

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA



Efecto en la Absorción de Minerales N, P, K, en Chile Jalapeño (*Capsicum annuum L.*) Inoculado con (*Azospirillum sp*) en Invernadero

Por:

**ANTONIO MARIANO VEGA GONZÁLEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

Saltillo, Coahuila, México

Mayo 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Efecto en la Absorción de Minerales N, P, K, en Chile Jalapeño (*Capsicum  
annuum L.*) Inoculado con (*Azospirillum sp*) en Invernadero

Por:

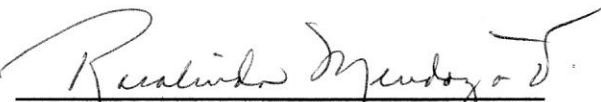
**ANTONIO MARIANO VEGA GONZÁLEZ**


TESIS


Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

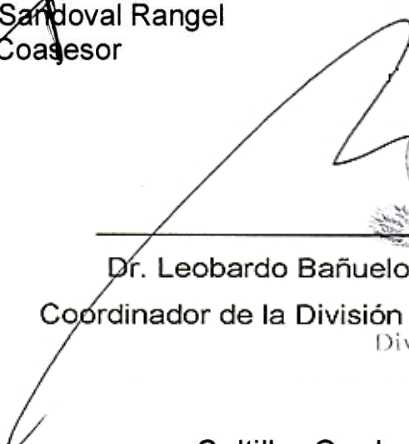

**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

Aprobada

  
Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal  
Asesor Principal

  
Dr. Alberto Sandoval Rangel  
Coasesor

  
M.C. Alberto Rodríguez Hernández  
Coasesor

  
  
Dr. Leobardo Bañuelos Herrera  
Coordinador de la División de Agronomía  
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México  
Mayo, 2015

## *Agradecimientos*

*A DIOS mi todo poderoso por haberme acompañado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidades. Por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sentimientos. Por ser feliz en esta vida tan hermosa.*

*A la Virgen de Guadalupe, gracias madre por permitirme terminar esta etapa de mi vida profesional, por protegerme de todas las adversidades que estuvieron en mi camino.*

*A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por abrirme sus puertas para mi preparación profesional la cual le estoy infinitamente agradecido con esta gran institución, enseñándome valores y conocimientos.*

*A todos los maestros de la UAAAN en especial aquellos que formaron parte de mi preparación profesional.*

*A la Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal por brindarme su amistad y confianza, por tener esa dicha de trabajar con usted para realizar el presente trabajo gracias por todo su tiempo que me regaló.*

*A la M.C. Gloria Laura Nuncio Orta por el apoyo incondicional que me brindó para la realización de este trabajo de investigación.*

*A mis amigos Cristian Mauricio López Martínez, Ángel Alberto Ruiz Díaz, José Arturo González Martínez que me acompañaron en todo este tiempo.*

*A Eneida Pérez Velasco por todo tu apoyo y amistad gracias por todos esos momentos buenos y malos que vivimos juntos.*

## DEDICATORIAS

*A mi abuelita Antonia González López “mamá Tonita” por sus consejos y todo su apoyo acompañándome en todos los momentos buenos y malos por ser una mujer ejemplar te dedico este triunfo te amo mamita.*

*A mi madre Vidaura González González por todo el amor que me das, por todo ese apoyo ilimitado e incondicional que me brindas por esa fortaleza que te caracteriza para salir adelante sin importar los obstáculos que se presenten por hacer de mí un hombre de bien por ser la mujer que me dio la vida y que me has enseñado a vivirla, no hay palabras en este mundo para agradecer todo lo que has hecho por mí a ti mamá.*

*A mi padre Juan Conrado Ozuna Gómez por el valor y el coraje que me has enseñado para levantarme ante cualquier adversidad por todas las enseñanzas que me has dado más que un padre has sido un amigo en el cual puedo confiar todo el tiempo muchas gracias papá.*

*A toda la familia González González le agradezco por todo el cariño y aprecio que tienen conmigo por todos sus deseos, esas palabras de aliento que me brindan y esos pequeños detalles que me hacen muy feliz*

*A mi esposa Daniela Badillo Padilla y a mis hijos Renatta Badillo Padilla y Juan Alejandro Vega Badillo por el amor que me han brindado y por ser el motivo de mis ganas de seguir para darles lo mejor de mí. Son la bendijo más grande que Dios me ha dado en la vida.*

*A la familia Badillo Padilla por su apoyo, paciencia y por el refugio que brindaron al aceptarme como parte de su gran familia, gracias. Dios los bendiga.*

## INDICE DE CONTENIDO

	<b>Pagina</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	I
<b>DEDICATORIAS</b> .....	II
<b>ÍNDICE DE CONTENIDO</b> .....	III
<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	2
1.1 Objetivo.....	4
1.2 Hipótesis .....	4
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	5
2.1 Origen e historia del chile jalapeño .....	5
2.2 Clasificación botánica .....	6
2.3 Características botánicas.....	6
2.4 Importancia económica del chile jalapeño .....	6
2.5 Requerimientos climáticos y edáficos .....	7
2.5.1 Temperatura y Luminosidad.....	7
2.5.2 pH .....	8
2.5.3 Suelo.....	8
2.6 Producción de chile jalapeño en invernadero .....	8
2.6.1 Temperatura .....	9
2.6.2 Ventilación .....	9
2.6.3 Humedad .....	9
2.6.4 Particularidades del cultivo .....	10
2.6.5 Aporcado.....	10
2.6.6 Tutoreo.....	10

2.6.7 Tutorio tradicional .....	10
2.6.8 Deshojado.....	11
2.6.9 Chile jalapeño var. Grande .....	11
2.7 Microorganismos del suelo .....	11
2.7.1 Biofertilizantes.....	12
2.8 Género <i>Azospirillum</i> .....	12
2.8.1 Fijación de nitrógeno por <i>Azospirillum</i> .....	13
2.8.2 Importancia biológica de <i>Azospirillum</i> .....	14
2.8.3 Actividad de la bacteria .....	14
2.8.4 Distribución y aislamiento .....	15
2.8.5 Inoculación y respuesta agronómica.....	15
2.8.6 Como se aplica la bacteria.....	18
2.8.7 Rizósfera.....	19
2.8.8 Ventajas del uso de <i>Azospirillum</i> .....	20
2.9 Importancia del uso de fertilizantes en la agricultura .....	22
2.9.1 Fertilización química .....	23
2.9.2 Solución Steiner.....	23
2.10 Fertirrigación .....	23
2.10.1 Ventajas .....	24
2.10.2 Desventajas .....	24
2.11 Nitrógeno .....	25
2.11.1 <i>Azospirillum</i> con el Nitrógeno .....	25
2.11.2 Fósforo .....	26
2.11.3 Absorción y transporte del fósforo .....	26
2.11.4 <i>Azospirillum</i> con el fósforo .....	27



2.11.5 Potasio .....	27
<b>III MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>29</b>
3.1 Localización del área experimental.....	29
3.2 Descripción del material experimental.....	29
3.3 Establecimiento del experimento.....	29
3.3.1 Siembra.....	29
3.3.2 Transplante.....	30
3.4 Inoculación de la bacteria .....	30
3.5 Fertilización química .....	30
3.6 Descripción de los tratamientos.....	31
3.7 Modelo estadístico .....	31
3.7.1 Prueba de tukey.....	32
3.9 Toma de datos .....	32
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>33</b>
<b>V. CONCLUSIÓN .....</b>	<b>39</b>
<b>VI. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>40</b>

## ÍNDICES DE CUADROS

<b>Cuadro 1</b>	Clasificación taxonómica del género <i>Capsicum anuum</i> .	5
<b>Cuadro 2</b>	Clasificación del género <i>Azospirillum</i> .	12
<b>Cuadro 3</b>	Nutrientes minerales para Solución Steiner, en cultivo de chile Jalapeño propuesta por Sánchez, 201	24
<b>Cuadro 4</b>	Solución Steiner aplicada durante el experimento	30
<b>Cuadro 5</b>	Tratamientos establecidos en invernadero en el cultivo de chile con la inoculación de <i>Azospirillum</i> en semillas de chile jalapeño variedad grande	31
<b>Cuadro 6</b>	Cuadros medios del ANVA para análisis de N, P y K en fruto de chile jalapeño var grande inoculado con tres cepas de <i>Azospirillum</i> y una de <i>acetobacter</i> con dos concentraciones (UFC mL <sup>-1</sup> ).	33
<b>Cuadro 7</b>	Prueba de Comparación de medias de Tukey en fruto de chile jalapeño var. Grande inoculado con tres cepas de <i>Azospirillum</i> y una de <i>acetobacter</i> con dos concentraciones (UFC mL <sup>-1</sup> ).	33
<b>Cuadro 8</b>	Cuadros medios del ANVA para análisis de N, P y K en tallo de chile jalapeño var grande inoculado con tres cepas de <i>Azospirillum</i> y una de <i>acetobacter</i> con dos concentraciones (UFC mL <sup>-1</sup> ).	34
<b>Cuadro 9</b>	Prueba de Comparación de medias de Tukey en tallo de chile jalapeño var grande inoculado con tres cepas de <i>Azospirillum</i> y una de <i>acetobacter</i> con dos concentraciones (UFC mL <sup>-1</sup> ).	35

<b>Cuadro 10</b>	Cuadrados medios del ANVA para análisis de N, P y K en hoja de chile jalapeño var grande inoculado con tres cepas de <i>Azospirillum</i> y una de <i>acetobacter</i> con dos concentraciones (UFC mL <sup>-1</sup> ).	35
<b>Cuadro 11</b>	Prueba de Comparación de medias de Tukey en hoja de chile jalapeño var grande inoculado con tres cepas de <i>Azospirillum</i> y una de <i>acetobacter</i> con dos concentraciones (UFC mL <sup>-1</sup> ).	35
<b>Cuadro 12</b>	Cuadrados medios del ANVA para análisis de N, P y K en raíz de chile jalapeño var grande inoculado con tres cepas de <i>Azospirillum</i> y una de <i>acetobacter</i> con dos concentraciones (UFC mL <sup>-1</sup> ).	36
<b>Cuadro 13</b>	Prueba de Comparación de medias de Tukey en raíz de chile jalapeño var. Grande inoculado con tres cepas de <i>Azospirillum</i> y una de <i>acetobacter</i> con dos concentraciones (UFC mL <sup>-1</sup> ).	37

## Resumen

Este aumento en la producción de chiles, principalmente los picosos, se debe a la creciente demanda de este producto en todas sus presentaciones (fresco, seco y procesado), tanto para consumo directo como para usos industriales. La utilización de bacterias rizosféricas con la finalidad de aumentar el rendimiento de los cultivos, disminuir el uso desmedido de fertilizantes minerales y productos químicos y, por consiguiente, reducir la contaminación ambiental, es una práctica que ha tomado un gran auge en las últimas décadas. Dentro de las bacterias asociativas más estudiadas, se encuentran las pertenecientes al género *Azospirillum*.

El experimento tuvo como objetivo encontrar la dosis de *Azospirillum* que incremente la absorción de minerales como nitrógeno, fósforo y potasio. En el cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annuum L.*) var. grande bajo condiciones de invernadero en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Se establecieron nueve tratamientos incluyendo un testigo y se utilizó la solución Steiner al 20% como fertilización química.

Se evaluaron en 3 muestreos caracteres morfológicos, los resultados fueron peso fresco aéreo (PFA), peso seco aéreo (PSA), peso fresco raíz (PFR), peso seco raíz (PSR), longitud de raíz (LR), peso fresco de fruto (PFF) y peso seco de fruto (PSF)

**Palabras claves:** bacterias rizosféricas, *azospirillum*, caracteres agronómicos, chile jalapeño

## I.INTRODUCCIÓN

El chile jalapeño es una de las principales especies hortícolas en México y en el mundo, se cultiva de diferentes formas y se consume en fresco, fermentado o deshidratado, también es utilizado como condimento debido principalmente a su sabor picante. Desde el punto de vista económico *Capsicum annuum* (L.) es la especie de chile más importante en México, se cultiva en todo el territorio nacional desde el nivel del mar hasta altitudes de 2500 m.s.n.m. (Pickerrsgill, 1984). La importancia socioeconómica del chile jalapeño (*Capsicum annuum* L) radica en su alto consumo, rentabilidad y demanda de mano de obra (Macías *et al.*, 2012). En México, ocupa una superficie aproximada de 29,495 hectáreas, con una producción de 772,889 toneladas (SIAP – SAGARPA, 2012). Sin embargo, dentro de las condiciones que se requieren para elevar la producción y rendimiento del cultivo se encuentra el uso de plántulas vigorosas y con un alto porcentaje de germinación (Carballo, 1992).

Esto podría conseguirse con la inoculación de rizobacterias en semillas que promueven el crecimiento y desarrollo de plántulas (Vessey, 2003), la aplicación de inoculantes líquidos directamente en las semillas promueve cambios bioquímicos, fisiológicos y morfológicos en la célula vegetal e incrementa el potencial de crecimiento de las plantas (Shigueru-Okumura *et al.* (2013). Las rizobacterias como *Azospirillum*, *Acetobacter* sp. Son llamadas Bacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (BPCV) porque incrementan la productividad y crecimiento de plantas (Ferrera - Cerrato y Alarcón, 2007) debido a la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (Camelo *et al.*, 2011), producir sideróforos (Whipps, 2001) y hormonas vegetales, como auxinas por tener la capacidad para sintetizar ácido indolacético (AIA) a través de la vía del ácido indol-3-pirúvico (IPA) (Patten y Glick, 1996), además de giberelinas y citoquininas (Tsavkelova *et al.*, 2006). De acuerdo a Pedraza *et al.* (2004), el *Azospirillum* puede producir de 16,5 a 38  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de ácido indolacético. Puede originar enzima nitrogenasa, ya que la inoculación con esta rizobacteria

incrementa la germinación de semillas, ganancia de peso seco y contenido de nitrógeno en pimiento (Reyes *et al.*, 2008).

En México, los fertilizantes químicos sintéticos empezaron a utilizarse a mediados del siglo XX y rápidamente se convirtieron en elementos indispensables en los campos agrícolas (Aguirre – Medina *et al.*, 2009). Su amplia distribución nacional entre los productores, su fácil y relativo manejo constituyeron una barrera para el aprovechamiento de los recursos biológicos con potenciales biotecnológicos en la agricultura (Shankar *et al.*, 2011).

## **1.1 OBJETIVOS**

Encontrar la dosis de *Azospirillum* en chile jalapeño que incremente el contenido de macronutrientes en plantas y fruto de chile jalapeño.

## **1.2 HIPÓTESIS**

Al menos una concentración de *Azospirillum* provocará un mayor desarrollo de plantas y frutos de chile jalapeño de acuerdo al contenido de N.P y K.

## II. REVISION DE LITERATURA

### 2.1 Origen e historia del chile jalapeño

El cultivo del chile jalapeño o ají se deriva de la palabra “chile” del náhuatl chili es originario de México y Sudamérica se le da el nombre de chile jalapeño por que se dice que antiguamente se cultivaba en Jalapa Veracruz y se comercializaba a otras partes. También se llama chile cuaresmeño por que solo se encontraba durante la época de cuaresma. Cuando este llega a su estado de maduración toma un color rojo intenso y ahumado y se convierte en chile chipotle, que en sus versiones secas es de los más importantes (Anónimo, 2006).

### 2.2 Clasificación taxonómica de *Capsicum annuum* L.

La siguiente clasificación taxonómica fue elaborada por Carlos Linneo (1753 - 1754), y hasta la fecha se aplica.

**Cuadro 1. Clasificación taxonómica del género *Capsicum annuum***

Reino	<i>Plantae</i>
Subreino	<i>Tracheobionta</i>
División	<i>Magnliofita</i>
Clase	<i>Magnolopsida</i>
Subclase	<i>Asteridae</i>
Orden	<i>Solanales</i>
Familia	<i>Solanácea</i>
Genero	<i>Capsicum</i>
Especie	<i>Annuum</i>
Nombre común	Chile jalapeño, chile cuaresmeño

Fuente: Carlos Linneo (1753 - 1754)



### **2.3 Características Botánicas del Chile**

Es una planta anual de tallos ramificados, semileñosos, de 50-70 cm de altura, con hojas oblongas, lanceoladas y flores blancas, solitarias en la inserción de las hojas; el fruto es una baya de forma variada, alargada de color rojo, verde, amarillento violáceos en su madurez, con una raíz pivotante con numerosas raíces adventicias.

### **2.4 Importancia Económica del Chile Jalapeño**

Los países que presentan rendimientos más altos son aquellos que emplean tecnologías de alta precisión para la aplicación de riegos y fertilizantes, entre los que se encuentran Países Bajos, Bélgica, Reino Unido, Finlandia, Kuwait y Austria, todos con rendimientos arriba de 50 t ha<sup>-1</sup> en la producción de chiles frescos. México se clasifica un poco arriba del rendimiento mundial (15.30 ton ha<sup>-1</sup>), con un rendimiento promedio de 18.17 ton ha<sup>-1</sup>. Sobresalen Sinaloa (con 32 % del valor), Zacatecas (15 %) y Chihuahua (15 %) seguidos por San Luis Potosí (7%) y Tamaulipas (6%). Estos cinco estados también encabezan la lista por superficie sembrada y volumen de producción. En cuanto a chile seco el 95% del volumen de producción lo obtienen San Luis Potosí y Zacatecas (SIAP, 2007).

El 99% de las exportaciones que hace México de chiles frescos tienen como destino Estados Unidos. Se da preferencia a las variedades de chile serrano y jalapeño por ser las de mayor demanda en el mercado externo, principalmente en Estados Unidos.

### **2.5 Requerimientos Climáticos**

El cultivo de chile se produce mejor en un clima relativamente caluroso y donde existe poco peligro de heladas. Aparentemente resiste mejor la sequía que el

tomate y la berenjena. La temperatura ambiente favorable para su desarrollo es de 18-26°C durante el día y por la noche de 15-18°C, a temperaturas menores de y/o frutos. La humedad relativa óptima oscila entre 50 – 70 % (Edmon, 1979).

### **2.5.1 Temperatura y Luminosidad**

El chile es una planta que a 10°C comienza a detener su crecimiento. La temperatura del suelo y el aire tienen una gran influencia en el desarrollo de la floración de la planta de chile, Blondon (1987) considero que una temperatura alterna de 27 y 17 °C producen los mayores rendimientos, especialmente en el ciclo tardío (Abril y Mayo).

Las altas temperaturas provocan la caída de las flores muy exigente en luminosidad, sobre todo en los primeros estados de desarrollo y durante la floración, ya que la baja luminosidad incrementa la abscisión floral y afectan la tasa fotosintética, la partición de asimilados y el metabolismo de la azúcar en los tejidos de la fuente (Aloni, 1996).

### **2.5.2 pH**

Los valores óptimos del pH oscilan entre 6.5 y 7 aunque puede resistir ciertas condiciones de acidez (hasta un pH de 5.5); en suelos enarenados pueden cultivarse con los valores de pH próximos a 8. En cuanto al agua de riego el pH óptimo es de 5.5 a 7 (Castaño, 1993)

### **2.5.3 Suelo**

Se desarrolla mejor en suelos limo arcilloso profundo, ligero (arenoso) hasta pesados (arcilloso) con buen drenaje, es tolerante a ciertas condiciones de

acidez y crece bien a pH de 5.5 a 6.8, es una planta que soporta contenidos de 2560 hasta 6406 ppm de sal (Valadez 1992).

## **2.6 Producción de chile jalapeño (*Capsicum annum* L.) en invernadero**

Un invernadero es una estructura cubierta con materiales transparentes que al menos tiene 3 m<sup>3</sup> de aire por cada m<sup>2</sup> de superficie cubierta, y que permite proporcionar las condiciones óptimas para el crecimiento y desarrollo de cultivos (Robledo, 2003). El cultivo del chile bajo invernadero ha permitido obtener producciones de primera calidad y mayores rendimientos, en cualquier fecha del año, a la vez que alarga el ciclo del cultivo, el cual implica cosechar en las épocas del año más difíciles y obtener mejores precios en el mercado. El objetivo principal de producir bajo invernadero es tener a las plantas de chile en las condiciones más favorables para conseguir su óptimo crecimiento y desarrollo para su productividad como:

### **2.6.1 Temperatura**

La temperatura afecta directamente las funciones de fotosíntesis, respiración, permeabilidad de la membrana celular, absorción de agua y nutrientes, transpiración, etc. Las reacciones biológicas de importancia no pueden desarrollarse si la temperatura del invernadero está por debajo de 0°C, o por encima de 50°C. El límite inferior corresponde al punto de congelación del agua y el superior a la desnaturalización de las proteínas.

### **2.6.2 Ventilación**

El intercambio de aire entre el interior y el exterior del invernadero incide de una manera clara en el clima de cultivo. La ventilación es fundamental para regular la temperatura y humedad dentro del invernadero. Por lo tanto, las instalaciones deben tener suficiente superficie de ventilación y un mecanismo rápido y

cómodo de apertura y cierre. La ventilación se realiza en forma natural o forzándola artificialmente, siendo la ventilación natural la más usada.

### **2.6.3 Humedad**

La humedad es uno de los factores medioambientales que influyen en el cultivo bajo invernadero. La HR baja impide el funcionamiento normal de la planta (alimentación). Facilita enfermedades como el oidio; la implantación de plagas, arañas, etc.; así como la aparición de anomalías, como la mala polinización, fructificación y caída de flores y frutos pequeños. La HR alta impide igualmente el funcionamiento normal de la planta (alimentación). Facilita enfermedades como botritis, mildius, cladosporium y favorece anomalías como la mala polinización, fructificación.

### **2.6.4 Particularidades del Cultivo**

El marco de plantación se establece en función del porte de la planta que a su vez dependerá de la variedad comercial. La distancia más frecuentemente empleada entre plantas es de 20 – 70 cm y una distancia entre surcos de 60-1.20m, aunque lo más recomendado es de 92 cm entre surcos y de 20-30 entre plantas. En cultivo bajo invernadero la densidad de plantación suele ser de 20.000 a 25.000 plantas ha. Al aire libre se suele llegar hasta las 60.000 plantas ha.

### **2.6.5 Aporcado**

Práctica que se utiliza en cultivos en suelo y consiste en cubrir con tierra o arena parte del tronco de la planta para reforzar su base, favorece el desarrollo radicular y eliminar malezas. En cultivos bajo acolchado y sin suelo no es posible realizarlo.

### **2.6.6 Tutoreo**

Es una práctica imprescindible para mantener la planta erguida, que le permite soportar la carga de frutos y evita que las hojas toquen el suelo, mejorando así la aireación general de la planta y favoreciendo el aprovechamiento de la radiación y la realización de las labores culturales.

### **2.6.7 Tutoreo Tradicional**

Consiste en colocar hilos de polipropileno (rafia) o palos en los extremos de las líneas de cultivo de forma vertical, que se unen entre sí mediante hilos horizontales pareados dispuestos a distintas alturas, que sujetan a las plantas entre ellos. Estos hilos se apoyan en otros verticales que a su vez están atados al emparrillado a una distancia de 1.5 a 2 m.

### **2.6.8 Deshojado**

Es recomendable en las hojas senescentes, con el objetivo de facilitar la aireación y mejorar el color de los frutos, así como las hojas enfermas que se colocan en bolsas y se sacan inmediatamente del invernadero, eliminando la fuente de inóculo (Castellanos, 2004).

### **2.6.9 Chile Jalapeño Variedad Grande**

Existen variedades de clima frío y clima tropical. Es una planta anual con flores perfectas autopolinizables. Frecuentemente polinizadas por insectos. La planta es vigorosa, tallos gruesos, hoja brillante de color verde oscuro, el amarre de fruto es sobresaliente, entrenudos cortos con frutos verdes brillantes de porte mediano a grande, tiene una larga vida de anaquel recomendado para el consumo fresco y la industria.

## **2.7 Microorganismos en el Suelo**

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

### **2.7.1 Biofertilizantes**

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

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

En la agricultura el nitrógeno es el principal nutriente para el crecimiento de las plantas. A pesar de que el 78% del aire sea nitrógeno gaseoso, no puede ser aprovechado por las plantas, por lo que se requiere de un proceso para que sea transformado en una presentación de fácil asimilación para la raíz de la

planta como son: nitritos, nitratos y amonio. La enzima nitrogenasa se encarga de transformar (fijar) el nitrógeno gaseoso en amonio, este proceso es conocido como fijación biológica de nitrógeno (FBN) de acuerdo a Elein, 2005.

## 2.8 Género *Azospirillum*

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

**Cuadro 2. Clasificación del género *Azospirillum***

Reino	<i>Procaryote</i>
División	<i>Gracilicute</i>
Clase	<i>Scotobacteria</i>
Familia	No existe
Genero	<i>Azospirillum</i>
Especie	<i>lipoferum,brasilense, amazonense, haloproferenses, irakenses.</i>

Fuente: Tarrand et al, .1978.

### **2.8.1 Fijación de Nitrógeno por *Azospirillum***

El Nitrógeno se localiza en el suelo procede de la atmósfera, pero el N<sub>2</sub> atmosférico no puede ser utilizado directamente por los seres vivos salvo en el caso de algunos microorganismos (Villalobos, *et. al.*, 2002). Para que el Nitrógeno atmosférico sea absorbido por las plantas, este tiene que formar parte de otros compuestos químicos, este proceso se le llama fijación (Fuentes, 2002).

Considerando la capacidad de *Azospirillum* para asociarse con plantas de interés agrícola, así como su capacidad para fijar N<sub>2</sub> en medios de cultivo, por lo que se realizaron pruebas para verificar que el *Azospirillum* no causa síntomas visibles de enfermedad sobre la raíz u hojas de plantas de trigo, algodón o tomate (Bashan, 1998).

Cuando el Oxígeno es un factor limitante en las culturas, *Azospirillum* puede utilizar nitrato, nitrito u óxido nitroso como aceptores de electrones respiratorias terminales (Lamattina *et. al.* 2003).

### **2.8.2 Importancia Biológica de *Azospirillum***

El efecto de inoculación de *Azospirillum* sobre el rendimiento total aumenta generalmente con el crecimiento de las plantas y está en un rango de 10 – 30% (Bashan y Vázquez, 2000). Se demuestra la efectividad agrobiológica de *Azospirillum brasilense* a partir del estímulo positivo ejercido en el incremento y estado nutricional de las plantas así como el rendimiento agrícola del cultivo; y se establece con un alto nivel poblacional de rizosfera de plantas inoculadas (Alonzo, 2005).

Dos variables básicas que contribuyen a la respuesta del rendimiento a la inoculación son los cultivares los cuales muestran respuestas diferentes a la



inoculación y al nivel de fertilización nitrogenada; por lo tanto, la inoculación de *Azospirillum* puede considerarse un sustituto parcial de la fertilización nitrogenada (Schloter y Hartmann, 1998).

### **2.8.3 Actividad de la Bacteria**

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

### **2.8.4 Distribución y Aislamiento**

El género *Azospirillum* muestra distribución geográfica amplia alrededor del mundo, siendo más abundantes en las regiones tropicales, aunque también se encuentran en regiones templadas, frías y desérticas (Barassi *et al.* 2006). El medio de cultivo usado por excelencia para el enriquecimiento de las especies de *Azospirillum* ha sido el NFb semigelificado “libre” de nitrógeno y con malato como fuente de carbono. Medios de laboratorio, al que se le añade color rojo Congo en este medio de cultivo *Azospirillum brasilense* y toma un color rojo escarlata que permite la diferenciación de otros géneros bacterianos (Pereyra, *et al.* 2009).

### **2.8.5 Inoculación y Respuesta Agronómica**

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

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

Si la bacteria produce sustancias como las auxinas, observa un decremento en la longitud de la raíz y un incremento en la formación de pelos radiculares (Bashan y de Bashan., 2010). Se demostró que la inoculación de *A. brasilense* en semillas tienen un efecto pronunciado sobre el desarrollo y la morfología de las raíces, a bajas concentraciones como  $10^6$  UFC ml<sup>-1</sup> es casi tan alta como para inducir la elongación de la raíz y fuertemente inhibida a altas concentraciones celulares ( $10^9$  UFC mL<sup>-1</sup>). También se ha observado en plantas inoculadas un aumento en la absorción de minerales y agua en plantas de trigo, maíz y sorgo en invernadero y campo (German, *et al.*, 2000).

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

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

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

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

Terry (2005) al seleccionar el género microbiano predominante en las rizósfera, inoculó y evaluó el efecto en respuesta del cultivo, y reporta que los géneros *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus* y *Streptomyces*, forman parte de la comunidad microbiana de la rizósfera del tomate, en las condiciones estudiadas, y que *Azospirillum* es el género dominante. La inoculación artificial de esta rizobacteria causó un efecto positivo sobre el crecimiento de las plántulas, así como en el estado nutricional de las plantas, con un rendimiento agrícola superior al 11 %.

Mia *et al.*, (2010), mencionan que la inoculación en banana incrementa la fijación del contenido de nitrógeno, incrementando la producción y mejorando los atributos físicos y calidad de la fruta, además estimula la floración temprana. Por su parte Askary *et al.*, (2009) obtienen que la inoculación simple con *Azospirillum* incrementan el rendimiento de trigo en grano en 53.8% comparado con el testigo y de 22.8 % de nitrógeno, de 59.5% en fósforo y de 34% de potasio.

Elein *et al.*, (2005), reportan que la inoculación artificial de *Azospirillum* causó un efecto positivo sobre el crecimiento y estado nutricional de las plantas de tomate, con un rendimiento agrícola superior a un 11% con respecto a las

plantas testigo. Se obtuvo un alto nivel poblacional en la rizósfera de las plantas inoculadas.

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

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

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

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

### **2.8.6 Cómo se Aplica la Bacteria**

Actualmente se aplican algunos métodos para inocular *Azospirillum*. El más simple es aplicando las bacterias en suspensión líquida, ya sea directamente al suelo o a las semillas. Esta técnica ha sido utilizada en numerosos experimentos de invernadero y de campo abierto, pero resulta inadecuado puesto que el tiempo de sobrevivencia de *Azospirillum* en suelo es relativamente corto en ausencia de un acarreador. Los mejores resultados en rendimiento han sido obtenidos a partir de suspensiones de turba vertido por

goteo al surco o distribuyendo el inoculante de turba granular al momento de la siembra.

Otra opción es la producción de microesferas o microencapsulados bacterianos en una matriz de alginatos y liofilizados. De esta manera se satisfacen, los requerimientos de un inoculante bueno y práctico, es un acarreador químicamente inerte similar al polvo de mármol, arena o carbonato de calcio, seco, fácil de usar, uniforme, biodegradable por los organismos del suelo, de naturaleza no tóxica, que contiene una población bacteriana basta y uniforme, permite la liberación gradual de las bacterias durante periodos largos hasta un mes y puede ser producido a esa gran escala (Bashan et al 1996).

Pérez (2010) encontró que las dosis bajas de ácido húmico ( $2 \text{ ml Lt}^{-1}$ ) de leonardita y bacterias de *Azospirillum* ( $10^7 \text{ UFCmL}^{-1}$ ), tiene efecto positivo en la distribución radicular del chile jalapeño, aumentando el área y ancho de la raíz. Para el peso fresco de la raíz se elevó al aplicar la dosis  $2 \text{ mLt}^{-1}$  de ácido húmico con  $10^7 \text{ UFC mL}^{-1}$  de bacterias *Azospirillum* y  $4 \text{ mLt}^{-1}$  de ácido húmico más  $10^9 \text{ UFC mL}^{-1}$  de *Azospirillum* superando al testigo y al tratamiento que presentó mayor área radical fue la combinación de  $2 \text{ mL Lt}^{-1}$  de ácido húmico con  $10^7 \text{ UFC mL}^{-1}$  de *Azospirillum* superando al testigo.

Los contenidos de materia orgánica aumentan con la mezcla de las cantidades bajas de los ácidos húmicos de leonardita experimentales y las concentraciones altas de la bacteria *Azospirillum*. al adicionar la mezcla de  $2 \text{ mL. Litro}^{-1}$  de agua de los ácidos húmicos de leonardita experimentales, con la bacteria *Azospirillum* a la concentración de  $10^9$  unidades formadoras de colonias, incrementaron el 34% de materia orgánica comparado con el testigo absoluto (López et, al., 2010)

### **2.8.7 La rizósfera**

La rizósfera es una zona ecológica del suelo y ha sido utilizada por diferentes investigadores en el mundo para estudiar el comportamiento de microorganismos benéficos y patógenos para las plantas, también para las interacciones entre microorganismos- planta. En estos estudios se consideran tres regiones de estudio; la rizósfera, el rizoplano y el suelo a distancia.

La rizósfera es el volumen de suelo adyacente al sistema de raíces de las plantas, es influenciado por los exudados de raíz y mide cinco milímetros (Raina, *et al.*, 2000; Kennedy, 2005) y en que él se desarrolla una población microbiana muy superior a la del resto del suelo (Fuentes, 2007). En la práctica cuando se muestrea en campo se colecta la raíz con suelo adherido a ella.

El rizoplano es la raíz sin suelo adherido, en ella se establecen principalmente microorganismos que forma asociación simbiótica y mutualista con la planta. El suelo a distancia, es considerado al suelo sin influencia de raíces, puede ser más allá de los 5 mm de la raíz primaria, secundaria o terciaria.

### **2.8.8 Ventajas del Uso de *Azospirillum***

- Son una alternativa emergente a los fertilizantes químicos inorgánicos para incrementar la fertilidad y producción de los cultivos en agroecosistemas sustentables (Wu. *et al.*, 2005).
- Los efectos benéficos del *Azospirillum* en el rendimiento y la reducción de la fertilización química, incluyendo la fertilización nitrogenada es importante para la agricultura y significativo en el cuidado del ambiente (Fisher *et al.*, 2007; Spaepen. *et al.*, 2008).

- Producen reguladores de crecimiento como auxinas, ácido Indolacético (AIA), citocininas, y proteínas como poliamina, fijan nitrógeno, incrementan el crecimiento radicular, además son capaces de acelerar y potenciar el crecimiento de las plantas (Villegas, *et al.*, 2010; Cassán. *et al.*, 2009).
- Participan en la formación de los microagregados rizosféricos ricos en metabolitos microbianos principalmente del tipo aminoácidos y polisacáridos (Caesar *et al.*, 2007).
- Favorecen la tasa de germinación (Bashan y Bashan, 2005).
- Al permanecer vivas durante años y reproducirse en el suelo, contribuyen en la degradación de moléculas orgánicas de origen vegetal y animal que son fuente de carbono y energía (Rivera *et al.*, 2010).

Además participan en diversos procesos del ecosistema, que incluyen el reciclaje, solubilización, descomposición y mineralización de compuestos orgánicos y la translocación de bioproductos y elementos minerales que conllevan la movilización de los nutrientes en el ecosistema suelo planta (Bare *et al.*, 2005). Disuelven y mineralizan los fosfatos, producen sideroforos y antibióticos (Vessey, 2003).

- Crea una barrera protectora contra hongos y bacterias patógenas en la raíz de la planta, por lo que esta crece más sana y fortalecida (Russo *et al.*, 2008; Cascan *et al.*, 2009b), debido a la capacidad de producirse en grandes cantidades bajo condiciones de alta humedad relativa, desplazan a los patógenos por la competencia generada o por la fortaleza fisiológica que adquiere la planta (Bashan y Bashan, 2002).
- Produce enzimas que solubilizan los fosfatos y los hacen más accesibles a la planta, así como factores que facilitan la absorción de oligoelementos (Bashan y Bashan, 2005).

- Se ha demostrado que las bacterias resisten mejor las condiciones de sequía y los climas áridos ya que se forman alginatos en las raíces de las plantas (Bashan y Bashan, 2005; Arzanesh, *et al.*, 2010).
- Aumentan la tolerancia a factores que originan estrés (Bashan y Bashan, 2005; Arzanesh *et al.*, 2010) puesto que las plantas responden a los mecanismos de estrés a nivel celular y molecular, limitando el crecimiento y rendimiento (Pereyra, *et al.*, 2006).
- El efecto favorable de *Azospirillum*, produce un mayor desarrollo del sistema radical, traducido en mayor superficie de absorción de agua y nutrientes así como un mayor desarrollo de la parte aérea de la planta (Liriano, *et al.*, 2005), teniendo potencial para emplearse en la producción de plántulas de interés hortícola (Díaz, *et al.*, 2001).
- Promoción de la división celular en el meristemo radicular (Levanony y Bashan, 1989).

Existen dos problemas a resolver:

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



## **2.9 Importancia del Uso de Fertilizantes en la Agricultura**

Tapia (2000), señala que un adecuado aporte de agua y fertilizante es uno de los aspectos fundamentales para mejorar la producción y la calidad de los cultivos hortícolas y las actuales técnicas de fertilización, además permiten importantes mejoras en ambos aspectos.

Hernández *et al.*, (2002) mencionan que la aplicación constante de nutrientes en el riego desde las primeras etapas vegetativas de una planta ayuda a que el cultivo desarrolle gran cantidad de biomasa, lo que le permite una buena producción.

La fertilización, conjuntamente con el desarrollo de genotipos cada vez más rendidores, han sido las dos vías que han causado mayor impacto en el aumento de la producción de la mayoría de los cultivos en todo el mundo (Solorzano 2001).

### **2.9.1 Fertilización Química**

Existen situaciones en las cuales el suelo presenta bajas condiciones de fertilidad natural y es incapaz de proporcionarle a los cultivos los nutrientes suficientes para lograr que los cultivos expresen su máximo rendimiento, es entonces donde se hace necesario la utilización de fertilizantes químicos con la finalidad de suministrar al suelo los suplementos nutritivos para contrarrestar las deficiencias presentes en el suelo.

### **2.9.2 Solución Steiner**

En 1961 Steiner en Holanda, propuso el concepto de la solución nutritiva universal. Esta solución nutritiva clasifica a los nutrimentos según su carga eléctrica. Los aniones (carga negativa) considerados son el fosfato ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ), el nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) y el sulfato ( $\text{SO}_4^-$ ), mientras los cationes (carga positiva) considerados son ( $\text{K}^+$ ), ( $\text{Ca}^{++}$ ) y magnesio ( $\text{Mg}^{++}$ ).

Steiner propuso que debe existir una relación entre estos aniones y cationes para que las plantas puedan aprovecharlas al máximo. Determinó que la relación entre los aniones deben oscilar entre 50-70% de ( $\text{NO}_3^-$ ), 3-20% ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) y 24-40% de ( $\text{SO}_4^-$ ), para el caso de los cationes 30-40% de ( $\text{K}^+$ ), 35-55 % de ( $\text{Ca}^{++}$ ) y 15-30% de ( $\text{Mg}^{++}$ ).

La solución universal Steiner sigue siendo muy utilizada como base en la actualidad. Sin embargo además de la concentración de nutrimentos (expresada a través de conductividad eléctrica C.E) y del balance de iones y cationes, para elaborar una solución nutritiva adecuada hay que considerar otra serie de factores como: pH, aportes del suelo (en su caso), aportes del agua, sinergismos y antagonismos entre nutrimentos, requerimientos específicos del cultivo, dosis de micro nutrimentos y la forma de quelatarlos, si es necesario otros nutrimentos como sodio, cloruros, amonio y bicarbonatos.

## **2.10 Fertirrigación**

El fertirriego es una técnica que permite dosificar, en forma oportuna, el agua y los nutrimentos que requieren las plantas durante su ciclo de cultivo (Gurrero *et al.*, 1996; Potisek, *et al.*, 2000).

### **2.10.1 Ventajas**

- Ahorro de fertilizantes
- Mejor asimilación y rapidez de actuación de los fertilizantes
- Incremento del rendimiento y mejora de la calidad de la cosecha

### **2.10.2 Desventajas**

- Mayor costo de inversión inicial (instalaciones y equipos)
- Necesidad de una formación básica para el manejo de los equipos y fertilizantes.
- Utilización de abonos con propiedades adecuadas (solubilidad, pureza, etc.).

**Cuadro 3. Nutrientes minerales para Solución Steiner, en cultivo de chile Jalapeño propuesta por Sánchez, 2011.**

Etapa fenológica	C.E (dS/m)	Requerimiento nutrimental				
		N	P	K	Ca	Mg
Transplante	0.5	42.04	7.75	68.25	45	12
Vegetativa	1.0	84.07	15.50	136.5	90	24
Floración						
Floración inicio de	1.5	126.11	23.25	204.75	135	36
Fructificación	20	168.15	31	173	180	48
Inicio de Fructificación						
Fin de cosecha						

## 2.11 MINERALES

### 2.11.1 Nitrógeno

El nitrógeno constituye aproximadamente el 78% de los gases atmosféricos siendo éste el principal reservorio del elemento (Behar *et al.* 2005), es un elemento fundamental para el desarrollo de la vida, ya que forma parte de las macromoléculas (Paerl, 1998), de forma tal que la productividad de cualquier ecosistema está relacionada con la disponibilidad de este elemento (Ferrera *et al.* 1995).

Se presenta frecuentemente como limitante del crecimiento vegetal ya que es eliminado del suelo en cantidades superiores al resto de los nutrientes (Frioni,

1990), por lo que la productividad de los ecosistemas se relaciona con la disponibilidad de este elemento (Zhang *et al.* 2007).

Este elemento es de suma importancia en la agricultura, debido a que incrementa los rendimientos de la cosecha y modifica la composición química y calidad de los vegetales (Frioni, 1990) De manera general los organismos requieren formas combinadas de nitrógeno para poder incorporarlo a su biomasa, el nitrógeno inorgánico como amonio, nitrato y nitrito en el se encuentran en forma de sales altamente solubles en agua lo cual facilita las pérdidas de nitrógeno por lixiviación (Chapin *et al.* 1992).

### **2.11.2 *Azospirillum* con el Nitrógeno**

La conversión en los diferentes estados de oxidación del nitrógeno es principalmente por procesos biológicos (Deslippe y Egger 2006). Se puede describir brevemente el ciclo del nitrógeno de la siguiente manera: el nitrógeno atmosférico se fija por miembros del dominio *Archaea*, *Bacteriae* y *Azospirillum* que lo reducen a formas asimilables ( $\text{NH}_3$ ); para el resto de los organismos este elemento se mantiene reducido dentro de la célula pero al morir los microorganismos este se libera y se oxida a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), que en condiciones anóxicas se desnitrifica y regresa a la forma elemental ( $\text{N}_2$ ).

A través de este ciclo participan diversos grupos bacterianos. La nitrificación es un proceso aerobio estricto, quimiolitotrofo y se encuentra restringido a un pequeño grupo de bacterias: Proteobacterias (Kowalchuck y Stephen 2001). Por otra parte, la desnitrificación es un proceso heterótrofo facultativo ocurre en bajas tensiones de oxígeno y es restringida a miembros de la familia *Bacteriae* y *Archaea* (Zhang *et al.* 2006).

### **2.11.3 Fósforo**

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

### **2.11.4 Absorción y Transporte de Fósforo**

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

Una planta con la cantidad correcta de este elemento va a crecer vigorosamente y madurará más temprano que las plantas que no lo tienen. La deficiencia se muestra cuando hay un crecimiento raquítico, faltan los frutos o las flores, muestran languidez y las hojas pueden ser más verdes o tener un color violeta debido a que el proceso de fotosíntesis está afectado. Cuando plantes, mezclando un fertilizante rico en fósforo con el suelo, le ayudará a la planta a establecer un sistema de raíces y tener una primera temporada de crecimiento fuerte. Se recomienda incluir arena en la mezcla para plantar,

porque si la zona en la que lo vas a hacer no tiene buen drenaje, la arena se va a encargar de dárselo. (Pizzani *et al.* 2009).

#### **2.11.5 *Azospirillum* con el Fósforo**

Las bacterias solubilizadoras de fosfatos son comunes en la rizosfera en conjunto con la secreción de ácidos orgánicos de bajo del peso molecular, los cuales quelan los cationes unidos al fosfato a través de sus grupos hidroxilos y carboxilos, favorecen de esta forma la conversión en formas solubles, además en adición algunas bacterias producen fosfatasas como la fitasa, que hidroxilan las formas orgánicas de los compuestos de fosfato y estar disponible para las plantas, lo anterior se realiza a través del proceso conocido como solubilización del fosfato mineral. La solubilización de P en la rizosfera es la forma común de adición implicados en las BPCV que aumentan la disponibilidad de nutrientes hospederas (Goldstein *et al.*, 2003).

#### **2.11.6 Potasio**

El potasio participa en la activación de un gran número de enzimas. La gran actividad enzimática del potasio está asociada al bajo radio iónico, que le permite una gran movilidad en el paso a través de las membranas. Controla muchas funciones fisiológicas, como la turgencia de las plantas, formación de materia grasa, proteínas, clorofila, carbohidratos, respiración y regulación de la transpiración del agua, entre otras. Es importante además en la producción, eficiencia del uso y en el desplazamiento de los asimilados a los órganos de almacenamiento. (Sharma, 2013).

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

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

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

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

La síntesis de proteínas y de almidón en las plantas requiere de potasio también. El potasio es esencial en casi todos los pasos de la síntesis de proteínas. En la síntesis de almidón, la enzima responsable del proceso esta activada por el potasio.

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

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Localización del Área Experimental**

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

#### **3.2 Descripción del Material Experimental**

Chile jalapeño Var. Grande existen variedades de clima frío y clima tropical. Es una planta anual con flores perfectas autopolinizables. Frecuentemente polinizadas por insectos. La planta es vigorosa, tallos gruesos, hoja brillante de color verde oscuro, el amarre de fruto es sobresaliente, entrenudos cortos con frutos verdes brillantes de porte mediano a grande, tiene una larga vida de anaquel recomendado para el consumo fresco y la industria.

#### **3.3 Establecimiento del Experimento**

##### **3.3.1 Siembra**

Esta etapa se realizó bajo condiciones de invernadero, las semillas de Chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. Híbrido "Grande") fueron sembradas el 5 de Julio de 2012 en charola de poliestireno de 200 cavidades, utilizando como sustrato peat moss y perlita.

##### **3.3.2 Transplante**

Las plántulas se trasplantaron 31 días después de la siembra (DDS) en macetas de polietileno color negro de 20 L con sustrato peat moss y perlita. El sistema de riego para cada tratamiento fue independiente para evitar



contaminación. Las macetas fueron acomodadas en tresbolillo con una separación de 40 cm entre ellas.

### 3.3.3 Inoculación de la Bacteria

A los 30 y 60 días después del trasplante (DDT) se realizaron las inoculaciones bacterianas con volumen de 50 mL, al testigo solo se le aplicó agua, las concentraciones de inóculo fueron de  $10^4$  y  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup> de cada cepa.

### 3.4 Fertilización del cultivo

Se utilizó la solución nutritiva Steiner (1961) completa y modificada en el contenido de nitrógeno. La solución nutritiva se fue adaptando según las etapas del desarrollo del cultivo al 25, 50, 75 y 100% (meqL<sup>-1</sup> de 12 de NO<sub>3</sub>, 1 de H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 7 de K y 2 de SO<sub>4</sub>) durante el trasplante, desarrollo vegetativo, floración y fructificación respectivamente.

**Cuadro 4. Solución Steiner aplicada durante el experimento**

Compuesto	SSC	SSM (20% N)
Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	1060	250
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	487	494
KNO <sub>3</sub>	71	0
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	347	610
CaSO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0	535
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	0	150
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	211	0

SSC = Solución Steiner Completa; SSM = Solución Steiner Modificada. Las unidades están expresadas en partes por millón (ppm).

### 3.5 Descripción de los Tratamientos

Se evaluaron nueve tratamientos donde se describen como se utilizaron en el experimento con chile jalapeño var. Grande (Cuadro 5).

**Cuadro 5. Tratamientos establecidos en invernadero en el cultivo de chile con la inoculación de *Azospirillum* y *Acetobacter* spen semillas de chile jalapeño var. Grande.**

Tratamientos	Raíz	Dosis
		UFC ML <sup>-1</sup>
1 AzGT1	Tomate	10 <sup>6</sup>
2 AzGT1	Tomate	10 <sup>4</sup>
3 AzTCH3	Chile	10 <sup>6</sup>
4 AzTCH3	Chile	10 <sup>4</sup>
5 AzSTC-5	Trigo	10 <sup>6</sup>
6 AzSTC-5	Trigo	10 <sup>4</sup>
7 AceGN2	Nopal	10 <sup>6</sup>
8 AceGN2	Nopal	10 <sup>4</sup>
9	Testigo	0

Az= *Azospirillum* sp Ace= *Acetobacter* sp

#### 4.6 Modelo estadístico

El modelo estadístico a emplear es el siguiente:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

Dónde:

$\mu$ : media general

$\tau_i$ : efecto del *i*ésimo tratamiento

$\beta_j$ : efecto del *j*ésimo bloque

$\epsilon_{ij}$ : error del *i*ésimo tratamiento y *j*ésimo bloque

Los datos recabados se procesaron con la ayuda del software estadístico Minitab v.16 donde se obtendrán el ANVA de cada variable además de las pruebas de rango múltiple Tukey ( $p \leq 0.05$ ) con 9 tratamientos y 3 repeticiones

### 3.6.1 Prueba Tukey

Tukey (1953), propuso un procedimiento para comprobar la hipótesis nula. Esta prueba es usada para hacer todas las comparaciones múltiples que son posibles, de los tratamientos.

Calcular el DMSH =  $q(a, T, g.l) S_x$

Dónde:

$$q_{\alpha}(a, gl_E) \sqrt{\frac{CM_E}{n}}$$

$q(a, T, g.l)$  valor de tablas de Tukey, que se encuentran en las tablas con el número de tratamientos (T) los grados de libertad (g.l.) y el nivel de significancia (a) apropiado.

### 3.7 Toma de datos

Las variables de respuesta fueron peso fresco aéreo (PFA), peso seco aéreo (PSA), peso fresco raíz (PFR), peso seco raíz (PSR), longitud de raíz (LR), peso fresco de fruto (PFF) y peso seco de fruto (PSF), se realizaron 3 muestreos destructivos a los 30, 62 y 92 días después del trasplante (DDT).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Cuadro 6. Cuadrados medios del ANVA para análisis de N, P y K en fruto de chile jalapeño var. Grande inoculado con dos concentraciones (UFC mL<sup>-1</sup>) para tres cepas de *Azospirillum* y una de *Acetobacter*.**

FV	N			P		K	
	GL	CM	F	CM	F	CM	F
<b>Trat</b>	8	33317021	11.72**	27.660	31.55**	141.59	102.29**
<b>Bloques</b>	2	1832551	0.64NS	0.592	0.67NS	0.26	0.19NS
<b>Error</b>	16	2842049		0.877		1.38	
<b>Total</b>	26						

De acuerdo al análisis de varianza de fruto en relación al contenido de nitrógeno, fósforo y potasio del cuadro 6 se encontró diferencia altamente significativa entre tratamientos, que al menos uno produce diferente efecto en una mejor absorción de minerales(N, P, K ) y no existió diferencia significativa entre bloques.

**Cuadro 7. Prueba de Comparación de medias de Tukey ( $\leq 0.05$ ) en fruto de chile jalapeño var. Grande inoculado con dos concentraciones (UFC mL<sup>-1</sup>) para tres cepas de *Azospirillum* y una de *Acetobacter***

	N		P		K	
		Ppm		Ppm		Ppm
<b>1</b>	19470.1	BC	6.2	B	28.3	D
<b>2</b>	21771.6	BC	9.6	A	37.0	B
<b>3</b>	19727.5	BC	1.9	D	28.0	D
<b>4</b>	20833.2	BC	1.2	D	48.3	A
<b>5</b>	19700.9	BC	3.4	CD	28.0	D
<b>6</b>	27619.4	A	5.1	BC	32.0	C
<b>7</b>	23976.9	A B	3.7	BCD	35.0	BC
<b>8</b>	17424.0	C	9.2	A	26.3	D
<b>9</b>	16827.3	C	2.6	CD	35.3	BC

De acuerdo al cuadro 7 en relación a la prueba de comparación de medias De Tukey ( $P \leq 0.05$ ) en nitrógeno de fruto los tratamientos que fueron significativamente diferentes son el 6 y 7. Para Fósforo los tratamientos que fueron significativamente diferentes son el 2 y 8. En el caso de potasio el tratamiento 4 es significativamente diferente a todo los demás tratamientos. (Hartmann *et al*, 1983). En el cultivo de cereales como cebada y avena, al ser inoculados con esta bacteria más un 80% de fertilización química, Incrementan la producción (Dalla-Santana *et al.*, 2004). Así mismo, en el cultivo de cebolla se incrementa el tamaño del bulbo dando como resultado un mayor rendimiento (Yadav *et al.*, 2005). El crecimiento del fruto incluye una serie de eventos bioquímicos coordinados y dirigidos al aumento del tamaño y la multiplicación de células del tamaño de vacuolas intracitoplasmáticas y la acumulación de almidón, compuestos orgánicos, azúcares y otros componentes procedentes del proceso fotosintético.

**Cuadro 8. Cuadrados medios del ANVA para análisis de N, P y K en tallo de chile jalapeño var. Grande inoculado con dos concentraciones (UFC mL<sup>-1</sup>) para tres cepas de *Azospirillum* y una de *Acetobacter***

FV	GL	N		P		K	
		CM	F	CM	F	CM	F
<b>Trat</b>	8	49306632	11.90**	15.908	96.22**	105.426	88.61**
<b>Bloques</b>	2	410208	0.10NS	0.067	0.40NS	1.815	1.53NS
<b>Error</b>	16	4144879		0.165		1.190	
<b>Total</b>	26						

De acuerdo al análisis de varianza de tallo en relación al contenido de Nitrógeno, Fosforo y Potasio del cuadro 8 se encontró diferencia altamente significativa entre los tratamientos que al menos uno produce efecto en una mejor absorción de minerales (N, P, K) y no existió diferencia significativa entre repeticiones.

**Cuadro 9. Prueba de Comparación de medias de Tukey en tallo de chile jalapeño var. Grande inoculado con dos concentraciones (UFC mL<sup>-1</sup>) para tres cepas de *Azospirillum* y una de *Acetobacter* .**

	N	P	K
	Ppm		
1	25614.3 ABCD	5.8 A	39.7 A
2	27505.6 ABC	6.0 A	33.7 C
3	20850.2 E	4.4 B	35.7 BC
4	29310.6 A	0.3 E	35.7 BC
5	17314.8 E	0.7 E	25.7 EF
6	28367.9 AB	3.8 BC	30.0 D
7	21861.9 CDE	1.3 DE	38.0 AB
8	22585.0 BCDE	0.2 E	22.7 F
9	26677.4 ABCD	2.6 CD	34.7 C

De acuerdo al cuadro 4.4 en relación a la prueba de comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) en tallo los tratamientos con nitrógeno que fueron significativamente diferentes son 1, 2, 4, 6 y 9. Para fósforo los tratamientos que fueron significativamente diferentes son 1 y 2. En el caso del potasio los tratamientos que fueron significativamente diferentes son 1 y 7. Anu *et al.*, (2005) encontraron un incremento en el número de ramas de *Capsicum annum* L., al ser inoculados con *Azospirillum*, en comparación con la fertilización química.

**Cuadro 10. Cuadrados medios del ANVA para análisis de N, P y K en hoja de chile jalapeño var. Grande inoculado con dos concentraciones (UFC mL<sup>-1</sup>) para tres cepas de *Azospirillum* y una de *Acetobacter*.**

	N			P		K	
FV	GL	CM	F	CM	F	CM	F
Trat	8	43603965	20.86**	7.5828	85.57**	68.287	115.23**
Bloques	2	306074	0.15NS	0.0309	0.35NS	3.593	6.06
Error	16	2090226		0.0886		0.593	
Total	26						

De acuerdo al análisis de varianza de hoja en relación al contenido de nitrógeno, fósforo y potasio del cuadro 10 se encontró diferencia altamente significativa entre los tratamientos que al menos uno produce efecto en una mejor absorción de minerales (N, P, K) y si existió diferencia significativa entre las repeticiones.

**Cuadro 11. Prueba de Comparación de medias de Tukey en hoja de chile jalapeño var. Grande inoculado con dos concentraciones (UFC mL<sup>-1</sup>) para tres cepas de *Azospirillum* y una de *Acetobacter***

	<b>N</b>	<b>P</b>	<b>K</b>
	<b>Ppm</b>		
<b>1</b>	29909.8 <b>AB</b>	6.0 <b>A</b>	35.7 <b>CD</b>
<b>2</b>	29457.3 <b>AB</b>	3.4 <b>BC</b>	28.3 <b>F</b>
<b>3</b>	24134.3 <b>CD</b>	3.6 <b>BC</b>	38.7 <b>B</b>
<b>4</b>	32198.0 <b>A</b>	1.2 <b>D</b>	37.3 <b>BC</b>
<b>5</b>	22838.5 <b>CD</b>	3.1 <b>C</b>	29.7 <b>F</b>
<b>6</b>	29709.5 <b>AB</b>	4.1 <b>B</b>	32.3 <b>E</b>
<b>7</b>	22752.3 <b>CD</b>	3.6 <b>BC</b>	35.0 <b>D</b>
<b>8</b>	22004.0 <b>D</b>	0.6 <b>D</b>	33.7 <b>DE</b>
<b>9</b>	26636.6 <b>BC</b>	4.0 <b>B</b>	44.0 <b>A</b>

De acuerdo al cuadro 11 en relación a la prueba de comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) en hoja los tratamientos con nitrógeno que fueron significativamente diferentes son 1, 2, 4 y 6. Para fósforo el tratamiento que fue significativamente diferentes es el 1. En el caso del potasio el tratamiento que fue significativamente diferente es el 9. Tales resultados coinciden con lo reportado por Canto Martín *et al.* (2004), quienes observaron un incremento significativo en el peso seco aéreo en plántulas de chile habanero al ser inoculadas con *Azospirillum* sp. En concentraciones de  $3 \times 10^7$  y  $1 \times 10^7$  ufc mL<sup>-1</sup>. Zair Saatovich (2006) encontró incremento en la biomasa aérea de plantas de trigo.

**Cuadro 12. Cuadrados medios del ANVA para análisis de N, P y K en raíz de chile jalapeño var. Grande inoculado con dos concentraciones (UFC mL<sup>-1</sup>) para tres cepas de *Azospirillum* y una de *Acetobacter*.**

FV	N			P		K	
	GL	CM	F	CM	F	CM	F
<b>Trat</b>	8	22880338	5.22**	16.598	86.98**	86.583	83.12**
<b>Bloques</b>	2	6870486	1.27NS	0.109	0.57NS	2.333	2.24NS
<b>Error</b>	16	4386420		0.191		1.042	
<b>Total</b>	26						

De acuerdo al análisis de varianza de raíz en relación al contenido de nitrógeno, fosforo y potasio del cuadro 12 se encontró diferencia altamente significativa entre tratamientos que al menos uno produce efecto en una mejor absorción de minerales (N, P, K) y no existió diferencia significativa entre bloques.

**Cuadro 13. Prueba de comparación de medias de Tukey en raíz de chile jalapeño var. grande inoculado con dos concentraciones (UFC mL<sup>-1</sup>) para tres cepas de *Azospirillum* y una de *Acetobacter***

N	P		K	
	Ppm			
<b>1</b>	18181.6	<b>AB</b>	2.0 <b>D</b>	36.7 <b>B</b>
<b>2</b>	18961.4	<b>AB</b>	7.1 <b>A</b>	33.7 <b>CD</b>
<b>3</b>	15914.6	<b>B</b>	2.3 <b>D</b>	34.7 <b>BC</b>
<b>4</b>	23793.5	<b>A</b>	0.3 <b>E</b>	22.7 <b>F</b>
<b>5</b>	17445.1	<b>B</b>	4.9 <b>B</b>	31.3 <b>DE</b>
<b>6</b>	23711.1	<b>A</b>	3.0 <b>CD</b>	30.7 <b>E</b>
<b>7</b>	20088.8	<b>A B</b>	2.1 <b>D</b>	42.0 <b>A</b>
<b>8</b>	17348.8	<b>B</b>	3.8 <b>B C</b>	28.7 <b>E</b>
<b>9</b>	18479.0	<b>AB</b>	7.2 <b>A</b>	33.7 <b>CD</b>

De acuerdo al cuadro 13 en relación a la prueba de comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) en raíz los tratamientos con nitrógeno que fueron significativamente diferentes son 1, 2, 4, 6, 7 y 9. Para fósforo los tratamientos



que son significativamente diferentes son 2 y 9. En el caso del potasio el tratamiento que fue significativamente diferente es el 7. Ribaudó *et al.* (2006) reportan resultados obtenidos con la inoculación de *Azospirillum brasilense* FT 326 en tomate, señalan que obtuvieron un incremento en el peso fresco de la raíz, mayor longitud de los pelos radiculares, mayor superficie radicular y que el contenido de dos fitohormonas relacionadas con el crecimiento vegetal, ácido-3-indolacético y etileno, fue superior en las plantas inoculadas. Dalla-Santana *et al.* (2004) señalan que al utilizar bacterias de *Azospirillum* sp. En los cultivos de cebada y avena, incrementaron la producción.

## V. CONCLUSIONES

Se concluye que la cepa de *Azospirillum* aislada de raíces de tomate de General Cepeda ( AzGT) incrementa el contenido de fósforo en el fruto y tallo y el contenido de nitrógeno en las hojas, la de *Azospirillum* de torreón aislada de raíces de chile (AzTCh) el potasio en fruto y nitrógeno en hojas, la de *Azospirillum* de Saltillo (AzST-5) aislada de raíces de trigo el nitrógeno en frutos y hojas y la cepa de *Acetobacter* aislada de raíces de nopal de General Cepeda (AceGN) el fósforo, todas las rhizobacterias funcionaron mejor a la concentración baja.

Por lo anterior la inoculación de cepas nativas de *Azospirillum* y *Acetobacter* es una alternativa orgánica para utilizarse en el cultivo de chile jalapeño.

## VI. LITERATURA CITADA

- Anónimo. 2006.** Variedades de chile jalapeño. En: Revista Productores de Hortalizas 2006. p. 12. 68:25-27. (Disponible en línea en [www.hortalizas.com](http://www.hortalizas.com)) (Consulta: 09 de febrero de 2015).
- Anu, V., K. E. Syriac y P. I. P. Ge Yadav. 2005.** Growth characters of chilli (*Capsicum annuum* L.) as influenced by varying levels of fertilizers in combination with fluorescent pseudomonas and *Azospirillum*. Vegetable Sci. 32(2): 150-153.
- Aguirre – Medina J. F., M. B. Irazar G., A. Duran P., O. A. Grajeda C., M. A. Peña R., C. Loredo O. y A. Gutiérrez B. 2009.** Los fertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México Tuxtla Chico, Chiapas, México, Marzo de 2009 Instituto Nacional de Investigadores Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo experimental Rosario Izapa. PP. 5 – 31.
- Alonso, E. T. 2005.** Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill), VII, (2) 47 – 54.
- Aloni B. L. Karni, Z. Zaidmon and A. Scheffer 1996.** Change of carbohydrate in pepper (*Capsicum annuum* L.) flowers under different shading regimes. Annals of Botany 78: 163-168
- Arzanesh M, H Alikhani, K Khavazi, H Rahimian, M iransari. 2010.** Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum* sp. Under drought stress. Springer. World Journal Microbiol Biotechnol. 1-9.
- Ascary M, A Mostajeran, R Amooaghaei, M Mostajeran. 2009.** Influence of the Co-inoculation *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium meliloti* plus 2, 4 D on Grain Yield and N, P, K content of *Triticum aestivum* (Cv. Baccros and Mahdavi). American Eurasian. Journal. Agriculture. & Environment. Science., 5(3): 296-307.

- Behar A, Yuval B, Jurkevitch E. 2005.** Enterobacteria-mediated nitrogen fixation in natural populations of the fruit fly *Ceratitis Capitata*. *Mol Ecol* 14:2637-2643.
- Barassi, C. 2006.** Seed inoculation with *Azospirillum* mitigates Na Cl effects on lettuce. *Scientia Horticulture*, 109 (1):8–14. Available at:<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423806001130>.
- Bare J, M Pozo, R Azcon, A Aguilar, 2005.** Microbial co-operation in the rizosphere. *Journal of experimental Botany* 56(417): 1761-1778.
- Bashan, y., Holguin, G & de Bashan, L, E, 2004** relations *Azospirillum* – plant hips: physiological, molecular, agricultural, and enviromental advences . *Can. J. microbial.* , 50 (1): 521-577
- Bashan Y, L Bashan. 2002.** Protection of tomato seedings against infection by *pseudomonas syringae* pv tomato by using the plant growth promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. *Applied and Environmental Microbilology*. 68 (6): 2637-2643.
- Bashan Y, L de Bashan 2005.** Bacteria / Plant growth – promotion. En Hillel D (Ed). *Encyclopedia of soils in the environment*. Vol. 1. Elsevier. Oxford. RU. Pp. 103-115.
- Bashan, Y.; Holguín, G.; Ferrera Cerrato, R. 1996.** Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. II. Bacterias asociativas de la rizosfera. *Terra*. 14(2): 195-209
- Benavides, G. D., & Hermida, A., 2008.** Aislamiento e identificación de flora bacteriana nativa del suelo de los páramos Cruz Verde y Guasca (Cundinamarca). Tesis de licenciatura de la pontifica Universidad Javeriana Facultad de Ciencias. Carrera de microbiologia industrial. Bogotá D. C., 118.
- Behar A, Yuval B, Jurkevitch E. 2005.** Enterobacteria-mediated nitrogen fixation in natural populations of the fruit fly *Ceratitis Capitata*. *Mol Ecol* 14: 263 -2643.

- Bitterli, C., Bañuelos, G.S. & Schulin, R., 2010.** Use of transfer factors to characterize uptake of selenium by plants. *Journal of Geochemical Exploration*, 107(2), pp.206–216. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037567421000141X>.
- Blondon L. H. 1987** Effects of temperature the growth and mineral composition of sweet pepper and oeggplanntt grow under glas. PP 35 – 37.
- Canto-Martin, J.C., S. Medina-Peralta y D. Morales Avelino. 2004.** Efecto de la Inoculacion con *Azospirillum* sp. En plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacquin). *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 4: 21-27.
- Camelo M, Vera SP, Bonilla RR 2011.** Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 12: 159-166.
- Carballo CA 1992.** La calidad genética y su importancia en la producción de semillas. En: Situación actual de la producción, investigación y comercio de semillas en México. (Eds Mendoza OL, Favela CE, Cano RP, Esparza M J H). Memoria tercer Simposium, Torreón, Coahuila, México. pp. 80-101.
- Cárdenas, D.M., Garrido, M.F. & Bonilla, R.R., 2010.** Pasto guinea (*Panicum maximum* Jacq) del Valle del Cesar Isolation and identification of *Azospirillum* sp in Guinea grass ( *Panicum maximum* Jacq .) of the Valle del Cesar.
- Castellanos, J.Z 2009.** Manual de producción de tomate en invernadero. Editorial INTAGRI. Mexico.p.132-133
- Castaños C. M., 1993.** Horticultura manejo simplificado colección fénix. Universidad Autónoma Chapingo México.
- Cassán F, D Perrig, V Sgroj, O Masciarelli, C Penna, V Luna. (2009 a).** *Azospirillum brasilense* Az 39 and *Bradyrhizobium japonicum* E 109. Inoculated singly or in combination promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soy bean (*Glycine max* L.). *European Journal of Soil Biology.* 45. pp. 28-35.

- Chapin FS, Jefferies RL, Reynolds JF, Shaver GR, Svoboda J. 1992.** Artic plant physiological ecology: a challenge for the future. In: Chapin FS, Jefferies RL, Reynolds JF, Shaver GR. (Eds.) Artic Ecosystems in a Chaging Climate: An Ecophysiological Perséctive. Academic Press, San Diego pp 3-8.
- Cohen A, R Bottini, P Piccoli 2008.** *Azospirillum brasilense* sp 245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in *Arabidopsis* plants. Plant Growth Regulated. 54: 97-103.
- Collados,F. 2006.** Impacto de inoculantes basados en *Azospirillum* modificado genéticamente sobre la diversidad y actividad de los hongos de la micorriza arbuscular en rizosfera de trigo y maíz. Tesis doctoral. Universidad de granada, facultad de ciencias departamento de Mi, 7 – 11.
- Dalla Santana, O. R., H.R. Fernández, G.L. Michelena Álvarez, P. Ronzelli Junior y C. Ricardo-Soccol. 2004.** *Azospirillum* sp. inoculation in wheat, barley and oats seeds greenhouse experiments. Brazilian Archives of Biology and Technology. An International Journal 47 (6): 843-850.
- Deslippe RJ, Egger NK. 2006.** Molecular diversity of *nifH* genes from bacteria associated with high arctic Dwarf Shrubs. Microbial Ecol 51:516-525.
- Di Barbaro G, S Pernasetti, A Stegmayer 2005.** Evaluación del efecto de *Azospirillum brasilensis* en la germinación y emergencia del pimentonero (*Capsicum annum* L. Var. Trompa de elefante). Cizas. 6:75-85.
- Díaz C, E González, J Álvarez, M Silva. 2003.** Estudio preliminar de diferentes técnicas de aplicación de un biofertilizante a base de *Azospirillum*

sp. En el cultivo de la lechuga. (*Lactuca sativa* L.) Centro Agrícola. Jardín Botánico de Villa Clara. 30: 18-22.

- Elein T, A Leyva, A Hernández.** 2005: Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). Revista Colombiana de Biotecnología, Vol. 7: (2). 47 - 54.
- Ecker B, O Baller, G Kirchhof, A. Halbritter, M Stoffels, A. Hartman.** 2001. *Azospirillum doebereineriae* spp. Nov. a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4- grass Miscanthus. Internat J. Sistem. Evolut. Microbiol. 51, 17-26.
- EI, E.N.** 2005. Estudio de la interacción planta- *Azospirillum*. , 26(4), pp.13– 19.
- Ferrera CR, Pérez MJ.** 1995. Agromicrobiología útil en la agricultura sustentable. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillo, Estado de México.
- Ferrera - Cerrato R, Alarcón A** 2007. Microbiología Agrícola. Hongos, bacterias, micro y macro fauna, control biológico y planta – microorganismo, Ed. Trillas, México, D.F. 568 pp.
- Fisher S E, S I Fisher, S Magris, G Mori** 2007. Isolation and Characterization of bacteria from the rizosphere of wheat. World Journal Microbiology Biotechnology. 23: 895-903.
- German M, S Burdman, Y Okon.** 2000. Effects of *Azospirillum brasilense* on root morphology of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different water regimes Biology. Fertilices. Soil. 32, 259-264.
- Guerrero H., M.J., J. F. Limón G., E. Gándara R. y J.X. Uvalle B.** 1996. Evaluación de tres programas de fertilización en chile jalapeño con riego por goteo y acolchado plástico. pp. 93-96. In: XXVII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Cd. Obregón, Sonora, México
- Hartmann, A., M. Singh y W. Klingmuller.** 1983. Isolation and characterization of *Azospirillum* mutants excreting high amounts of indoleacetic acid. Can. J. Microbiol. 29: 916-923.

- INIA. 1982.** Presente y pasado del chile en México, editado por J.A. LabordeCansino y o Pozo Campodónico. SARH-INIA. México.
- Katzy E, L Borisov, A Scheludko. 2001.** Effect of the integration of vector pJFF350 into plasmid 85-Mda of *Azospirillum brasilense* Sp245 on bacterial flagellation and motility. Russ. J. Genet. 37 (2): 183-189.
- Kim K, H Deka, C Woo, C Shagol, M Tong. 2010.** Isolation and evaluation of inoculation effect of *Azospirillum* sp. On growth, colonization and nutrient uptake of crops under green house condition. 19 th World congress of soil science, Soil solutions for changing world. Brisbane, Australia.
- Kowalchuck GA. Stephen JR 2001.** Ammonia - oxidizing bacteria; amodel form molecular microbial ecology. Annu Rev Microbiol 55:485-529.
- Macías-Duarte R, Grijalva-Contreras RL, Robles-Contreras F (2012).** Respuesta de la aplicación de estiércol y fertilizantes sobre el rendimiento y cantidad del chile jalapeño. Biotecnia. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud 14: 32-38.
- Martínez. 2002.** Productividad e acumulo de nitrato en estado nutricional de cultivares de alface, em hidroponia, em função de fontes de nutrientes. Horticultura Brasileira. Brasília. 20 (2): 195- 200.
- Mendoza V, V Zamora, C Cabello, G Martínez, De Alba K. 2006.** Efecto de biofertilización con *Azospirillum* sp. En trigo (*Triticum durum* y *aestivum*) sobre Rendimiento en Invernadero. Libro científico anual, agricultura, ganadería y ciencia forestal en la UAAAN, Saltillo, Coahuila, México.
- Patten CL, Glick BR (1996).** Bacterial biosynthesis of indole 3-acetic acid. Canadian Journal of Microbiology 42: 207-220.
- Pedraza RO, Ramírez-Mata A, Xiqui ML, Baca BE 2004.** Aromatic amino acid aminotransferase activity and índole-3-acetic acid production by associative nitrogen-fixing bacteria. FEMS Microbiology Letters 233: 15-21.



- Pikergill B. 1984.** Migrations of chilli peppers, *Capsicum* spp. in the Americas. In: Stone, D. Ed. Papers of Peabody Museum of Archeology. Vol. 76. Harvard University Press. pp.: 105-123.
- Pereyra M, C Zalazar, C Barassi 2006.** Root phospholipids in *Azospirillum* – inoculated wheat seedling exposed to water stress. *Plant Physiology Biochemical*. 44:873-879.
- Pereyra M, F Ballesteros, C Creus, R Sueldo, C Barassi 2009.** Seedlings growth promotion by *Azospirillum brasilense* under normal and drought condition remains unaltered in Tebuconazole-treated wheat sees. *Europe Journal Soil Biology*. 45: 20-27.
- Pereyra, C.M. 2010.** Changes in cucumber hypocotyl cell wall dynamics caused by *Azospirillum brasilense* inoculation. *Plant physiology and biochemistry : PPB / Société française de physiologie végétale*, 48(1), pp.62–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19875302> [Accessed March 26, 2014].
- Pizzani, P. 2009.** Fósforo total. Fósforo fítico y actividad fitásica en los frutos de árboles forrajeros de los Llanos Centrales de Venezuela Total phosphorus, phytic phosphorus and phytase activity in the fruits of forage trees from the Central Plains, Venezuela. , 32(2), pp.165–174.
- Reyes I, Álvarez L, El-Ayoubi H, Valery A 2008.** Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimiento y maíz. *Bioagro* 20: 37-48.
- Potisek T., M. del C., M. Moreno S.F. y J.L. González B. 2000.** Producción de chile jalapeño bajo riego por cintilla subsuperficial, en dos regímenes de humedad y acolchado plástico. pp. 142-149. In: IX Congreso Nacional de Irrigación. Culiacán, Sinaloa, México.
- Ribaudo, C.M., E. M. Krumpholz, F. D. Cassan, R. Bottini, M. L. Cantore y J. A. Cura. 2006.** *Azospirillum*. sp. promotes root hair development in

tomato plants through a mechanism that involves ethylene. J. Plant Growth Reg. 25 (2): 175-185.

**Russo A, L Vettori. C Felici, G Fiashi, S Morini, a Toffanin 2008.** Enhanced micropropagation response and biocontrol effect of *Azospirillum brasilense* sp 245 on *Prunus cerasifera* L. clone mr. S 2/5 plants. Journal Biotechnology 134: 312-319.

**SIAP-SAGARPA.2009.** Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera. <http://www.siap.gob.mx>

**SIAP-SAGARPA 2012.** Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/index.php> (15 Julio 2013)

**Shankar S., J., V. Chandra P. and Shingha. 2011.** Efficient soil microorganisms: A new dimensión for sustainable agricultura and enviromental development. Agriculture ecosystems & enviromet 140: 339 – 353).

**Shigueru-Okumura R, De Cinque-Mariano D, Dallacort R, Nogueira-De Albuquerque A, Da Silva-Lobato AK, Silva-Guedes EM, De Oliveira-Neto CF, Oliveira -Da Conceicao HE, Ruffei-Alves GA 2013.** *Azospirillum*: a new and efficient alternative to biological nitrogen fixation in grasses. Journal of Food Agriculture and Environment 11: 142-1146.

**Solorzano, P. 2001.** Manual para la Fertilización de Cultivos en Venezuela Ed. Agroisleña, C.A Caracas. Venezuela. 2168.

**Tsavkelova EA, Klimova SY, Cherduntseva TA, Netrusov AI 2006.** Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. Applied Biochemistry and Microbiology 42: 117-126.

**Spaepen S, S Dobbelaere, A Croonenborghs, J Vanderleyden 2008.** Effects of the *Azospirillum brasilense* Indole-3-acetic acid production on inoculated wheat plants. Plant Soil. 312: 1-23.

- Valadez J.A 1992.** Producción de Hortalizas Ed. Limusa México pp 67-168.
- Villegas J, E Rueda, A Murillo, M Puente, O Grimaldo, S Avilés, J Ponce.**  
Efecto en la inoculación de *Azospirillum halopraeferens* y *Bacillus 48 amyloliquefaciens* en la germinación de *prosopis chilensis*. 2010.  
Tropical and subtropical Agroecosystems. 12 (1): 19-32.
- Viñals M, Villar 1999.** Avances en la formulación y aplicación de inocul.
- Vessey JK 2003.** Plant growth promoting rhizobacteria as fertilizers. Plant and Soil 255: 571-586.
- Wu S, Z Cao, Z Li, M Cheung, W Wong 2005.** Effects of biofertilizers containing N-fixer, P y K solubilizers and AM on maize growth: a greenhouse trial Geoderma. 125:155-166.
- Whipps JM 2001.** Microbial interactions and biocontrol in the rizosphere. Journal of Experimental Botany 52: 487-511.
- Yadav, B.D., R. B. Khandelwal y Y.K. Sharma. 2005.** Use of biofertilizer (*Azospirillum*) in onion. Indian J. Horticulture 62 (2): 168-170.
- Zair-Saatovich, S. 2006.** *Azospirillum* of Uzbekistan soils and their influence on growth and development of wheat plants. Plant and Soil 283(12): 137-145.
- Zhang L, Hurek T., Reinhold H. 2007.** A *nifH*-based oligonucleotide microarray for functional diagnostics of nitrogen - Fixing microorganisms. Microbial ecol 53: 456-470.