO	1	0.0000
Halo	2	0.0045
Halo	3	0.0090
Halo	4	0.0270
Halo	5	0.0450
Halo	6	0.0909
Halo	7	0.1818
N2	8	0.0045
N2	9	0.0090
N2	10	0.0270
N2	11	0.0450
N2	12	0.0909
N2	13	0.1818
N4	14	0.0045
N4	15	0.0090
N4	16	0.0270
N4	17	0.0450
N4	18	0.0909
N4	19	0.1818
N5	20	0.0045
N5	21	0.0090
N5	22	0.0270
N5	23	0.0450
N5	24	0.0909
N5	25	0.1818

### Preparación de las cajas

Para cada tratamiento se utilizaron 2 repeticiones.

Se pesaron 6 g de perlita y se colocaron en las cajas de petri, se acomodaron 10 semillas distribuidas sobre la perlita, se le agregaron 30 ml de agua y 3 ml de la concentración correspondiente cada caja. Se taparon las cajas sin cerrarlas herméticamente.

## **Cámara de germinación**

Una vez colocadas las semillas en las cajas se colocaron en una cámara de germinación de la marca PRESICION de 3 pies cúbicos sin luz a una temperatura de 25 °C por 7 y 9 días en alfalfa y tomate respectivamente.

## **Riego**

Las cajas se monitorearon cada 3 días, se les agrego 10 ml de agua para conservar la humedad. Una vez germinadas las semillas, las cajas se destaparon para permitir el crecimiento de las plántulas.

## **Variables Evaluadas**

### **Número de germinados**

Se contaron las semillas germinadas por el método visual.

### **Porcentaje de germinación**

Se obtuvo el porcentaje de germinación en base a las 10 semillas de cada caja.

### **Altura del tallo**

Se midió el tallo de las plántulas (cm).

### **Longitud de la raíz**

Se midió la raíz de las plántulas (cm).

### **Índice de germinación (IG)**

Se obtuvo el IG el cual es un parámetro que engloba el efecto de un determinado tratamiento sobre la germinación de semilla y sobre el crecimiento de raíz en la plántula germinada y viene dado por la fórmula:

$$IG = \% G * Li / Lo$$

Donde:

% G = porcentaje de semillas germinadas en el tratamiento respecto al testigo.

Li = longitud media de raíces de las plántulas germinadas en cajas con tratamiento.

Lo = longitud media de raíces de plántulas germinadas en cajas testigo.

## Diseño experimental

Los tratamientos se establecieron bajo un diseño de bloques completamente al azar y se utilizó la comparación de medias con la prueba del rango múltiple de Duncan al 0.05 con el programa estadístico SAS. El modelo estadístico quedó en la siguiente forma:

## Análisis estadístico

Para el análisis del experimento se realizó el análisis de varianza (ANVA) para cada uno de los tratamientos con el modelo estadístico siguiente:

Diseño Completamente al Azar

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \xi_{ij}$$

$i = 1, 2, \dots, t =$  tratamientos

$j = 1, 2, \dots, r =$  repeticiones tratamientos  $i$ , con  $r + r + \dots + r = n = t \times r$

Unidad experimental y  $\xi_{ij} \sim NI(0, \sigma^2)$

Donde:

$y_{ij}$ : respuesta del tratamiento  $i$ -ésimo en su repetición  $j$ -ésima (repetición cualquier variable evaluada)

$\mu$ : efecto general o media general que es común a cada una de las unidades experimentales

$T_i$ : efecto del  $i$ -ésimo tratamiento

$\xi_{ij}$ : error experimental

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis de Varianza

En los cuadros de 4.1.1 a 4.1.6 se muestran los cuadrados medios y las significancias de las diferentes características evaluadas en producción de tomate bajo invernadero y germinación de semillas in vitro.

En el cuadro 4.1.1 no se encontraron diferencias significativas para la mayoría de las variables a excepción de altura de tallo en la toma 1 y contenido de clorofila en la toma 2 con una significancia al 0.05. Se muestra un CV que va desde 7.64 hasta 18.30, presentando valores de Error Experimental que varían desde 0.21 hasta 172.64, sin embargo los valores de EE no afectan en los resultados de Coeficiente de Variación los cuales se encuentran dentro de los límites aceptables, como es en el caso de la variable altura de tallo donde se muestra un error experimental de 2.69 en la primera toma mientras que para la tercer toma el valor del error aumenta a 172.64, sin embargo el CV para dicha toma se mantiene en 17.62.

Para el cuadro 4.1.2 se encontraron resultados variables en significancias y valores de CV de 9.06 a 15.82 mientras que el error experimental obtuvo valores que van desde 25224.44 hasta 357833.33.

Para el cuadro 4.1.3 y 4.1.4 no se encontraron diferencias significativas a excepción de la cosecha 1 en todas sus variables y para la cosecha 3 en dos de sus variables y para la cosecha 7 en su variable de °brix. Encontrando un CV 4.75 hasta 52.72 donde el error experimental influye en los valores de CV donde a medida que el valor del EE es elevado el CV se muestra de la misma manera; se observa para la variable Ø polar que en la toma 5 y 6 se presenta un CV de 26.28 y 30.02 con un EE de 62.14 y 79.56 respectivamente los cuales son los valores mas altos para ambos factores, mientras que en la variable Ø vertical todos los valores son altos fuera del rango de CV a excepción de las toma 1, 5 y 7 donde CV es 13.37, 22.77 y 18.76 y EE es 30.20, 42.02 y 0.66 respectivamente.

Para la variable grosor del pericarpio el único valor fuera del rango en CV fue en la toma 5 con 52.72 y EE de 17.07, en contenido de azúcar en frutos no variaron los datos de EE en CV. y para el valor de peso total de frutos el CV que se presento fue 33.39 con EE de 47479.23, saliendo del rango permitido de CV.

Para el cuadro 4.1.5 se encontraron diferencias altamente significativas en todas las variables con un CV que va desde 8.18 hasta 13.99 con un EE de oscila entre 0.19 a 98.23.

Para el cuadro 4.1.6 se encontraron diferencias significativas y altamente significativas con un CV que va desde 11.57 hasta 36.76 con un EE que varia

desde 0.04 a 180.81 en donde solo en las variables longitud de tallo y longitud de raíz están dentro del rango de CV con 11.57 y 12.71 respectivamente.

**Cuadro 4.1.1 Cuadrados Medios y significancias para las diferentes variables evaluadas en el análisis de varianza en producción de tomate bajo invernadero.**

toma de datos	GL	Ø tallo	EE	CV	Altura tallo	EE	CV	Contenido Clorofila	EE	CV
1	4	0.1801 <sup>NS</sup>	0.2097	16.5859	7.4127*	2.6942	11.4324			
2	4	1.3196 <sup>NS</sup>	1.6827	18.2993	37.8676 <sup>NS</sup>	22.3196	9.7889	7.4045*	19.0328	8.9358
3	4	1.5243 <sup>NS</sup>	1.7392	8.8021	260.8795 <sup>NS</sup>	172.6464	17.6192	29.8192 <sup>NS</sup>	21.4081	7.6433
4	4	1.7296 <sup>NS</sup>	1.9956	10.3802	171.8000 <sup>NS</sup>	139.6643	16.0135	51.3787 <sup>NS</sup>	19.4950	7.9366
EE	28									

**Cuadro 4.1.2 Cuadrados Medios y significancias para las diferentes variables evaluadas en el análisis de varianza en producción de tomate bajo invernadero.**

toma de datos	GL	Contenido N-NO <sub>3</sub> Hoja	EE	CV	Contenido N-NO <sub>3</sub> peciolo	EE	CV
3	4	357833.3330*	84666.6670	12.4171	517555.5560 <sup>NS</sup>	281500.0000	9.0643
4	4	25224.4444 <sup>NS</sup>	8553.3333	15.8183	416444.4440*	114833.3330	12.6131
EE	8						



Cuadro 4.1.3 Cuadrados Medios y significancias para las diferentes variables evaluadas en el análisis de varianza en Cosechas de tomate.

Cosechas	GL	Ø polar	EE	CV	Ø vertical	EE	CV
1	4	51.1184*	9.1988	9.3387	277.9020*	30.1997	13.3670
2	4	19.6550 <sup>NS</sup>	40.5984	19.1074	150.7748 <sup>NS</sup>	170.6525	33.7159
3	4	54.6444 <sup>NS</sup>	25.4606	15.3100	311.2395*	95.1175	25.7222
4	4	12.2887 <sup>NS</sup>	30.2897	17.2862	121.2517 <sup>NS</sup>	106.8615	30.2304
5	4	58.1025 <sup>NS</sup>	62.1431	26.2818	46.5962 <sup>NS</sup>	42.0170	22.7707
6	4	103.0609 <sup>NS</sup>	79.5655	30.0249	280.8956 <sup>NS</sup>	216.8943	44.6187
7	4	0.3703 <sup>NS</sup>	0.3192	15.5976	1.1224 <sup>NS</sup>	0.6646	18.7619
EE	24						

**Cuadro 4.1.4 Cuadrados Medios y significancias para las diferentes variables evaluadas en el análisis de varianza en Cosechas de tomate.**

Cosechas	GL	Grosor Pericarpio	EE	CV	°Brix	EE	CV	Peso Total	CV
1	4	1.9547**	0.0786	4.7458	1.9547**	0.0786	4.7458		
2	4	1.2299 <sup>NS</sup>	2.0438	23.0954	0.2151 <sup>NS</sup>	0.3187	9.2542		
3	4	0.9077 <sup>NS</sup>	1.4520	20.6291	0.8698**	0.1019	5.0835		
4	4	0.6601 <sup>NS</sup>	0.3154	9.4352	0.6681 <sup>NS</sup>	0.5122	11.4377		
5	4	17.7165 <sup>NS</sup>	17.0745	52.7225	1.2788 <sup>NS</sup>	0.7753	13.1746		
6	4	1.1545 <sup>NS</sup>	1.3560	18.4740	0.4284 <sup>NS</sup>	0.4724	9.8754		
7	4	0.0155 <sup>NS</sup>	0.0054	11.4919	1.3490*	0.3953	8.6349	47479.2290 <sup>NS</sup>	33.38682
EE	24							41974.0830	

**Cuadro 4.1.5 Cuadrados Medios y significancias para las diferentes variables evaluadas en el análisis de varianza en Germinación de semillas de Tomate.**

F.V.	GL	Semillas Germinadas	Long. Tallo	Long. Raíz	IG	% Germinación
	26	2.8461**	1.6015**	0.6150**	588.5590**	284.6153**
EE	48	0.5308	0.1948	0.1107	98.2280	53.0833
CV		9.0395	8.1845	12.1957	13.9931	9.0395

**Cuadro 4.1.6 Cuadrados Medios y significancias para las diferentes variables evaluadas en el análisis de varianza en Germinación de semillas de Alfalfa.**

F.V.	GL	Semillas Germinadas	Long. Tallo	Long. Raíz	IG	% Germinación
	26	2.4746*	0.7317**	0.4957**	517.1632**	247.4615*
EE	48	1.3892	0.1268	0.0373	180.8109	138.9167
CV		30.0671	11.5680	12.7143	36.7632	30.0671

### **Diámetro de tallo en plantas**

En el cuadro 4.2.1 se observa que de acuerdo al resultado de análisis de varianza y la prueba de comparación de medias (Duncan) en diámetro de tallo se encontró diferencia significativa en la primera toma, siendo el tratamiento con mayor valor el 3 (N2) que se encuentra en el primer grupo de significancia.

A partir de la segunda toma se aprecia que todos los tratamientos tuvieron un comportamiento estadísticamente similar.

Jackson *et al.* (1964) señalaron incrementos hasta del 25 % en diámetro del tallo en plantas de tomate inoculadas con cepas nativas de *Azotobacter chroococcum* sin embargo en el presente proyecto no se presentaron dichos aumentos, pues se desconoce el origen de las bacterias y se debe tener presente que no todas actúan de la misma manera en condiciones diferentes y en concentraciones diferentes.

**Cuadro 4.2.1** Diámetro de tallo en plantas de tomate.

TRATAMIENTO	Toma de datos							
	1		2		3		4	
T1	2.76	BA	7.50	A	15.00	A	13.98	A
T2	2.76	BA	6.55	A	15.24	A	13.23	A
T3	3.01	A	7.51	A	15.36	A	13.47	A
T4	2.47	B	6.84	A	14.71	A	13.34	A
T5	2.78	BA	7.03	A	14.56	A	14.03	A
Coeficiente Variación		16.58		18.30		8.80		10.38

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

## Altura de plantas

Como se observa en el cuadro 4.2.2 de acuerdo al análisis de varianza y la prueba de Duncan en altura de plantas en la primer toma de datos, se aprecia una diferencia significativa entre los tratamientos obteniendo el mayor valor T5 (N5), seguido del T3, T2 (N2, Halófila respectivamente).

Para la segunda toma las diferencias unitarias son más visibles, T3 (N2) supera por aprox. 6 cm al testigo, seguido del T5 y T2 (N5 y Halófila respectivamente), donde T4 (N4) sigue siendo más bajo que T1 (testigo).

Para la tercera y cuarta toma de datos se aprecia que los tratamientos tuvieron un comportamiento similar.

**Cuadro 4.2.2** Altura de plantas de tomate.

TRATAMIENTOS	Toma de datos							
	1		2		3		4	
T1	13.06	B	45.43	B	66.25	A	67.75	A
T2	14.87	A	49.12	BA	80.5	A	77.62	A
T3	15.22	A	52.12	A	79.87	A	76.62	A
T4	12.87	B	44.87	B	74.00	A	72.62	A
T5	15.75	A	49.75	BA	72.25	A	74.37	A
Coeficiente Variación		11.43	9.78	17.62	16.01			

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Las bacterias producen sustancias promotoras de crecimiento vegetal entre las cuales se encuentran las auxinas que son sustancias orgánicas, las cuales tienen actividades que incluyen tanto estimulación (principalmente alargamiento celular) como inhibición del crecimiento, a los diferentes tejidos los cuales responden a concentraciones muy diferentes: las raíces son estimuladas a concentraciones inferiores a las que estimulan los tallos, en varios órdenes de magnitud (Bidwell, 1993).

Otro compuesto que en cantidades muy pequeñas, acelera el crecimiento del tallo, son las “giberelinas” (Ray, 1985).

Murty y Landha, (1988) menciona que en un experimento realizado pudo observar que aparte de la fijación de nitrógeno, hay un efecto positivo de estas bacterias sobre la longitud de tallo, número y área superficial de las raíces es debido a la secreción por las mismas sustancias estimuladoras del crecimiento (fitohormonas), tales como auxinas, giberelinas y compuestos fenólicos. Lo antes mencionado es la posible causa de que los tratamientos 2, 3 y 5 para las primeras 2 tomas hayan tenido un efecto positivo en altura de tallo.

## Contenido de clorofila en plantas

En el cuadro 4.2.3 se muestran los resultados de contenido de clorofila de las plantas donde para las tomas 1 y 2 no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

En la toma 3 si se encontraron diferencias significativas donde el mejor tratamiento fue T2 (Halófila) con 58.3, seguido del T5 (N5) con 57.9, los tratamientos T3 y T4 se encontraron en el segundo grupo de significancias y en el tratamiento con resultados menores fue T1 con 51.91.

**Cuadro 4.2.3** Contenido de clorofila en plantas de tomate.

TRATAMIENTO	Toma de datos					
	1		2		3	
T1	47.47	A	59.22	A	51.91	B
T2	49.69	A	62.22	A	58.30	A
T3	49.56	A	60.70	A	53.85	BA
T4	48.14	A	58.40	A	56.20	BA
T5	49.25	A	62.12	A	57.90	A
Coefficiente Variación	8.93		7.64		7.94	

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Se ha establecido que entre mayor sea el contenido de N en la hoja, mas alto resulta el contenido de clorofila y, por lo tanto, aumenta la capacidad fotosintética (Díaz, 2002). Por lo cual se considera que los tratamientos 2 y 5 obtuvieron mas contenido de clorofila que el testigo, el cual se mantuvo con niveles más bajos de clorofila.

## Contenido de nitrógeno en hojas

El cuadro 4.2.4 muestra que de acuerdo al análisis de varianza en contenido de nitratos en hojas se encontró diferencia significativa donde se muestra que T4 y T5 (N4 y N5 respectivamente) presentaron las medias más altas en la primera fecha de muestreo, reportándose que para la segunda toma de datos el T1 resulto con los valores más altos con 169.50 encontrando a los demás tratamientos en el segundo grupo de significancias y el contenido de N-NO<sub>3</sub> disminuyo en más de 50 %.

**Cuadro 4.2.4** Contenido de N-NO<sub>3</sub> en hojas.

TRATAMIENTOS	Toma de datos			
	1		2	
T1	493.42	B	169.50	A
T2	429.40	B	123.54	B
T3	482.12	B	120.53	B
T4	625.27	A	122.79	B
T5	617.72	A	124.30	B
Coeficiente Variación	12.42		15.82	

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Estudios anteriores (Bellaloui y Pilbeam, 1990., Carrasco et al., 1994) indican que la mayor acumulación de nitratos en las hojas viejas se debería a una menor actividad de la enzima nitrato reductasa, la cual es sustrato inducible. Se considera que tal vez por dicha actividad las plantas presentaron menores valores en la segunda toma de datos, donde el testigo obtuvo el valor más alto.



## Contenido de nitrógeno en peciolo

En el cuadro 4.2.5 se muestra que de acuerdo al análisis en contenido de Nitratos en peciolo no presento diferencias significativas en la primera toma de datos. Mientras que para la segunda toma se encontró diferencia significativa donde los tratamientos con valores más altos son T4 y T1 (N4 y testigo respectivamente), resultando T3, T5 y T2 los del segundo grupo de significancias (N2, N5 y Halófila, respectivamente).

**Cuadro 4.2.5** Contenido de N-NO<sub>3</sub> en peciolo.

TRATAMIENTOS	Toma de datos			
	1		2	
T1	1197.80	A	678.00	A
T2	1205.32	A	482.12	B
T3	1397.42	A	625.27	BA
T4	1435.10	A	723.20	A
T5	1378.60	A	527.32	B
Coeficiente Variación	9.06		12.61	

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Baldini *et al*, (1987) menciona, que en diferentes experimentos se ha puesto de manifiesto la inoculación de semillas de trigo con bacterias fijadoras de nitrógeno produce un incremento en la cantidad total de nitrógeno, entonces cuando las raíces absorben el amoniaco o el nitrato que se formaron por fijación o nitrificación se convierten en proteínas, ácidos nucleídos y clorofila. Por lo

cual se considera este el posible aumento en el contenido de Nitrógeno en forma de nitratos en las plantas.

Sin embargo la inactivación de estos inhibidores es rápida. Los efectos principales que provoca son aceleración en la pérdida de clorofila, turgencia de parénquimas y aparición en la hoja de pigmentos de senescencia. (Weaver, 1996). Lo cual se atribuye al posible efecto de pérdida de los valores de contenido de Nitrógeno en las plantas para la segunda toma de datos de esta variable.

Las plantas con mayor altura se presentaron en el tratamiento 3 (N2), pero en contenido de N-NO<sub>3</sub> en hojas y peciolo fue el tratamiento 4 (N4) y contenido de clorofila el mejor tratamiento fue el 2 (Halófila). Se puede observar que existe una relación inversa entre contenido de clorofila y N-NO<sub>3</sub>, a medida que el valor de contenido de clorofila aumenta el valor de N-NO<sub>3</sub> disminuye. El tratamiento testigo registro los valores más bajos en todas las variables medidas durante el experimento.

## **Cosecha de tomates**

### **Diámetro ecuatorial de tomates**

Como se muestra en el cuadro 4.3.1, de acuerdo al resultado de análisis de varianza en la variable diámetro ecuatorial en la toma 1, donde se indica que los tratamientos más recomendables son el T1 y T4 (Testigo y N4, respectivamente) con 38.9 y 36.4 mm respectivamente, colocando a los demás tratamientos en el segundo grupo de significancia.

Para la tercer toma se encontró diferencia significativa con el mejor tratamiento T4 (N4) con 39.9 mm y el menos recomendable T1 y T2 (Testigo y Haló respectivamente) con 29.4 mm.

Para la quinta toma se encontró diferencia significativa con el mejor tratamiento T1 (Testigo) con 32.4 mm y el menos recomendable T3 (N2) con 24.9 mm.

Para todas las demás tomas no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

**Cuadro 4.3.1** Comportamiento del Diámetro ecuatorial ( $\emptyset$ ) de tomates durante la cosecha.

Toma de Datos	Tratamientos										CV
	1		2		3		4		5		
	$\emptyset$ (mm)		$\emptyset$ (mm)		$\emptyset$ (mm)		$\emptyset$ (mm)		$\emptyset$ (mm)		
1	38.9	A	28.6	B	30.1	B	36.4	A	28.4	B	9.34
2	35.7	A	34.8	A	31.8	A	33.0	A	31.5	A	19.11
3	29.4	B	29.4	B	35.1	BA	39.9	A	31.0	B	15.31
4	30.9	A	31.2	A	33.3	A	33.3	A	30.5	A	17.29
5	32.4	A	26.9	BA	24.9	B	30.7	BA	27.4	BA	26.28
6	30.4	A	29.7	A	29.8	A	30.6	A	28.0	A	30.02
7	37.3	A	35.6	A	38.3	A	32.0	A	37.9	A	15.60

CV= coeficiente variación

## **Diámetro polar de tomates**

En el cuadro 4.3.2 se muestra que de acuerdo al resultado de análisis de varianza se encontró diferencia significativa en la variable diámetro polar en la toma 1, donde el tratamiento 1 y 4 (Testigo y N4 respectivamente) son los que obtuvieron mayores resultados con 56.5 y 50.0 mm respectivamente y siendo los tratamientos restantes los de menor valor.

Para la tercera toma se encontró diferencia significativa donde el tratamiento con mayor valor en diámetro polar fue T4 (N4) con 56.1 mm y el resto de los tratamientos se presentaron en el segundo grupo de significancias.

Para la séptima toma se encontró diferencia significativa donde el testigo obtuvo el mayor resultado con 48.8 mm y encontrando en segundo grupo de significancia a T3 (N2) con 35.7 mm.

Y para las tomas de datos restantes no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Cuadro 4.3.2 Comportamiento del Diámetro Polar ( $\emptyset$ ) de tomates durante la cosecha.

Toma de Datos	Tratamientos										
	1		2		3		4		5		CV
	$\emptyset$ (mm)		$\emptyset$ (mm)		$\emptyset$ (mm)		$\emptyset$ (mm)		$\emptyset$ (mm)		
1	56.5	A	31.4	B	34.2	B	50.0	A	33.4	B	13.37
2	45.9	A	41.0	A	32.4	A	37.8	A	36.7	A	33.72
3	29.4	B	30.1	B	38.7	B	56.1	A	35.2	B	25.72
4	32.2	A	33.4	A	38.3	A	38.1	A	29.0	A	30.23
5	33.7	A	27.8	A	25.6	A	33.6	A	29.3	A	22.77
6	35.2	A	33.1	A	32.2	A	34.0	A	30.6	A	44.62
7	48.8	A	46.3	BA	35.7	B	41.8	BA	45.7	BA	18.76

CV= coeficiente variación.

### Grosor de pericarpio en tomates

En el cuadro 4.3.3 se muestra que de acuerdo al resultado de análisis de varianza se encontró diferencia significativa en grosor de pericarpio en la primer toma, donde el testigo resultó el tratamiento con mayor valor con 7.11 mm y el T2 (Halófila) se considero el de menor valor con 4.73 mm.

Para la cuarta toma se encontró diferencia significativa donde T4 (N4) resultó el tratamiento con 6.51 mm como el de mayor valor y el de menor valor fue T2 (Halófila) con 5.50 mm.

Para la séptima toma se encontró diferencia significativa donde testigo con 7.50 mm fue el tratamiento con mayor valor y el de menor valor resulto T4 (N4) con 5.25 mm.

Para las demás tomas no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Cuadro 4.3.3. Comportamiento del Grosor del Pericarpio de tomates durante la cosecha.

Toma de Datos	Tratamientos										
	1		2		3		4		5		CV
	Grosor (mm)		Grosor (mm)		Grosor (mm)		Grosor (mm)		Grosor (mm)		
1	7.11	A	4.73	C	5.11	C	6.78	A	5.82	B	
2	7.44	A	5.91	A	6.07	A	5.39	A	6.14	A	23.10
3	5.95	A	5.89	A	5.92	A	6.23	A	5.34	A	20.63
4	6.22	B	5.50	B	5.77	B	6.51	A	6.02	B	9.44
5	6.94	A	11.50	A	7.06	A	7.06	A	6.63	A	52.72
6	6.69	A	5.88	A	6.62	A	7.13	A	5.57	A	18.47
7	7.50	A	6.50	B	6.17	B	5.25	B	6.67	B	11.49

CV= coeficiente de variación.

Esto no concuerda con un estudio realizado para tomate Saladet donde el grosor del pericarpio tiene una media de 6.40- 4.97 mm (Sanchez, 1983). Ya que en nuestra investigación el grosor alcanzo valores mas altos que en tomate Saladet.

### **Contenido de azúcar en frutos de tomate**

En el cuadro 4.3.4 se muestra que se encontró diferencia significativa en contenido de azúcar en frutos de tomate en la primera toma, donde los valores más altos fueron para tratamiento testigo y T4 (N4) con 7.11 y 6.78 °Bx y el menor valor T2 (Halófila) con 4.73 °Bx.

Para la tercer y cuarta toma se encontró diferencia significativa donde el mejor resultado fue para tratamiento T2 en ambas tomas con 6.93 y 6.90 °Bx respectivamente y los valores mas bajos se encontraron en T3 y T4 con 5.58 y 5.47 °Bx respectivamente.

Para la séptima toma se encontró diferencia significativa donde los resultados más altos fueron para T1 y T4 con 7.84 y 7.78 °Bx y el menor valor se obtuvo en T3 con 6.63 °Bx.

El tratamiento 4 y tratamiento 2 en la primer toma de datos obtuvieron valores bajos, sin embargo en las siguientes tomas fueron los mejores tratamientos



manteniendo el valor del contenido de azúcar más alto que el testigo e incluso que los tratamientos restantes.

Cuadro 4.3.4 Comportamiento del contenido de azúcar (°Bx) de tomates durante la cosecha.

Toma de Datos	Tratamientos										
	1		2		3		4		5		CV
	°Bx		°Bx		°Bx		°Bx		°Bx		
1	7.11	A	4.73	C	5.11	C	6.78	A	5.82	B	4.75
2	5.80	A	6.60	A	5.90	A	6.13	A	6.07	A	9.25
3	6.20	B	6.93	A	5.58	C	6.30	B	6.40	B	5.08
4	6.20	BA	6.90	A	5.96	BA	5.47	B	6.57	BA	11.44
5	6.08	A	6.77	A	6.43	A	6.57	A	7.58	A	13.17
6	6.28	A	7.35	A	7.00	A	6.98	A	7.20	A	9.88
7	7.84	A	7.19	BA	6.63	B	7.78	A	6.98	BA	8.63

CV= coeficiente Variación.

Los resultados no coinciden con lo reportado por Juárez-López *et al.* (2009), donde se obtuvo entre 5.8 y 8.0 °Brix para la variedad Cherry, ya que en el presente trabajo se manejaron resultados de entre 4.73 a 7.84 °Brix. Es posible encontrar mayores concentraciones de azúcares en los tipo “Cherry” que en otros tipos, como concluyeron George *et al.* (2004). Sin embargo si coincide con estudios que afirman que un valor mayor o igual a 4.0 es considerado bueno (Osuna, 1983; Moreno, 1997).

## Peso total de frutos cosechados

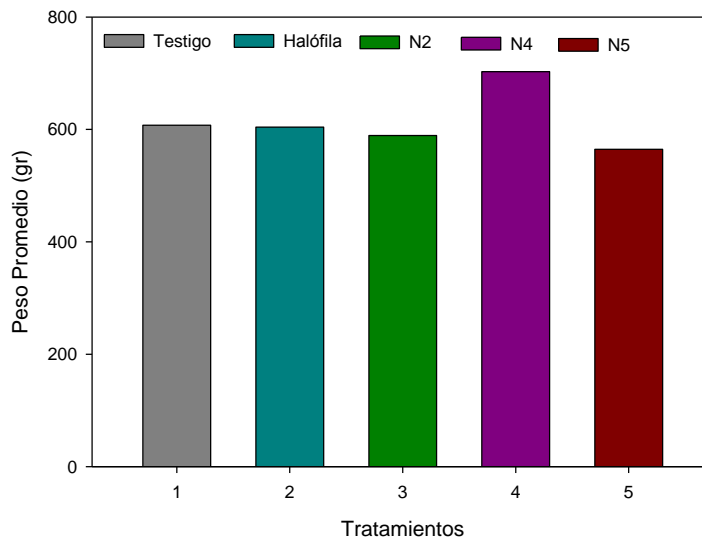
En el cuadro 4.3.5 se muestran los resultados de las medias de datos donde no se encontraron diferencias

Cuadro 4.3.5 Comportamiento de los frutos de tomate en la variable Peso Promedio de frutos.

Tratamiento	Peso (gr)	
1	607.60	A
2	604.10	A
3	589.20	A
4	702.70	A
5	564.60	A

Coeficiente variación=33.38.

En la siguiente figura se muestran los rendimientos de las plantas por tratamiento, donde se nota claramente que los mejores resultados se obtuvieron en el T4 (N4) donde se muestra que obtuvo mayores resultados que el testigo por 13.53 % y que el tratamiento 5 que fue el más bajo por 19.65 % (Figura 1).



**Figura 1.** Peso promedio de las cosechas por tratamiento.

Una de las funciones de las auxinas es estimular la formación de frutos (partenocarpicos en ocasiones) (Weaver, 1996).

Esto se le atribuye al posible efecto de las bacterias en los tomates con tratamiento para los resultados de los frutos cosechados, donde se coincide con Rojas (1995); que también encontró estimulación del rendimiento en tomate aplicando reguladores de crecimiento.

### **Peso fresco de las plantas**

En el cuadro 4.3.6 se muestran los resultados de las medias de datos donde de acuerdo al resultado de análisis de varianza y la prueba de comparación de medias donde no se encontraron diferencias.

Esta variable se esperaba que fuese mayor en el tratamiento 2 y 3 (Halófila y N2) porque fueron las plantas mas altas, sin embargo las plantas crecieron mucho en follaje.

Cuadro 4.3.6 Peso fresco de las plantas

Tratamientos	Peso Fresco (gr)	DMS
1	635.50	A
2	586.13	A
3	550.00	A
4	538.50	A
5	525.50	A

DMS= diferencia mínima significativa. Coeficiente Variación= 19.85.

### **Peso seco de las plantas**

En el cuadro 4.3.7 se muestran los resultados de las medias de datos donde no se encontró diferencias significativas.

Cuadro 4.3.7 Peso seco de las plantas

Tratamientos	Peso Seco (gr)	DMS
1	171.75	A
2	174.38	A
3	168.00	A
4	171.50	A
5	180.00	A

DMS= diferencia mínima significativa. Coeficiente Variación= 9.77.

González (1991), menciona que la proporción en que está constituida una planta es de un 70 % de agua, 27 % de materia orgánica y 3 % de minerales, ya que se supone que son plantas adultas; Es importante recalcar que a mayor peso seco, hubo mayor área fotosintética y por lo tanto mayor vigor en plántulas, por lo cual se le atribuye este efecto al tratamiento 5 (N5), que fue el que resulto con mayor peso seco.

## **Experimento de germinación de semillas de tomate y alfalfa en laboratorio**

### **Semillas germinadas de tomate**

En el cuadro 4.4.1 de acuerdo al resultado de análisis de varianza se encontró diferencia significativa encontrando en el primer grupo de significancias al tratamiento 14 considerándose como el de mayor valor, el cual corresponde a la bacteria N4 con una concentración de 0.0045 %, germinando 10 semillas, por lo contrario se considera al tratamiento 17 con menor valor que corresponde a la bacteria N4 con una concentración de 0.045 % con tan solo 6 semillas germinadas; el testigo (tratamiento 1) en esta variable tiene 8.5 semillas germinadas.

Esta respuesta, pudo ser efecto de la producción hormonal de la bacteria. Sin embargo, al incrementar la dosis el comportamiento desciende., lo cual indica que solo con pequeñas dosis se pueden obtener estos efectos (Okon, 1982).

Cuadro 4.4.1 Semillas germinadas de tomate.

TRATAMIENTO	SEMILLAS GERMINADAS	SIGNIFICANCIA
14	10.0	A
20	9.5	BA
16	6.0	G
17	6.0	G

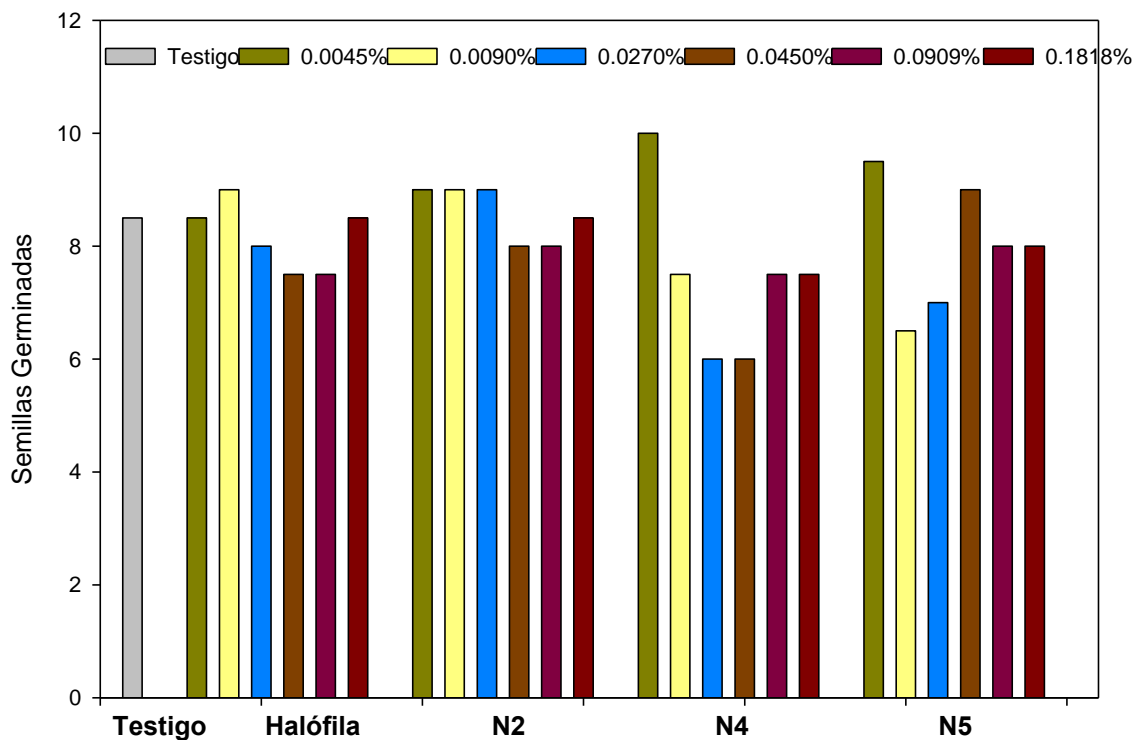
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. Coeficiente Variación= 9.04.

En la siguiente figura se muestra el comportamiento de las semillas germinadas en base a las bacterias y sus concentraciones, notándose que las bacterias halófilas responden de manera positiva a concentraciones bajas obteniendo su valor óptimo en la concentración 0.0090 % pero nótese que en la dosis más alta también tuvo efecto positivo,

Para la bacteria N2 se muestra un comportamiento uniforme en las dosis bajas y una inhibición en dosis más altas.

Para la bacteria N4 el valor óptimo se encontró en la dosis más baja 0.0045 % en cuanto se incrementa la concentración baja el rendimiento considerablemente.

Para N5 la dosis óptima se encuentra en 0.0045 %, teniendo un descenso en las siguientes dosis y aumentando nuevamente la germinación en la dosis 0.045 % (figura 2).



**Figura 2.** Interacción de cuatro grupos de bacterias y sus concentraciones en el Número de Semillas Germinadas de Tomate.

Según Kloepper *et al.* (1991), algunas PGPBs productoras de auxinas pueden incrementar la emergencia de semillas vegetales por lo cual se conocen como bacterias promotoras de emergencia, dentro de ellas se encuentra *Azospirillum brasilense*. Sin embargo los compuestos fenólicos también tienen efectos de deprimir la germinación, desarrollo de yemas y crecimiento. Esto se le atribuye al posible efecto de germinación en las semillas de tomate donde se

muestran niveles bajos y altos de semillas germinadas a diferentes concentraciones.

### **Longitud de tallo en plántulas de tomate**

En el cuadro 4.4.2 se observa que se encontró diferencia significativa encontrando en el primer grupo de significancias al tratamiento 3 que corresponde a la bacteria Halófila con una concentración de 0.0090 % con mayor altura de 6.85 cm, seguido por el tratamiento 15 correspondiente a la bacteria N4 que tiene una concentración de 0.0090 con una altura de 6.56 cm; considerándose al tratamiento 24 correspondiente a la bacteria N5 con una concentración de 0.0909 con una altura de 4.27 cm como el de menor altura, obteniendo los resultados del testigo (tratamiento 1) con una altura de 5.43 cm.

Este tipo de comportamiento es típico de las hormonas, las cuales ejercen un efecto positivo dentro de un determinado rango de concentración, el cual desaparece por encima o por debajo de dicho rango, llegando a ejercer incluso, un efecto inhibitor fuera de estos límites. (Okon, 1982)



Cuadro 4.4.2 Longitud de tallo en plántulas de tomate.

TRATAMIENTO	LONGITUD DE TALLO (cm)	SIGNIFICANCIA
3	6.85	A
15	6.56	A
7	4.34	IJ
24	4.27	J

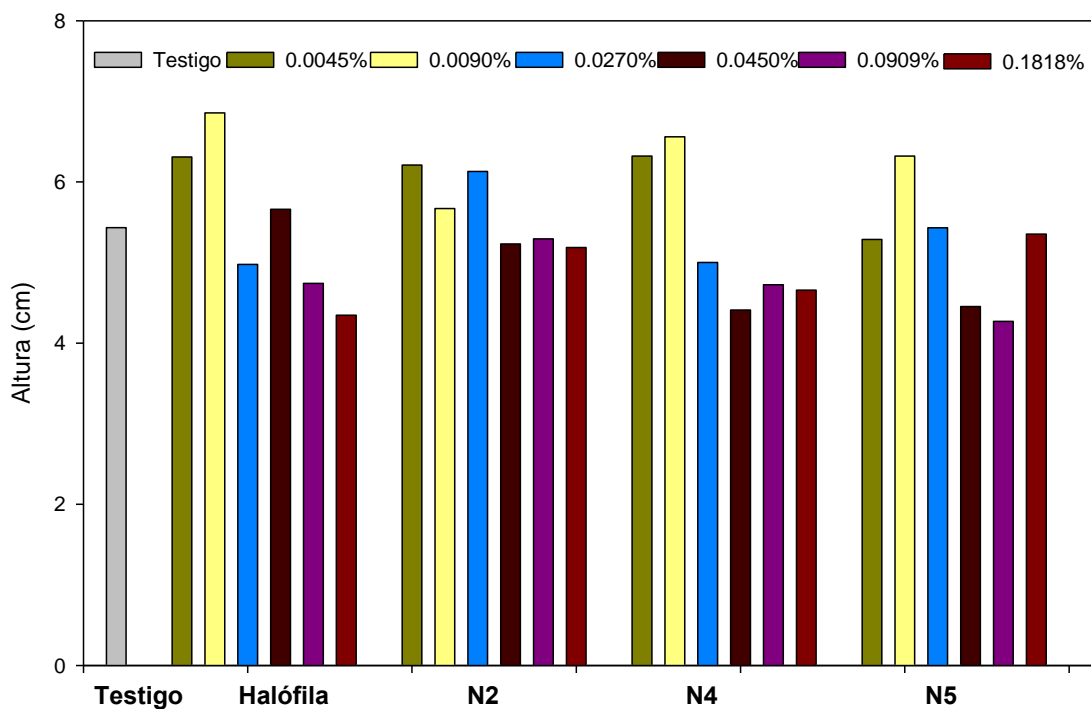
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. Coeficiente Variación=8.18.

En la siguiente figura se muestra el comportamiento de las bacterias en la variable longitud de tallo notándose que en la bacteria halófila se nota mejor desarrollo en las dosis bajas teniendo el resultado optimo en la concentración 0.0090 %.

En la bacteria N2 se nota similar reacción a la bacteria halófila pero con menores valores encontrando el optimo en las dosis 0.0045 y 0.0270 %.

En la bacteria N4 se aprecia aun mejor esta reacción encontrando el optimo en la concentración 0.0090 %.

Para N5 se nota la dosis ideal en la concentración 0.0090 % y como se va inhibiendo el desarrollo a mayor concentración aunque en la dosis más alta hay un incremento (figura 3).



**Figura 3.** Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en Longitud de Tallo en plántulas de Tomate.

### Longitud de radícula en plántulas de tomate

En el cuadro 4.4.3 se observa que se encontraron diferencias significativas donde se obtuvo en el primer grupo de significancias al tratamiento 21 correspondiente a la bacteria N5 con una concentración de 0.0090 como el de mayor longitud de 3.57 cm y siendo el de menor valor el tratamiento 24 correspondiente a la bacteria N5 con una concentración de 0.909 con una longitud de 1.92, el testigo se encuentra en una longitud de 3.09 cm.

Repitiéndose el comportamiento de las bacterias que en longitud de tallo que presentan un efecto positivo dentro de un determinado rango de concentración, el cual desaparece por encima o por debajo de dicho rango, llegando a ejercer, un efecto inhibitor fuera de estos límites.

Cuadro 4.4.3 Longitud de radícula en plántulas de tomate.

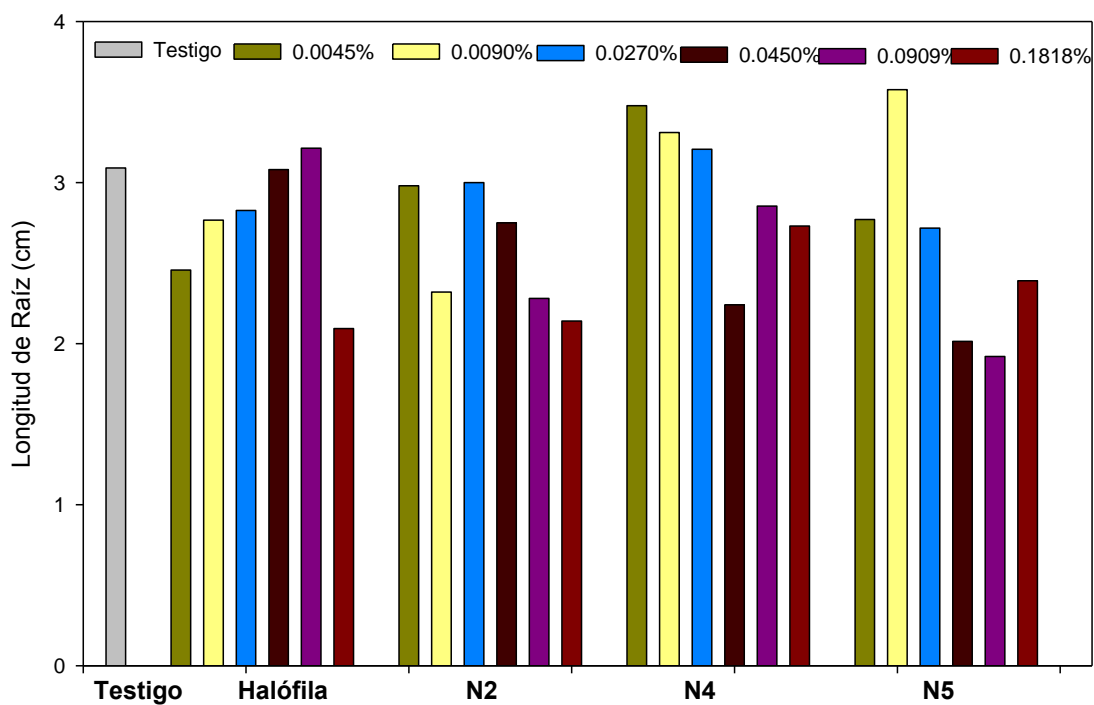
TRATAMIENTO	LONGITUD DE RADÍCULA (cm)	SIGNIFICANCIA
21	3.57	A
14	3.47	BA
23	2.01	I
24	1.92	I

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. Coeficiente Variación= 12.20.

En la siguiente figura se muestra el comportamiento de las bacterias para la variable Longitud de Radícula, la cual en la bacteria Halófila se nota que el mejor desarrollo fue para las dosis más altas encontrando la optima en la dosis 0.0909 % y al final se aprecia un decremento en los resultados de esta variable.

En la bacteria N2 hay una interacción de la bacteria con respecto a las dosis encontrando su valor optimo en las dosis 0.0045 y 0.0270 %.

Para la bacteria N4 el óptimo se encontró en la dosis mas baja 0.0045 %, inhibiendo el crecimiento de las plantas cuando se aumenta la concentración. Para N5 el optimo se encontró en la concentración 0.0090 % notándose inhibición en el resto de las concentraciones (figura 4).



**Figura 4.** Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en Longitud de Radícula en plántulas de Tomate.

En algunas plantas el etileno estimula la germinación de las semillas (Esashi, 1991), pero si el nivel de etileno posterior a la germinación es demasiado alto, se inhibe la elongación de la raíz (Glick *et al*, 1999). Por esta razón se cree que tal efecto se presentó en las semillas tratadas con las bacterias donde se presentó inhibición en longitud de raíz para algunos casos.

## Índice de germinación en semillas de tomate

En el cuadro 4.4.4 se encontraron diferencias significativas donde el tratamiento 14 que corresponde a la bacteria N4 se encuentra en el primer grupo de significancia, obteniendo un 112.46 este tratamiento cuenta con una concentración de 0.0090, observando al testigo 86.83 y al tratamiento de menor valor el 17 también correspondiente a la bacteria N4 con un IG de 43.53, con una dosis de 0.0450.

Cuadro 4.4.4 Índice de germinación en semillas de tomate.

TRATAMIENTO	INDICE GERMINACION	SIGNIFICANCIA
14	112.46	A
8	86.83	B
24	49.68	FG
17	43.53	G

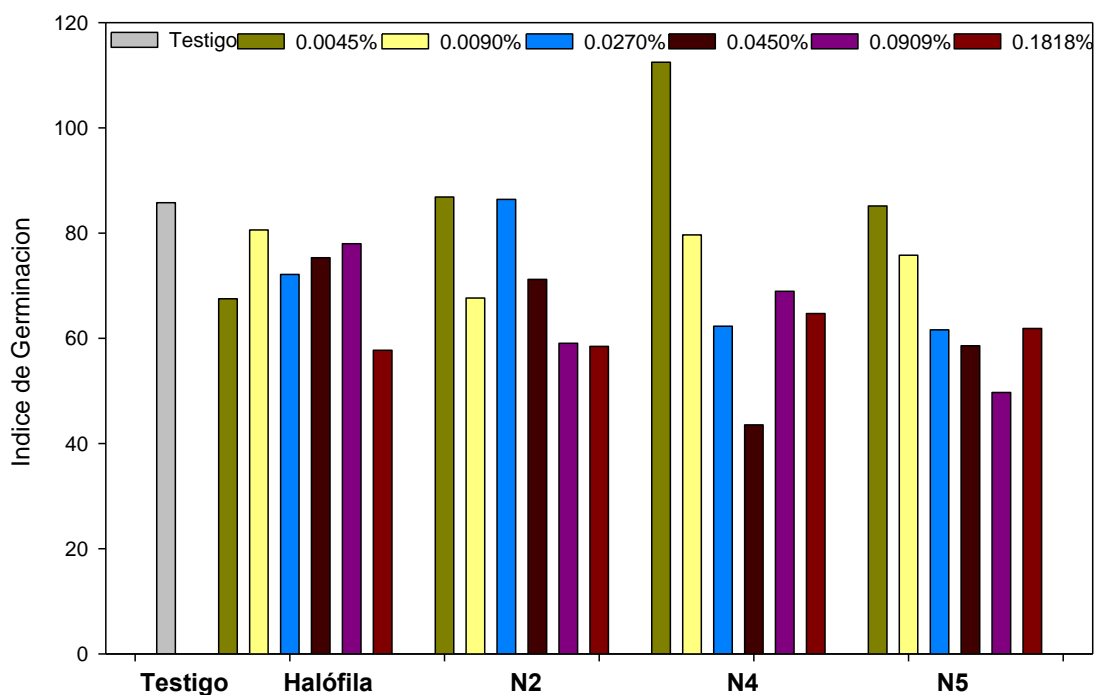
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. Coeficiente Variación= 13.99.

En la siguiente figura se muestra el comportamiento de las bacterias de acuerdo al índice de germinación notándose que la bacteria halófila muestra para todas las dosis un comportamiento que varía muy poco.

Para la bacteria N2 se notan dos valores óptimos 0.0045 y 0.0270 % donde a mayor concentración se inhibe la germinación.

Para la bacteria N4 el valor optimo se encuentra en la dosis mas baja 0.0045 % donde a mayor concentración disminuye la germinación.

Finalmente para la bacteria N5 se nota el mismo comportamiento aunque a valores más bajos (figura 5).



**Figura 5.** Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en el Índice de Germinación de semillas de Tomate.

### Porcentaje de germinación en semillas de tomate

En el cuadro 4.4.5 se muestra se encontraron diferencias significativas en el cual el tratamiento 14 obtuvo el mayor porcentaje de germinación con un 100 % encontrándose en el primer grupo de significancia, el testigo solo obtuvo el 85 % y

el tratamiento con valores mas bajos fue tratamiento 16 con tan solo 60 %, este tratamiento corresponde a la bacteria N4 concentración 4 con una concentración de 0.0270 % respectivamente.

Cuadro 4.4.5 Porcentaje de germinación en semillas de tomate.

TRATAMIENTO	% GERMINACION	SIGNIFICANCIA
14	100	A
20	95	BA
16	60	G
17	60	G

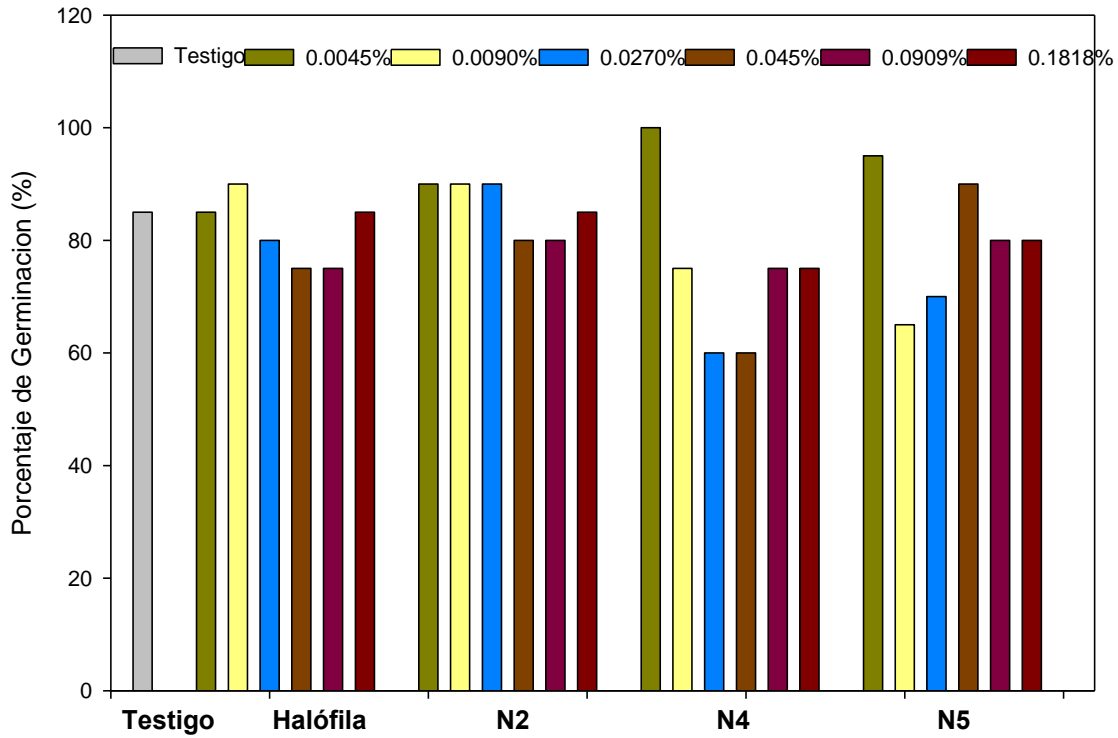
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. Coeficiente Variación= 9.04.

En la siguiente figura se muestra el comportamiento de las bacterias con respecto al porcentaje de germinación donde la bacteria Halófila muestra que su valor optimo se encontró en la concentración 0.0090 %, seguido de 0.0045 y 0.1818 %.

La bacteria N2 muestra un comportamiento similar para las dosis mas bajas inhibiendo su germinación en dosis altas.

Para la bacteria N4 su valor optimo se encontró en la concentración 0.0045 % donde a mayor concentración se inhibe la germinación de las semillas.

Para la bacteria N5 se nota un optimo en la concentración 0.0045 % seguido de las concentraciones 0.0450, 0.0909 y 0.1818 % (figura 6).



**Figura 6.** Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en el Porcentaje de Germinación en semillas de Tomate.

Las bacterias rizosféricas promotoras de crecimiento vegetal (PGPBs) fijan N<sub>2</sub>, con capacidad de producir fitohormonas como giberelinas y ácido indolacético (De Freitas y Germida, 1989; Muhammad y Frankenberger, 1991), lo que estimula la germinación (Bashan y Holguin, 1994). Como se aprecia en el tratamiento N4 concentración 1 y N5 cocetracion 1 que fueron los tratamientos donde se obtuvo mayor porcetaje de germinación.



## Semillas germinadas de alfalfa

En el cuadro 4.5.1 se observa que de acuerdo al análisis de varianza se encontró al tratamiento 20 que corresponde a la bacteria N5 como el de mayor valor encontrándose en el primer grupo de significancia con una dosis de 0.0045 con un total de semillas germinadas 6.0, el testigo obtuvo 4.5 y al tratamiento de menor valor fue 19 correspondiente a la bacteria N4 con una concentración de 0.1818 con 2.5 semillas germinadas.

Cuadro 4.5.1 Semillas germinadas de alfalfa.

TRATAMIENTO	SEMILLAS GERMINADAS	SIGNIFICANCIA
20	6.0	A
11	5.5	BA
2	2.5	D
19	2.5	D

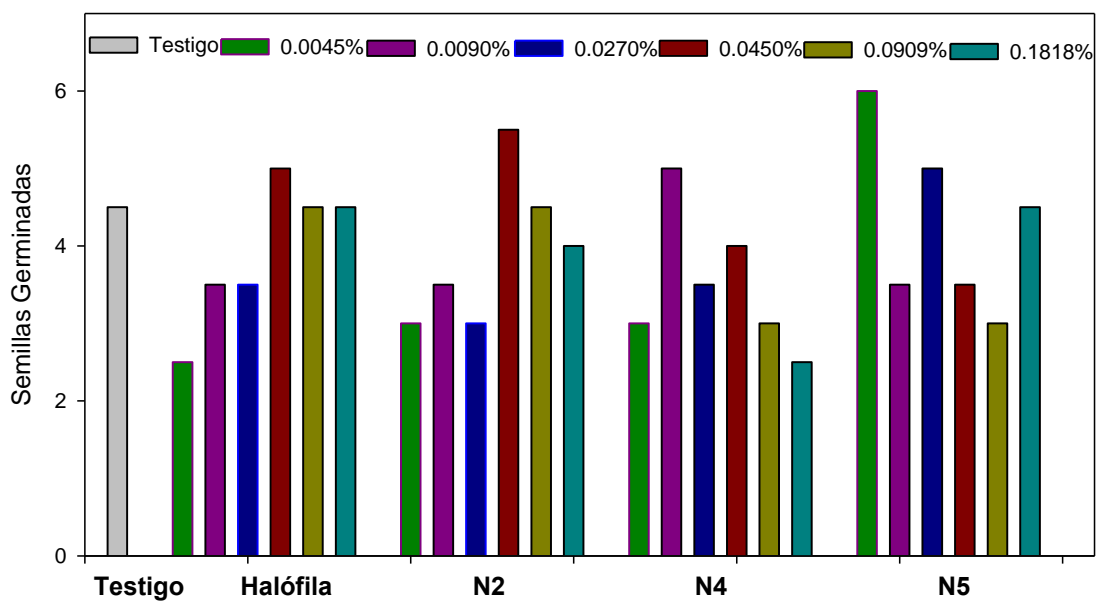
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. Coeficiente Variación= 30.07.

En la siguiente figura se muestra el comportamiento de las bacterias en la variable de semillas germinadas de alfalfa donde la bacteria Halófila muestra que en las dosis bajas existió inhibición y su óptimo se encontró en la concentración 0.0450 %.

Para la bacteria N2 el comportamiento es similar al anterior donde de la misma manera la concentración óptima resulto 0.0450 %.

Para la bacteria N4 se muestra un óptimo en la concentración 0.0090 % inhibiendo la germinación en las dosis más altas.

Para N5 la óptima se encontró en la concentración más baja 0.0045 % donde a mayor concentración se inhibe la germinación de las semillas (figura 7).



**Figura 7.** Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en Semillas germinadas de Alfalfa.

Según Kloepper *et al.* (1991), algunas PGPBs productoras de auxinas pueden incrementar la emergencia de semillas vegetales por lo cual se conocen como bacterias promotoras de emergencia, dentro de ellas se encuentra

*Azospirillum brasilense*. Sin embargo los compuestos fenólicos también tienen efectos de deprimir la germinación, desarrollo de yemas y crecimiento. Esto se le atribuye al posible efecto de germinación en las semillas de alfalfa donde son más notables los resultados de las semillas de alfalfa en los cuales se encontró menor número de semillas germinadas en todas las concentraciones con respecto a las semillas de tomate.

### Longitud de tallo en plántulas de alfalfa

En el cuadro 4.5.2 se muestra que se encontraron diferencias significativas donde tratamiento 14 correspondiente a la bacteria N4 se considero el de mayor valor con altura de 4 cm con una dosis de 0.0045, el testigo con altura de 3.6 y siendo el de menor valor el tratamiento 13 correspondiente a la bacteria N2 con una altura de 2.1 cm con una concentración de 0.1818.

Cuadro 4.5.2 Longitud de tallo en plántulas de alfalfa.

TRATAMIENTO	LONGITUD DE TALLO (cm)	SIMBOLOGIA
14	4.0	A
3	3.9	BA
7	2.4	GH
13	2.1	H

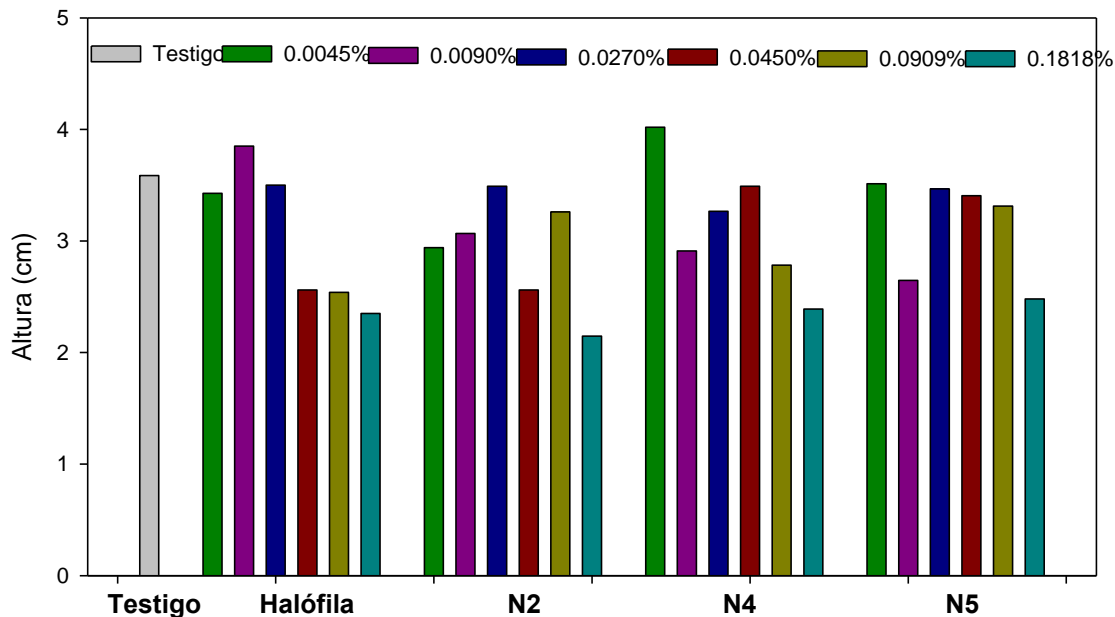
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. Coeficiente Variación= 11.57.

En la siguiente figura se muestra el comportamiento de las bacterias en la variable altura de tallo donde para la bacteria Halófila las mejores concentraciones fueron las más bajas encontrando al óptimo en 0.0090 % donde a mayor concentración se inhibe el crecimiento de las plántulas.

Para la bacteria N2 el óptimo se encontró en la concentración 0.0270 % se nota que en dosis más bajas el resultado es menor y también para dosis más altas.

Para la bacteria N4 el óptimo se encontró en la concentración 0.0045 % donde las dosis siguientes se inhibe el crecimiento de las plántulas.

Para la bacteria N5 el comportamiento es poco variable el óptimo se encuentra en la concentración 0.0045, seguido de 0.0270, 0.0450 y 0.0909 % (figura 8).



**Figura 8.** Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en Longitud de tallo en plántulas de Alfalfa.

### Longitud de radícula en plántulas de alfalfa

En el cuadro 4.5.3 se muestra que se encontró diferencia significativa donde en el primer grupo de significancia se encuentra al tratamiento 3 correspondiente a la bacteria Halófila con una longitud de 2.5 cm este tiene una concentración de 0.0090 %, el testigo obtuvo una longitud de 1.6 cm y el menor valor se obtuvo en tratamiento 6 correspondiente a la bacteria Halófila con una concentración de 0.0909 % y una longitud de 0.8 cm.

Cuadro 4.5.3 Longitud de radícula en plántulas de alfalfa.

TRATAMIENTO	LONGITUD DE RADÍCULA (cm)	SIMBOLOGIA
3	2.5	A
20	2.1	B
19	1.0	NM
6	0.8	N

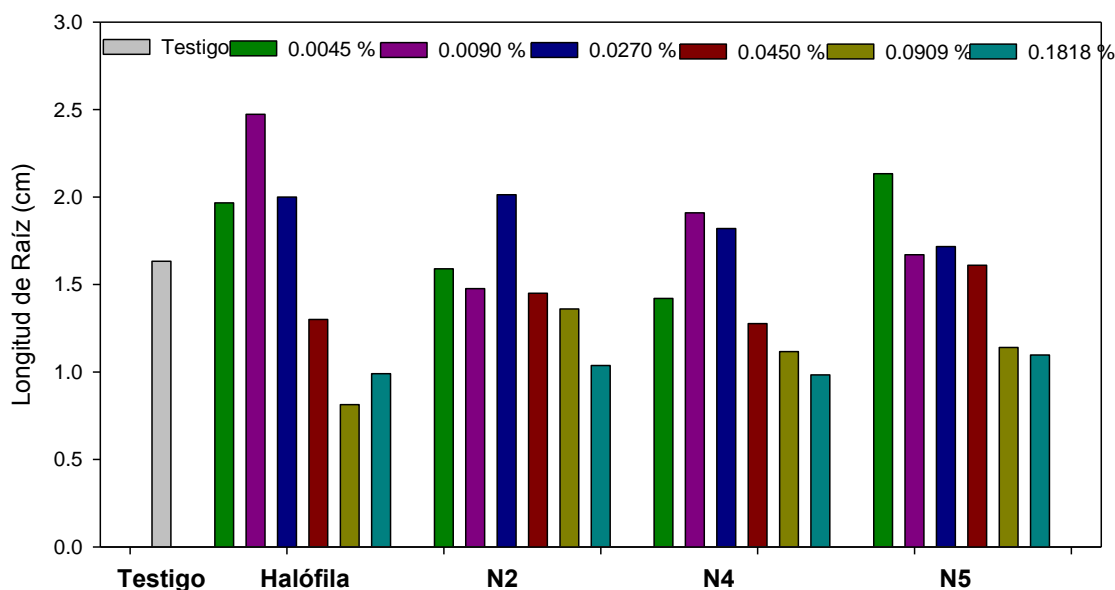
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. Coeficiente Variación= 12.71.

En la siguiente figura se muestra el comportamiento de las bacterias con respecto a la longitud de radícula donde la bacteria Halófila tiene su valor óptimo en la dosis 0.0090 % se nota que a mayor concentración la longitud se inhibe.

Para la bacteria N2 el óptimo esta en la concentración 0.0270 % donde en las demás concentraciones su crecimiento es menor.

Para la bacteria N4 su valor óptimo se encuentra en la concentración 0.0090 y 0.0270 %, notándose que a mayor dosis se inhibe el crecimiento de la radícula.

Para la bacteria N5 el valor óptimo esta en la concentración 0.0045 % a mayor concentración se inhibe el crecimiento de las raíces (figura 9).



**Figura 9.** Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en Longitud de Radícula de plántulas de Alfalfa.

En algunas plantas el etileno estimula la germinación de las semillas (Esashi, 1991), pero si el nivel de etileno posterior a la germinación es demasiado alto, se inhibe la elongación de la raíz (Glick *et al*, 1999). Por esta razón se cree que tal efecto se presentó en las semillas tratadas con las bacterias donde se presentó inhibición en longitud de raíz para algunos casos.

### Índice de germinación en semillas de alfalfa

En el cuadro 4.5.4 se observa que se encontraron diferencias significativas donde el tratamiento 20 correspondiente a la bacteria N5 se colocó como el mayor con un IG de 74.9 este tiene una concentración de 0.0045, el testigo tiene un IG

de 44.8 y el menor valor para el tratamiento 15 correspondiente a la bacteria N4 con IG 15.2 y una concentración de 0.0090.

Cuadro 4.5.4 Índice de germinación en semillas de alfalfa.

TRATAMIENTO	INDICE DE GERMINACION	SIMBOLOGIA
20	74.9	A
15	58.5	BA
18	20.5	FG
19	15.2	G

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. Coeficiente Variación= 36.76.

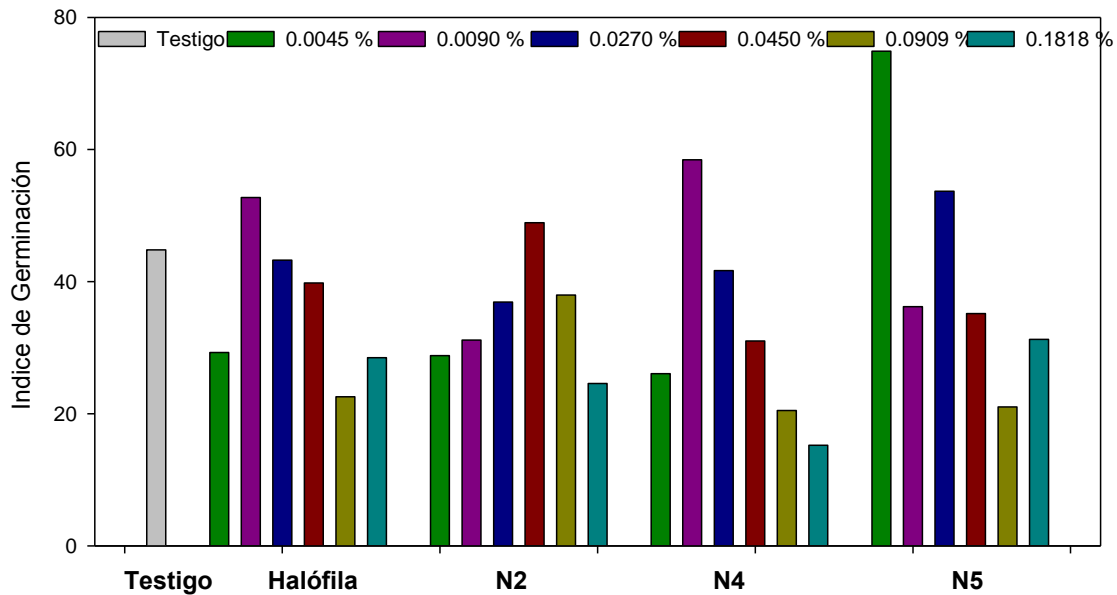
En la siguiente figura se muestra el desarrollo de las bacterias con respecto al índice de germinación donde la bacteria Halófila muestra su valor óptimo en la concentración 0.0090 % notando se que a mayor concentración se inhibe la germinación de las semillas.

Para la bacteria N2 su óptimo se encuentra en la concentración 0.045 % donde en las dosis bajas no hay buen desarrollo y después del óptimo se decrece la germinación.

Para la bacteria N4 el óptimo se encuentra en 0.0090 % y después se inhibe la germinación de las semillas.



Para la bacteria N5 el optimo se encuentra en la dosis mas baja 0.0045 %, seguido de la dosis 0.0270 % en las demás dosis el resultado fue menor (figura 10).



**Figura 10.** Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en el Índice de Germinación en semillas de Alfalfa.

### Porcentaje de germinación en semillas de alfalfa

En el cuadro 4.5.5 se muestra que de acuerdo al análisis de varianza se encontró al tratamiento 20 correspondiente a la bacteria N5 al 0.0045 % como el mayor con un 60 % el testigo con 45 % y el menor es tratamiento 2 y 19 que corresponde a las bacterias Halófila y N4, con una concentración de 0.0045 y 0.1818 respectivamente con un 25 % de germinación.

Cuadro 4.4.5 Porcentaje de germinación en semillas de alfalfa.

TRATAMIENTO	% DE GERMINACION	SIMBOLOGIA
20	60	A
11	55	BA
24	30	DC
2	25	D
19	25	D

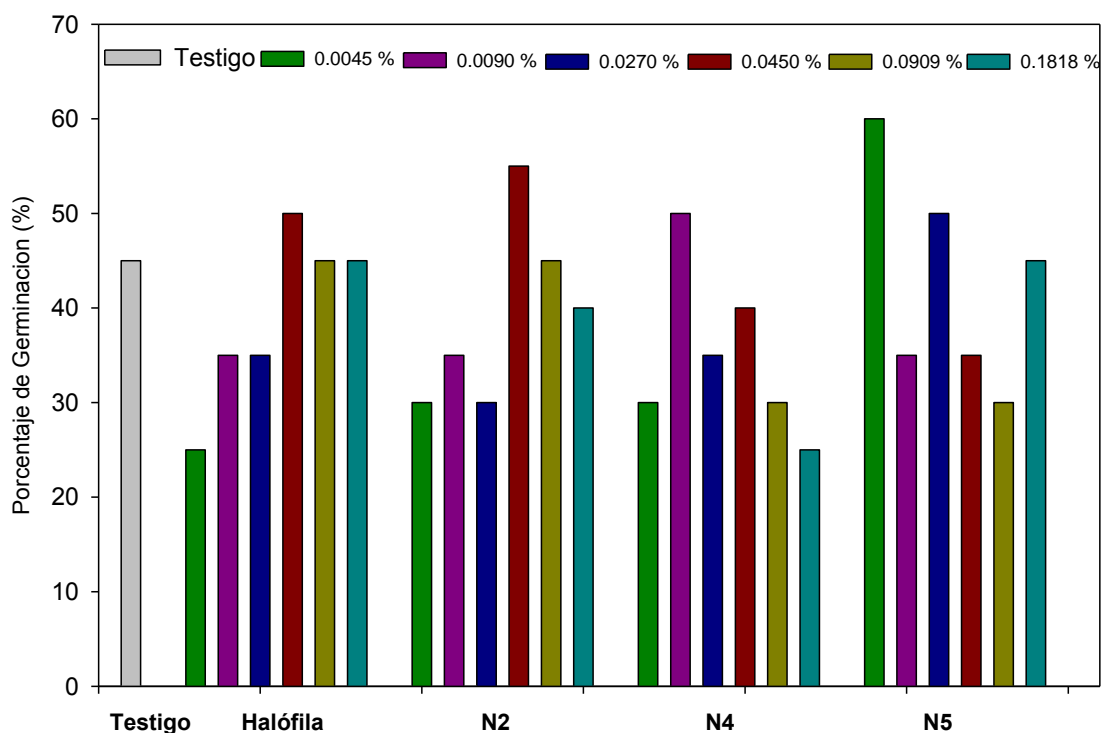
Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. Coeficiente Variación= 30.07.

En la siguiente figura se muestra el comportamiento de las bacterias en relación con el porcentaje de germinación donde la bacteria Halófila mostro su optimo en la concentración 0.0450 % seguido de 0.0909 y 0.1818 %.

Para la bacteria N2 se inhibió la germinación en las concentraciones bajas donde el optimo fue en la concentración 0.0450 %.

Para la bacteria N4 el optimo se encuentra en la concentración 0.0090 % a mayor concentración se inhibe la germinación.

Para la bacteria N5 el optimo se encontró en la concentración mas baja 0.0045 %, seguido de 0.0270 y 0.1818 % (figura 11).



**Figura 11.** Interacción de cuatro cepas de bacterias y sus concentraciones en el Porcentaje de Germinación en Semillas de Alfalfa.

Las bacterias rizosféricas promotoras de crecimiento vegetal (PGPBs) fijan  $N_2$ , con capacidad de producir fitohormonas como giberelinas y ácido indolacético (De Freitas y Germida, 1989; Muhammad y Frankenberger, 1991), lo que estimula la germinación (Bashan y Holguin, 1994). En el tratamiento N5 concentración 1 se aprecia lo mencionado anteriormente.

De acuerdo a otros trabajos realizados se encontró que Hernández *et al.*, (1997) reportaron que una sobredosis de bacteria podría provocar un efecto inhibitorio en la planta, ya que en el suelo estéril no se encuentran otros

microorganismos que interactúen con *Azospirillum* lo que permite que la producción de hormonas se acumule provocando un efecto depresivo en la plántula (Hernández *et al.*, 1996).

Al respecto, Chanway *et al.* (1989) evaluaron el efecto de la inoculación con nueve cepas de bacterias de los géneros *Pseudomonas* sp. y *Serratia* sp. en dos especies de leguminosas y encontraron efectos positivos significativos ( $= 0.05$ ) en la germinación de lenteja (*Lens esculenta*) causados por la inoculación de las cepas, con incrementos de hasta 38.9% con la mejor cepa en comparación con el testigo (sin inocular).

La producción de enzimas y de fitohormonas por las PGPBs son dos de los mecanismos que favorecen la germinación de semillas vegetales (Kloepper 1986 citado por Kloepper *et al.*, (1991); Schmidt, (2000); Bellis y Ercolani, (2001).

Las bacterias productoras de fitohormonas pueden ser promotoras de la emergencia, como *A. brasilense* (Paredes- Cardona *et al.*, 1988; Bashan, 1993; Bashan y Holguin, 1997). Como se pudo apreciar para ambas especies (tomate y alfalfa) el incremento de la germinación fue de poco mas de 20 % en comparación con e testigo, por lo cual se le atribuye dicho incremento a la promoción de las bacterias fijadoras de nitrógeno y halófilas.

La inoculación con *Azospirillum* a diferentes tiempos no tienen una influencia significativa en el rendimiento aéreo y radicular del sorgo; sin embargo, a

diferentes dosis (1 y 3 ml) y concentraciones (de  $10^4$  a  $10^8$  ufc ml<sup>-1</sup>) los resultados difieren (Hernández *et al.*, 1996). Esto se pudo apreciar en ambas especies donde las bacterias a diferentes dosis se comportan de manera irregular.

## CONCLUSIONES

### Para el experimento en invernadero

Se concluye que para las variables diámetro de tallo, altura de planta los tratamientos que presentaron mayores resultados fueron T3 y T2. Para Contenido de clorofila el tratamiento con más alto valor fue T2 (Halófila) superando al Testigo. Para contenido de Nitrato en hoja y Pecíolo T4 superó al testigo durante el muestreo a los 60 días. Para peso fresco de las plantas el tratamiento T1 (testigo) presento mayor peso, para peso seco el tratamiento T5 (N5) obtuvo los valores mas altos, con valores de testigo más bajo para esta variable.

Para las cosechas el comportamiento de los frutos indicaron que durante los ocho cortes los tratamientos que obtuvieron mas altos resultados fueron para las variables diámetro ecuatorial, diámetro polar y grosor del pericarpio T1, T3 y T4 (Testigo, N2 y N4 respectivamente). Para contenido de azúcar los tratamientos con mayores resultados fueron T2 y T4 (Halófila y N4 respectivamente) resultando con menor valor T1 (Testigo). Para los resultados de rendimiento total el valor mas alto lo obtuvo T4 (N4).

Por lo que se coincide con la Ha: Por lo menos un tratamiento con estas bacterias indujo el desarrollo superior de la plántula, en comparación con plantas testigo. Esta hipótesis se cumplió en todas las variables de plantas donde el testigo obtuvo menores resultados que las plantas tratadas. Para las variables de cosechas solo

se pudo cumplir en la variable de contenido de Azúcar y rendimiento total de frutos.

### **Para el experimento en laboratorio**

#### **Germinación de tomate**

Se concluye que para las variables de semillas germinadas, IG y porcentaje de germinación el mayor tratamiento fue el 14 que corresponde a la bacteria N5 con la concentración más baja. Para la variable altura de tallo la cepa que resultó con mas altos valores fue tratamiento 3 que corresponde a la bacteria Halófila con una concentración de 0.0090 %. Para longitud de raíz la cepa que estimuló mayor crecimiento fue tratamiento 21 correspondiente a la bacteria N5 con una concentración de 0.0090 %.

#### **Germinación de alfalfa**

Se concluye que los mayores resultados en alfalfa en las variables semillas germinadas, IG y porcentaje de germinación los presento el tratamiento 20 que corresponde a la bacteria N5 como el más recomendable con una dosis de 0.0045 %. Para la variable altura de tallo la cepa que indujo mayor crecimiento fue tratamiento 14 correspondiente a la bacteria N4 como el más recomendable con una dosis de 0.0090 %. Para longitud de raíz los mejores resultados se obtuvieron en la cepa 3 correspondiente a la bacteria Halófila con concentración de 0.0090 %.

Por lo que se coincide con Ha: Por lo menos un tratamiento indujo la germinación de semillas de tomate y alfalfa. Donde se logro cumplir la hipótesis pues en todas las variables evaluadas el testigo presentó valores menores que las semillas con tratamientos en dosis bajas.

## **RECOMENDACIONES**

Se recomienda realizar más investigaciones sobre las bacterias fijadoras de nitrógeno y Halófilas, a concentraciones más bajas que las utilizadas en este proyecto, para evaluar si existe variación en el comportamiento de las bacterias a dichas dosis, notándose que en este proyecto fueron las concentraciones bajas las más recomendables, sin embargo podría existir la posibilidad de que respondan de diferente manera a otras concentraciones.



## LITERATURA CITADA

- Aguirre, M., Irizar G., Duran, P., Grajeda, C., Peña del río, M., Loredó, O. y Gutiérrez, B. 2009. Los Biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México, Instituto Nacional de Investigación Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Rosario Izapa, Tuxtla Chico, Chiapas, México. 13-17p
- Barea, J. M., Azcón-Aguilar, C. 1982. La rizosfera: interacciones microbio-planta. *An. Edaf. y Agrobiol.* XLI (7-8): 1517-1532.
- Bashan, Y. 1986. Enhancement of wheat root colonization and plant development by *Azospirillum brasilense* Cd, following temporary depression of rhizosphere microflora. *Appl. Environm. Microbiol.* 51: 1067-1071
- Bashan, Y. 1998. *Azospirillum* plant growth-promoting strains are nonpathogenics on tomato, pepper, cotton and wheat.. *Revista Canadian Microbiology*, 44(2): 168-174
- Bashan, Y., Bashan, L. 2002. .Protection of tomato seedlings against infection by *Pseudomonas syringae* pv Tomato by using the plant growthpromoting bacterium *Azospirillum brasilense*.. *Rev. Applied and Enviromental Microbiology.* 68 (6): 2637-2643
- Bashan, Y., Holguin, G. 1994. Root to root travel of the beneficial bacterium *Azospirillum brasilense*. *Applied and Environmental Microbiology*, 60, 2120-2131.
- Bashan, Y., Holguin, G. 1997. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Canadian Journal of Microbiology.* 43, 103-121.
- Bashan, Y., Olgún, G., Puente, M.E., Carrillo, A., Alcaraz- Meléndez, L., López-Cortés, A. and Ochoa, J.L. 1993. Critical evaluation of plant inoculation with beneficial from the genus *Azospirillum*. pp. 115-126.
- Bellaloui, N. y D.J. pilbeam. 1990. Reduction of nitrate in leaves of tomato during vegetative growth. *Journal of plant nutrition* 13:39-55.
- Bellis, P., Ercolani, L. 2001. Growth interactions during bacterial colonization of seedling rootlets. *Applied and Environmental Microbiology.* 67, 1945-1948.

- Beringer, J. E. 1984. The significance of symbiotic nitrogen fixation in plant production. *Plant Sci.* 2: 269-286.
- Bidwell, R. G. S. 1993. *Fisiología Vegetal*. Editorial AGT. Primera edición. México DF. 784 p
- Caballero, J. 2001. El género *Azospirillum*. Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno, UNAM. Cuernavaca, México. Tomado de: <http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios/Cap10/capitulo.html>. Consultado en Agosto, 2003.
- Cantu, B. J. E. 1989. *Apuntes de Cultivos Forrajeros*. Departamento de Fitomejoramiento. UAAAN-UL.
- Carrasco, G., Burrage, S. y Kazakidou, D. 1994. Nitrate accumulation in red chicory (*Cichorium intybus* L.) grow at a low level of light intensity. *Acta horticulturae* 61:274-281.
- Chanway, C. P. 1997. Inoculation of tree roots with plant growth- promoting soil bacteria: An emerging technology for reforestation. *For. Sci.* 43:99-112.
- Chanway, C. P., Hynes, R. K. and Nelson, L. M. 1989. Plant growth- promoting rhizobacteria: Effects on growth and nitrogen fixation of lentil (*Lens esculenta* Moench) and pea (*Pisum sativum* L.). *soil biol. Biochem.* 21:511-517
- Codex Alimentarius. 1999. Guidelines for the production, processing, labeling and marketing of organic produced products. GL-32 - 1999. Rev. 2001.
- Curl, E. A., Truelove, B. 1986. *The rhizosphere*. Springer-Verlag. New York.
- De Freitas, G., Germida, J. 1989. Plant growth promoting rhizobacteria for winter wheat. *Applied and Environmental Microbiology.*, 64, 362-368.
- Díaz M., D.H. 2002. *Fisiología de los arboles frutales*. Editor AGT, S.A. Mexico D.F. 390 p.
- Ferrera- Cerrato, R. 1995. Efecto de rizosfera. pp. 36-52. *In*: R. Ferrera-Cerrato y J. Perez M. (eds.). *Agromicrobiología. Elemento útil en la agricultura*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.
- Flores, P. I. 1980. *Cultivo del tomate*. ITESM. Monterrey, Nuevo León, México P 9.

- García, G., Sánchez, J., Peña, J.J. y Moreno, P.E. 1995. Respuesta del maíz (*Zea mays* L.) a la inoculación con bacterias fijadoras de nitrógeno. *Terra* 13: 71-80.
- Gómez, J. 1996. .Sustitutos de la fertilización. Desde el surco. Impresión Publingraf. Quito, Ecuador. p 23-28
- González, A., Raisman, J. 2000. Ciclos Biogeoquímicos. Tomado de: <http://fai.unne.edu.ar/biología/planta/ciclogeog.htm> □ Nutrición. Consultado el Agosto de 2003
- Grain, T. 1998. Los tomates: El mundo los aprecia y las multinaciones los codician. *Revista Biodiversidad* 15 (3) 12-16. E. U. A.
- Hebbar, S. S., Ramachandrappa, B. K., Nanjappa, H. V. and Prabhakar M. 2004. Studies on NPK drip fertigation in field grown tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Europ. J. Agronomy* 21: 117–1.
- Hernández, Y., Sarmiento, M. and García, O.1996. Influence of *Azospirillum* inoculation model on grass performance. *Cuban Journal of Agricultural Science*. 30: 219-226.
- Hernández, Y., Sogo, J. and Sarmiento, M. 1997. *Azospirillum* inoculation on *Zea Mays*. *Cuban Journal of Agricultural Science*. 31: 203-209.
- Hoffland, E., Bakker P. A. H. M. and Loon V. L. C. 1997. Multiple disease protection by rhizobacteria that induce systemic resistance- reply. *Phytopathol.* 87:2, 138.
- Hughes, H. D., Heath, M. E. y Metcalfe, D. S. 1976. Forrajes. Sexta Reimpresión. Cia. Editorial
- INEGI, 2001. Instituto Nacional de Estadísticas Geográficas e informática. Sector alimentario en México .P.21
- Kass, D. 1998. .Fertilidad de los suelos. 1era impresión. EUNED. San José, Costa Rica. 233 p.
- Kloepper, J. W., Zablutowicz, R. M., Tipping, E. M. and Lifshitz, R.1991. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizer. pp. 315-326. *In: D.L.*
- Krieg, N., Dobereiner, J. 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology..* Sección 2. Volumen 1. Krieg, N; Holt, J (editores)
- Leskovar, D. I. 2001. Producción y ecofisiología del transplante hortícola. Curso dado en Buenavista, Saltillo, Coahuila. Consultado 22 dic. 2004. Disponible en: [www.uaaan.mx/academic/Horticultura/Memhort01/ Curso.pdf](http://www.uaaan.mx/academic/Horticultura/Memhort01/Curso.pdf)

- Liifshitz, R., Kloepper, J. W. and Kozlowski, M. 1987. Growth promotion of canola (repeseed) seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotics conditions. *Can. J. Microbiol.* 3:390-395.
- Lynch, J. M. 1990. *The rhizosphere*. John Wiley. New York.
- Madigan, M., Martinko, J., y Parker, J. 1999. *Biología de los microorganismos*. Ed Prentice Hall Iberia, 8va edición. Madrid, España. 986 p.
- Maroto, B. 1983. *Horticultura Herbácea Especial*. Ed. Mundi-Prensa, Castello, 37 Madrid, España.
- Morua, R. N. A., 1997. *La Alfalfa (Medicago sativa L.) Sus Principales Plagas y Enfermedades*. Monografía, UAAAN.
- Muhammad, A., Frankenberger, J.R. 1991. Microbial production of plant hormones. In: *The rhizosphere and plant growth*, Kluwer Academic Publisher. Norwell, 327-334.
- Nickell, L.G. 1979. Controlling biological behavior of plants with synthetic plant growth regulation chemicals. In: Mandava, N.B. (ed.) *Plant growth substances*. pp. 263–279. (American Chemical Society: Washington, USA).
- Nuez, F. 1999. El cultivo de tomate. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 793 p. en Javier Z. Castellanos editor. *Manual de producción de tomate en invernadero*. pp 45-91 o 548
- Okon, Y. 1982. Recent Progress in research on biological nitrogen fixation with non leguminous crops. *Phosphorous and Agriculture*. 82: 3-8.
- Osuna, G.J.A.1983. Resultados de la investigación sobre jitomates para uso industrial en el estado de morelos. SARH, INIA, CIAMC, CAEZ. México. 20 p.
- Paredes-Cardona, E., Carcaño, M. Mascarua, E. y Caballero, J. 1988. Respuesta del maíz a la inoculación con *Azospirillum brasilense*. *Revista Latinoamericana de Microbiología.*, 30, 351-355.
- Pozo, I. M. Del. 1977. *La Alfalfa Su Cultivo y Aprovechamiento*. 2ª. Edición Madrid Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Prianishnokov, D. N. 1954. *El nitrógeno en la vida de las plantas*. Editada por la unión de ingenieros agrónomos al servicio de la industria de los fertilizantes. 171 pp.

- Rao, S. 1984. Current Developments in Biological Nitrogen Fixation. Gran Bretaña. 350 p.
- Rick, C.M. 1978. The tomato. Scientific American, 239: 67-76.
- Robles, S. R. 1985. Producción de Granos y Forrajes. Editorial Limusa. México D. F.
- Rodríguez, M. 1995. Microorganismos libres fijadores de nitrógeno. pp. 105-126. *In: Ferrera-Cerrato R. y J. Pérez M. (eds.). Agromicrobiología: Elemento útil en la agricultura sustentable. Colegio de Postgraduados. Montecillo, estado de México.*
- Rojas, G., Vázquez, G. 1995. Manual de Herbicidas y Fitorreguladores Aplicación y Uso de productos Agrícolas. Tercera edición, México, España, Venezuela, Colombia.
- Rojas, Q. M. 1982. Fisiología vegetal aplicada. 2da. Edición. Ed Mc Graw Hill. México. Pp. 117.
- Sanchez, L. A. 1983. Evaluación de la aptitud combinatoria de algunos progenitores de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en base a caracteres de rendimiento y calidad. Tesis de Maestría en fitomejoramiento. UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila, Méx. 154 p.
- Schmidt, L. 2000. Guide to *Handling of Tropical and Subtropical Forest Seed*. Chapter X. Danida Forest Seed Centre., 625 págs.
- Schorth. M. N., Weinhold, A. R. 1986. Root-colonizing bacteria and plant health. HortSci. 21:1295-1298.
- Tapia, M., Mascarua, M. y Caballero, J. 1990. .Production of bacteriocins and siderophore-like activity by *Azospirillum brasilense*.. Rev. Microbios 64(259): 73-93
- Virgen, C. G., Jiménez D. R., Tabares F. S. y Olalde P. V. 2001. Bacterias promotoras de crecimiento en plantas: Agro-biotecnología. Avances y Perspectivas 20: 395-400.
- Weaver, R.J.1996. Reguladores de Crecimiento de las plantas en la agricultura. Editorial Trillas. México.
- Zhang, F., Dashti, N., Hynes, H. and Smith, D.L. 1996. Plant growth promoting rhizobacteria and soybean (*Glicine max* L. Merr.) nodulation and nitrogen fixation at suboptimal root zone temperaturas. Ann. Bot. 77:453-459.