

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



**Evaluar la Producción de Biomasa en Invernadero con *Azospirillum* sp
en dos Variedades de Tomate
(*Lycopersicon esculentum* Mill).**

Por:

LUIS ALBERTO VELAZQUEZ GONZALEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Noviembre de 2009

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

TESIS

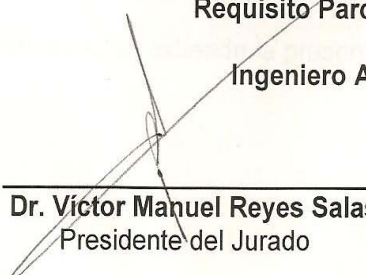
**Evaluar la Producción de Biomasa en Invernadero con *Azospirillum* sp
en dos Variedades de Tomate
(*Lycopersicon esculentum* Mill).**

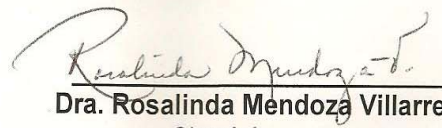
Presentada por:

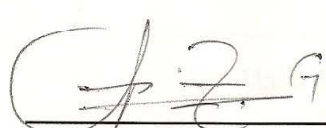
Luis Alberto Velázquez González


**Que Somete a Consideración del H. Jurado Examinador Como
Requisito Parcial para Obtener el Título de**

Ingeniero Agrónomo en Horticultura


Dr. Víctor Manuel Reyes Salas
Presidente del Jurado


Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal
Sinodal


M.C. Luis Rodríguez Gutiérrez
Sinodal


Ing. Diana María Sifuentes Saucedo
Sinodal suplente


Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo

Coordinador de la División de Agronomía

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
División de Agronomía

Noviembre de 2009



DEDICATORIAS

A MIS PADRES:

**Odilón J. Velázquez González
Nora Lilia Colombia González de León**

Por sus esfuerzos y noches de angustias para formar una persona de bien, con valores y principios.

Hoy con amor les dedico esta tesis como tributo de su confianza como una manera más de decirles cuanto los quiero, admiro y respeto, por ser los padres maravillosos en el mundo y sobre todo por darme la oportunidad de vivir.

A MI HERMANO:

MC. Didier J. Velázquez González.

Por su apoyo y comprensión ya que significa mucho para mi, por los momentos que hemos compartido juntos en nuestra niñez y durante mi formación.

A MIS HERMANOS MENORES:

Lorena del Carmen, Lisset Melina e Iván Odilón, por ser mi familia y la alegría de la casa, son mi inspiración y mi fuerza para salir adelante, los llevo siempre en el corazón y en la mente.

A SALVADOR SAMAYOA y FAMILIA.

Por su amistad incondicional, por integrarse a la familia dando cariño, comprensión y sobre todo porque han dado vida a nuevos seres: Francisco, Indira y a chite buba.

A BERTA ROBLERO LOPEZ y FAMILIA.

Con todo mi corazón, por estar siempre a mi lado, comprensiva y cariñosa, apoyándome para librar los retos de la vida, pero lo más importante es contar con ella y darme uno de los mas grandes tesoros de la vida... un hijo y a su familia por el afecto, cariño y confianza que han depositado en mí, a todos ellos...gracias.

MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS.

Nina, Midiam, Raquel, Diana, Sandra, Nury, Cuata, Nena, Marcos, Cala, Milo, Novo, Novito, Coki, Galileo, Maynor, Osmar, Andy, Very, Selvin, Manuel, Mardoqueo, Lili, Leyd y compañía. En especial a Ciro, Wilber, Begali, Mario, Choco, Didier, Conejo, Pacheco, Floriberto, Ludim, Carlos (Cotosh), Víctor, Toño, Roger, Abel, Manuel,

AGRADECIMIENTO

A DIOS

Primeramente a Dios, quien nos concede el privilegio de vivir y nos ofrece lo necesario para lograr nuestras metas, gracias por permitirme ser, por tomar el camino que Tú no quisieras, por las pruebas que me envías y me han hecho crecer como persona y ser humano, por que gracias a Ti he podido ser y construir lo que hasta ahora soy, permitiéndome dar lo mejor de mí.

A MI “ALMA MATER”

Mi segunda casa, por haberme cobijado en su seno, brindarme sus servicios para hacer realidad mi formación profesional, estaré eternamente agradecida por darme las armas necesarias para afrontar los futuros retos como profesional de la agronomía.

A MIS ASESORES

DRA. ROSALINDA MENDOZA VILLARREAL

DR. VICTOR REYES SALAS

M.C. LUIS RODRIGUEZ GUTIERREZ.

ING. DIANA MA. SIFUENTES SAUCEDO

Gracias por haberme permitido realizar el presente trabajo de investigación; proporcionándome sus conocimientos y experiencia. Por su apoyo y amistad, de igual forma por la asesoría que tuvieron hacia mí, nuevamente gracias.

INDICE DE CONTENIDO

	Pagina
I. INTRODUCCION	1
OBJETIVO.....	3
HIPOTESIS.....	3
II. REVISION DE LITERATURA	4
Generalidades del Cultivo.....	4
Origen del cultivo.....	4
Taxonomía y Morfología.....	4
Planta	4
Sistema radicular	4
Tallo principal.....	5
Hoja	5
Flor	5
Fruto	5
Requerimiento del cultivo.....	5
Suelo	5
Historia del <i>Azospirillum</i>	5
Distribución	6
Clasificación taxonómica.....	7
Características de la bacteria	7
Aislamiento del <i>Azospirillum</i>	7
<i>Azospirillum</i> como promotor de hormono de crecimiento....	8
Desarrollo radicular.....	9
Biomasa	11
Altura de planta	13
III. MATERIALES Y METODOS	15
Localización geográfica.....	15
Materiales	15
Material vegetativo	15

Material biológico.....	15
Metodología.....	15
Preparación de formulado liquido.....	15
Inoculación a semilla.....	16
Sustrato.....	16
Siembra en charolas.....	16
Tratamientos evaluados	16
Muestreo	17
Variables a Evaluar	17
Peso fresco tallo y raíz.....	17
Peso seco tallo y raíz.....	17
Longitud de raíz.....	17
Longitud de Tallo.....	18
Diseño experimental	18
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	19
Peso fresco tallo.....	19
Peso seco tallo.....	21
Peso fresco raíz.....	23
Peso seco raíz.....	25
Longitud de tallo.....	27
Longitud de raíz	28
V. CONCLUSIONES	31
VI. RESUMEN	32
VII. LITERATURA CITADA	33

INDICE DE CUADROS

	Pagina
Cuadro 1. Distribución de combinaciones de la cepas de <i>Azospirillum</i> sp con las dos variedades de tomate var. Rio grande y Floradade	16
Cuadro 2. Cuadrados medios de peso fresco de tallo en dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.....	19
Cuadro 2.1. Comparación de medias del Factor A y B en la variable peso fresco tallo en dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.....	20
Cuadro 2.2. Comparación de medias en la variable peso fresco tallo de dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.	20
Cuadro 3. Cuadrados medios de peso seco de tallo en dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.....	21
Cuadro 3.1. Comparación de medias del Factor A y B en la variable peso seco tallo en dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.....	22
Cuadro 3.2. Comparación de medias en la variable peso seco tallo de dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.....	22
Cuadro 4. Cuadrados medios de peso fresco de raíz en dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN. 2008.....	23
Cuadro 4.1. Comparación de medias del Factor A y B en la variable peso fresco raíz en dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.....	24

Cuadro 4.2. Comparación de medias en la variable peso fresco raíz de dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.....	25
Cuadro 5. Cuadrados medios de peso seco de raíz en dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la U.A.A.A.N. 2008.....	25
Cuadro 5.1. Comparación de medias del Factor A y B en la variable peso seco raíz en dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.....	26
Cuadro 5.2. Comparación de medias en la variable peso seco raíz de dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.....	26
Cuadro 6. Cuadrados medios de longitud de tallo en dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la U.A.A.A.N, 2008.....	27
Cuadro 6.1. Comparación de medias del Factor A y B en la variable longitud tallo en dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.....	28
Cuadro 6.2. Comparación de medias en la variable longitud de tallo de dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.....	28
Cuadro 7. Cuadrados medios de longitud de raíz en dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.....	29
Cuadro 7.1. Comparación de medias del Factor A y B en la variable longitud de raíz en dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.....	30
Cuadro 7.2. Comparación de medias en la variable longitud de raíz de dos var. de tomate inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.....	30

I. INTRODUCCION

En México, el tomate es una de las hortalizas de clima cálido de mayor importancia económica, reflejándose en la expansión y mejoramiento de las técnicas aplicadas para su producción. A pesar de las condiciones edáficas y climáticas que imperan en nuestro país ha sido posible que se cultive en 29 entidades tanto del norte, centro y sur de México. Pese a esta enorme diversidad podemos señalar que tan solo cinco estados concentran el 60 % de la producción, de superficie sembrada y cosechada. La superficie cosechada de tomate a nivel nacional para el año del 2006 fue de 48,887 ha con una producción de 1,391,213 t. siendo los estados productores Sinaloa, Michoacán, San Luis Potosí, Zacatecas y Baja California sur. En donde Sinaloa, representa el 34.9 % del total nacional; seguido por el estado de Michoacán con el 8.5 %; San Luis Potosí con el 7.7 %; Zacatecas con el 7 % y Baja California Sur con el 5.8 %. (SAGARPA 2006).

Existen diversas formas para la producción de este cultivo: en invernadero, en suelo o en hidroponía. El cultivo en suelo es más tradicional y los agricultores que lo practican se han encontrado con diferentes problemas para su producción y esto radica principalmente en los altos costos de los agroquímicos, prácticas agrícolas mal empleadas, la disponibilidad de nutrientes para la planta y el deterioro del suelo. Esto hace necesario implementar técnicas de producción agrícolas enfocadas al uso eficiente de los recursos para llevar una agricultura sostenible. En este sentido la actividad biológica y microbiológica de los suelos tiene un papel preponderante en el logro de los cultivos de alta producción.

La rizosfera se caracteriza por presentar una alta concentración de nutrientes en comparación con el resto del suelo en respuesta a la presencia de compuestos liberados por las plantas. En este ambiente se desarrollan microorganismos en cantidades muy superiores a las que se encuentran en el resto del suelo, entre los microorganismos

mas empleados y mejor estudiados encontramos a *Rhizobium* y *Azospirillum*, y los hongos micorrizicos arbusculares como *Glomus*, entre otros. Las bacterias llamadas rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas (PGPR) se caracterizan por su habilidad de facilitar directa o indirecta el desarrollo de la raíz y del follaje de las plantas por medio de la fijación de nitrógeno, la producción de hormonas, de enzimas y solubilización de fosfatos.

Actualmente son reconocidas seis especies en el genero *Azospirillum*, aunque la especie *A. Brassilense* tiene efecto sobre la germinación, tamaño de planta, aumentando la biomasa logrando plántulas de mayor calidad en hortalizas como en lechuga, tomate, chile, etc. para la producción de planta inoculadas con microorganismo acortan los días para el transplante ya que se refleja en vigor, mayor numero en tamaño de hojas y raíz favoreciendo la asimilación de agua y nutrientes. Por lo tanto, los cultivos deben desarrollarse de tal forma que la biomasa le permita una máxima absorción para así lograr el máximo desarrollo fisiológico.

En la actualidad el uso de inoculantes se ha incrementado considerablemente en los últimos años debido a la promoción que hacen de ellos las compañías de agroquímicos. En el mercado existe una amplia gama de inoculantes; sin embargo, muchas veces no son efectivos debido a varios factores, entre los que destacan las fallas en la manipulación de los inoculantes, concentración, viabilidad del inoculo, mala aplicación, inadecuada combinación con pesticidas y el amplio espectro de cultivos a los cuales se recomiendan. Es por ello que el presente trabajo tiene como:

PALABRAS CLAVE: BIOMASA, AZOSPIRILLUM, JITOMATE, INOCULACION.

OBJETIVO

Evaluar el efecto de *Azospirillum* sp en el crecimiento y desarrollo de plántulas de dos variedades de tomate en condiciones de invernadero.

HIPOTESIS

El uso de *Azospirillum* sp incrementa la biomasa en tomate debido a que promueve la síntesis de hormonas vegetales, al fijar nitrógeno en la planta favoreciendo el vigor de la misma.

II. REVISION DE LITERATURA

Generalidades del tomate

Origen del cultivo.

El jitomate o "tomate rojo" es originario de América del Sur, aunque se considera a México como centro de su domesticación. 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 en el globo terráqueo. Es una de la especie hortícola más importante de nuestro país debido al valor de su producción y a la demanda de mano de obra que genera. En México es el principal producto hortícola de exportación, ya que representa el 37% del valor total de las exportaciones de legumbres y hortalizas y el 16% del valor total de las exportaciones agropecuarias, sólo superada por el ganado vacuno.

Taxonomía y Morfología

Familia: *Solanáceas*.

Especie: *Lycopersicon esculentum* Mill.

Planta: Tipo arbustivo que se cultiva como anual. Puede desarrollarse de forma rastrera, semirrecta o erecta. Existen variedades de crecimiento limitado (determinadas) y otras de crecimiento ilimitado (indeterminadas).

Sistema radicular: Raíz principal (corta y débil), raíces secundarias (Numerosas y potentes) y raíces adventicias.

Tallo principal: Eje con un grosor que oscila entre 2-4 cm. en su base, sobre el que se van desarrollando hojas, tallos secundarios e inflorescencias.

Hoja: Compuesta con foliolos peciolados, lobulados y con borde dentado- en número de 7 a 9 y recubiertos de pelos glandulares. Las hojas se distribuyen de forma alternativa sobre el tallo.

Flor: Es perfecta, regular e hipógina y consta de 5 o más sépalos de igual número de pétalos color amarillo.

Fruto: Baya, bi o plurilocular que puede alcanzar un peso que oscila entre unos pocos miligramos y 600 gramos. Está constituida por el pericarpio, el tejido placentario y las semillas.

Requerimiento edáfico.

Suelos

Los suelos aptos para cultivar tomate son los de media a mucha fertilidad, profundos y bien drenados, pudiendo ser franco-arenosos, arcillo-arenosos y orgánicos. El pH del suelo tiene que estar dentro de un rango de 5.9 - 6.5, para tener el mejor aprovechamiento de los fertilizantes que se apliquen.

Historia del *Azospirillum*

En 1925 fue descrito el género *spirillum lipoferum* por Beijerinck, esta bacteria estuvo olvidada por décadas, Peña-Cabrales y Döbereiner en 1973 iniciaron la época moderna de esta bacteria, posteriormente estudios taxonómicos de *S. lipoferum* conducen a su reclasificación en un género nuevo, *Azospirillum*.

En años recientes, se ha retomado el interés en 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).

Actualmente se reconocen seis especies en el género *Azospirillum*. Las primeras que se describieron fueron *A. lipoferum* y *A. brasilense*, siendo éstas las más ampliamente estudiadas. Posteriormente fueron descritas *A. amazonense*, *A. halopraeferans*, *A. irakense* y *A. largomobile* siendo el nombre de esta especie corregido a *A. largimobile* (Sly 1999). Pocos años antes ésta especie fue considerada como un sinónimo de la especie *A. lipoferum*. Recientemente, en honor de quien impulsara los estudios con este género bacteriano y descubriera otros diazótrofos, se ha propuesto la especie candidata *A. doebereineriae* (Hartmann, 2000).

Distribución

Azospirillum muestran una muy amplia distribución geográfica alrededor del mundo siendo más abundantes en las regiones tropicales. También se encuentran en regiones templadas, frías y desérticas (De Coninck, 1988). El pH del suelo juega un papel importante en la presencia de las especies del género *Azospirillum*. Las especies de *A. brasilense* y *A. lipoferum* se encuentran en mayor abundancia en suelos con valores de pH cercanos a la neutralidad, aún cuando a pH abajo de 5 se les encuentra en forma esporádica y no lográndose su aislamiento de suelos con pH menor a 4.5 (Dobereiner, 1976). Un estudio en el que se evaluaron 23 tipos de suelos con características diferentes mostró que algunos factores abióticos tales como porcentaje de arcilla, contenido de materia orgánica, capacidad de retención de agua y contenido de nitrógeno afectan positivamente la sobrevivencia de *A. brasilense* (Bashan, 1995), en tanto que el tamaño de las partículas de arena y especialmente la alta concentración de carbonato de calcio afectan negativamente la sobrevivencia de esta especie en ausencia de plantas. No obstante, la sobrevivencia de *A. brasilense* en la rizosfera es independiente de la aridez del suelo.

Clasificación Taxonómica

La clasificación de *Azospirillum* de acuerdo al manual bergey (1984):

Reino	Procaryote
División	Gracilicute
Clase	Scotobacteria
Familia	No existe
Genero	<i>Azospirillum</i>
Especie	<i>lipoferum</i>

Características de la bacteria

Tarrand *et al.*, (1978), encontraron que las bacterias del genero *Azospirillum* son ligeramente curvas y de forma bacilar con 1 μ de diámetro de longitud, móviles en medio liquido con un flagelo polar, en medio sólido a 30 °C presenta numerosos flagelos laterales cortos y fijan el nitrógeno atmosférico. Se asocian a las raíces de cultivos de cereales, pastos y plantas tuberosas, y no forma nódulos en las raíces.

Una de las características fenotípicas más ampliamente usada como criterio para el reconocimiento tentativo del género *Azospirillum* es el color rojo escarlata que toman las colonias al crecer en un medio adicionado del colorante rojo Congo (Rodríguez- Cáceres 1982), no obstante, en este medio pueden hallarse colonias mutantes de *Azospirillum* de color blanco debido a la incapacidad de producir polisacáridos no identificados (Bastarrachea, 1987).

Aislamiento de *Azospirillum*

El aislamiento de las bacterias del género *Azospirillum* resulta en lo general muy simple, ya sea a partir de suelo rizosférico o de la superficie de las raíces (Rizoplano) de numerosas plantas hospederas.

También se le aísla del interior de las raíces o tallos de algunas plantas. 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 (Dobereiner, 1976).

Álvarez (1983), aislaron por siembra *Azospirillum* sp, a partir de un trozo pequeño de raíz, en medio semisólido y para reconocer las colonias de esta bacteria, Rodríguez (1981), agregó rojo Congo a los medios de cultivo y observo al microscopio, encontrando la bacteria mencionada anteriormente.

Las bacterias del género *Azospirillum* han sido aisladas de la superficie de la raíz de una muy amplia variedad de plantas y de su rizosfera, incluyendo cereales como maíz, trigo, arroz, sorgo, avena (Wong, 1979), pastos forrajeros como *Cynodon dactylon* (Caballero *et al.*, 1983), *Poa pratensis*, *Festuca arundinacea*, de diferentes especies de *Pennisetum* y *Panicum*. Especies de *Azospirillum* fueron aisladas incluso del henequén *Agave fourcroydes*; (López *et al.*, 1989), y plantas cactáceas que incluyen diferentes especies de *Opuntia* y *Stenocereus*. En algunos casos se logró confirmar el aislamiento de *A. brasilense* y *A. amazonense* de semillas de pastos esterilizadas superficialmente (Sundaram, 1988). Aun cuando no fueron identificados al nivel de especie, algunas cepas de *Azospirillum* fueron aisladas de esporocarpos de los hongos ectomicorrízicos *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata* and *Rhizopogon vinicolor* (Li, 1987).

***Azospirillum* como promotor de hormonas de crecimiento**

Se conoce que algunos géneros de *Azospirillum* y *Azotobacter* penetran la corteza de la raíz y producen fitohormonas como giberelinas, auxinas (ácido indolacético), citoquininas, ácido abscísico y fijan N₂ (Curl y Truelove, 1986; Lynch, 1990), lo que estimula el crecimiento, la producción de raíces laterales y pelos radicales que, a

su vez favorecen la absorción de nutrimentos (De Freitas y Germida, 1992) e incrementa el rendimiento en gramíneas (Taller y Wong, 1989; Bashan *et al.*, 1993)

La utilización de semilla de mediana calidad trae problemas en la germinación e implantación, por lo que se han buscado alternativas para mejorar la tasa y la uniformidad del proceso de germinación. Desde el punto de vista tecnológico la herramienta tradicional consiste en un sistema de pretratamiento osmótico de las semillas como paso previo a la emergencia a la raíz.

El género *Azospirillum* se ha clasificado dentro del grupo de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPB), habiéndose aislado de diferentes especies y cepas de un amplio rango de hábitat y en asociación con numerosas especies vegetales, incluyendo hortalizas cultivables. Se ha propuesto que el principal mecanismo por el cual el *Azospirillum* estimula el crecimiento vegetal es a través de la producción de fitohormonas tales como giberelinas, auxinas y citoquininas, producidas por la bacteria o por la planta en respuesta a la inoculación. En este sentido poco se ha investigado sobre la posibilidad que esta propiedad se manifieste en un estadio fenológico altamente dependiente de la concentración hormonal como lo es la germinación y el crecimiento inicial de plántulas.

Se ha demostrado que la inoculación de semillas con *A. brasilense* mejora el crecimiento y estado hídrico de cereales como trigo y maíz, forrajeras como falaris y grama rhodes, y en las hortalizas como lechuga y zanahoria frente a condiciones de estrés hídrico o salino. En el caso de forrajes y hortalizas se ha observado incrementos en la germinación bajo condiciones de estrés por NaCl.

Desarrollo radicular

Una vez que las células de *Azospirillum* se han adaptado a las condiciones del ambiente rizosférico y han logrado llegar a la superficie de las raíces, debido a sus características químico y aerotácticas, se iniciará el establecimiento de la asociación. Diferentes estudios han mostrado que *A. brasilense* tiene la capacidad para adherirse a las raíces de plantas en gramíneas como el mijo, trigo y maíz, así como a las raíces de plantas de otras familias que incluyen al algodón y tomate (Levanony y Bashan, 1991), e incluso a superficies inertes como poliestireno y arena (Bashan *et al.*, 1991; Bashan *et al.*, 1991; Levanony y Bashan, 1991).

La inoculación de diversas plantas con *Azospirillum* ha mostrado que los principales sitios de colonización son las aéreas de elongación celular y las bases de los pelos radicales (Levanony y Bashan, 1991; Kapulnik *et al.*, 1985). Sólo algunas células de *Azospirillum* llegan a adherirse a la cofia o a los pelos radicales (Kapulnik *et al.*, 1985).

La inoculación de raíces de trigo con una cepa de *Azospirillum* mostró en los primeros días la asociación las células bacterianas colonizan específicamente los sitios de emergencia de las raíces laterales y las regiones de los pelos radicales, tanto de la raíz primaria como de las raíces secundarias y posteriormente la superficie de la raíz (Vande Broek *et al.*, 1993). En plantas de trigo fue observado que la inoculación de *Azospirillum* induce cambios en la morfología de los pelos radicales, siendo éstos cambios significativamente mayores que los causados por *Rhizobium leguminosarum* o *Azotobacter chroococcum*, los cuales son mínimos (Jain y Patriquin, 1984; Kapulnik *et al.*, 1985). Además, fue observado que la inoculación con 10^5 a 10^6 células de *Azospirillum* causa tanto la elongación como el aumento de la superficie total de la raíz, en tanto que la inoculación de 10^8 a 10^9 células causa la inhibición del desarrollo de ésta (Kapulnik *et al.*, 1985).

Aparentemente, el incremento del tamaño del sistema radical se debe, al menos parcialmente, al aumento de la división celular y al intenso

crecimiento de la zona de elongación de las raíces (Levanony *et al.*, 1988). Es de interés señalar que los sitios que coloniza *Azospirillum lipoferum* son diferentes, dependiendo de la variedad de la planta, al menos en el caso del arroz (Murthy y Ladha, 1987). La capacidad de *Azospirillum* para colonizar las raíces de las plantas es variable dependiendo de la cepa.

Okon and Labandera-González (1994) mencionan que la inoculación con *Azospirillum* estimula en el crecimiento de raíces, que aumentarían su longitud, densidad y velocidad de crecimiento. También promueve la producción de auxinas, lo cual incrementa la tasa de crecimiento aéreo y radicular. Esto se ve frecuentemente reflejado en una mayor absorción de agua y nutrientes.

Según Martínez y Hernández (1995) el efecto benéfico de las rizobacterias, radica en diferentes mecanismos por las cuales ellas ejercen su acción, destacándose la producción de sustancias estimuladoras de crecimiento, sideroforos, antibióticos, inducción de resistencia en la planta y fijación del nitrógeno.

Biomasa

Contribuciones al aumento de la biomasa de las plantas, son atribuidas a *Azospirillum* sp, el cual, a través de la asimilación de los nitratos, los que son aportados a partir de los fertilizantes nitrogenados o los presentes en el suelo (Fernández e Ileana Peláez, 1990).

Subbía (1990) Al estudiar la interacción *Azospirillum brasilense* - nitrógeno en el cultivo del tomate, encontró que la biomasa es superior en los tratamientos inoculados.

Martín *et al.*, (2005), en su trabajo de tesis reporta al evaluar cepas del genero *Azospirillum* sp inoculadas en diferentes concentraciones en plántulas de pimiento y plásticos de colores encuentra diferencia

altamente significativa entre tratamientos para la variable peso seco tallo, siendo para este caso la concentración 10^9 bacterias/ml la mejor ya que presenta una media de 0.0244 gr superando al testigo en un 22 por ciento.

Díaz *et al.*, (2001), reporta al evaluar 30 cepas en planta de lechuga y los valores más altos obtenidos en la variable peso seco raíz, correspondieron a 11 cepas que fueron estadísticamente superior al testigo, sobresaliendo la R1B, *Enterobacter cloacae* S2-AS, *B. indica* R2P2B y *P. cepacia* P-26 con peso seco de 0.03 a 0.085 g contra 0.006 g del testigo.

Díaz *et al.*, (2001), en su mismo trabajo reporta que las cepas que estimularon mayor peso fresco de raíz en planta de lechuga fueron las mismas que causaron mayor volumen radical. Dentro de los tratamientos que indujeron mayor peso fresco raíz, puede resaltarse las cepas R1B, *B. indica* R2P2B y S5-BE con valores de 0.8980, 0.6380 y 0.5500 g, respectivamente, contra 0.0500 g del testigo.

El desarrollo de las raíces, se ve favorecido por efecto de la inoculación de las bacterias, y se manifestó directamente en mayor crecimiento de la parte aérea del cultivo (biomasa); las variables agronómicas evaluadas en la parte aérea y en la raíz del cultivo, registraron correlaciones altamente significativas, concuerdan con lo reportado por Pereira *et al.*, (1988) y Kloepper *et al.*, (1991), quienes mencionaron que las bacterias promotoras de crecimiento como *Pseudomonas fluorescens*, se caracterizan por incrementar el desarrollo radical, lo que repercute directamente en el rendimiento del cultivo.

Se ha determinado que en las primeras semanas después de la germinación, el número de pelos radicales aumenta con la inoculación de estos microorganismos que, aunque no provocan un cambio significativo en la masa de las raíces para esta etapa, más tarde si dan lugar a un incremento de la biomasa de las mismas. Este efecto, ha

sido adjudicado a la producción de sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal.

Altura de planta

Medina *et al.*, (1997) en su trabajo de investigación al evaluar la respuesta del cultivo del tomate a la aplicación de biopreparados en concentraciones de 10^7 para *A. brasilenses* y *A. lipoferum* y 10^8 para *A. Chroococcum*, reportaron diferencia significativa entre tratamientos para la altura de planta y la masa fresca al momento del transplante en comparación al testigo sin inocular.

Por su parte Elein Terry (1998), planteó que la estimulación producida en la altura de plantas puede deberse a que entre las hormonas producidas por *Azospirillum* sp, las auxinas juegan un importante papel, dado que su efecto fisiológico está relacionado con el alargamiento y la división celular. En lo referente a la masa fresca, los tratamientos inoculados con rizobacterias tienden a incrementar la biomasa radical (Wani, 1990; Elein Terry, 1998).

Nery Santillana *et al.*, (2005) evaluaron 19 cepas de *Rhizobium* para determinar en el crecimiento de plantas de tomate; lo cual reportan para esta variable no presentó diferencias significativas, de las cuales el 37% de las cepas de rizobios evaluadas (cepas PEVF01, PEVF02, PEVF03, PEVF04, PEVF05, PEVF08 y PEPSM14) estimularon el crecimiento de plantas de *lycopersicon esculentum*.

Adalberto Hernández *et al.*, (2007) evaluaron el efecto de tres Cepas del género *Azospirillum* sp (C3, C5 y C7) a una concentración de 10^9 ufc ml⁻¹, y fertilización química en la productividad del pimiento morrón, reportaron para la variable peso seco tallo diferencias estadísticas ($P < 0.05$) en la primera evaluación destacando la Cepa 5 con 46.84 y 30.49 por ciento más en relación al testigo y fertilizante químico, igual que inocular chile habanero (Canto Martin *et al.*, 2004). Esto se debe a

que *Azospirillum* sp tiene mayor capacidad para colonizar la raíz, fijar nitrógeno y solubilizar minerales (Bloemberg Lugtenberg; Bottini *et al.*, 2004)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización geográfica

La presente investigación se realizó en el invernadero numero dos del departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro que se encuentra situado a 25° 22' latitud norte y 101° latitud oeste a una altura de 1742 msnm (Mendoza, 1993)

Materiales

- Charolas de poliestireno de 200 cavidades
- Sustrato peat moss y perlita
- Regadera
- Regla métrica
- Cajas petri
- Bolsas de papel
- Pipetas
- Cuter
- Estufa de secado (mod. Lindberg/blue. M)
- Balanza analítica

Material vegetativo

Se utilizó semilla de dos variedades de tomate: Rio grande y Floradade inoculadas con la bacteria *Azospirillum* sp.

Material Biológico

Se utilizo bacteria del genero *Azospirillum* sp. en diferentes concentraciones.

Metodología

Preparación de formulado líquido

Se preparó biofertilizante con una cepa de *Azospirillum* sp aislada de raíces de trigo en el campo experimental de Buenavista , Coahuila

desarrollada en medio Nfb y rojo congo, la cepa fue caracterizada previamente y el concentrado líquido se cuantificó por el método de dilución, encontrando 10^9 ufc ml⁻¹.

Inoculación a semillas

La emulsión líquida concentrada se diluyó, obteniendo concentración de 10^9 ufc ml⁻¹ y se utilizó como testigo agua destilada. Se aplicaron 1 ml de cepa *Azospirillum* sp en 100 ml de agua destilada, luego se aplicó 1 ml de cada dilución en 200 semillas para cada tratamiento, se dejó reposar por 24 hr.

Sustrato

Se preparó una mezcla homogénea con 50% de peat moss y 50% de perlita, posteriormente se humedeció hasta capacidad de campo y después se realizó la siembra

Siembra en charolas

Se sembró una semilla por orificio en las charolas de poliestireno de 200 cavidades. Se colocaron 200 semillas inoculadas a concentración de 10^9 ufc ml⁻¹ de *Azospirillum* sp, en un total de cinco charolas, cada charola se dividió en tres partes iguales que se constituyeron en las repeticiones.

Tratamientos evaluados:

Cuadro 1. Distribución de combinaciones de las cepas de *Azospirillum* sp con las dos variedades de tomate var. Rio grande y Floradade

Tratamientos	Cepa
T1	Cepa 3
T2	Cepa 5
T3	Cepa 7
T4	Mezcla de cepa 3 y 5
T4	Mezcla de cepa 3 y 7
T6	Mezcla de cepa 5 y 7
T7	Mezcla de cepa 3, 5 y 7

Muestreos

La siembra se realizó el día 1 de octubre del 2008 de las variedades Rio grande y Floradade. En el experimento se hicieron 3 evaluaciones; la primera se hizo a los 15 días, cuando había un 90% de plantas germinadas de ambas variedades y se aplicó biofertilizante después de haber sacado plantas; 7 días después se hizo la segunda evaluación y se aplicó nuevamente biofertilizante y luego a los 7 días después de la segunda evaluación se sacaron plantas para la tercera evaluación.

Variables Evaluadas**Peso fresco tallo y raíz**

Dicha evaluación se realizó a los 15, 22 y 29 días después de la siembra, se extrajo tres plantas. Se separaron raíces y tallos, luego se pesaron por separado; previo al pesado de las raíces a esta se eliminaron todas las impurezas dejándolas libres de sustrato. En esta evaluación se constituyó en dos nuevas variables: peso fresco de tallo y peso fresco de raíz.

Peso seco tallo y raíz

Después de realizar la evaluación de peso fresco, se colocaron las muestras de tallo y raíces en una estufa de secado a 70 °C durante 7 días y posteriormente se realizó el pesado de cada uno de las muestras de los diferentes tratamientos, constituyéndose en dos variables: peso seco tallo y peso seco raíz.

Longitud de raíz

En cada evaluación se extrajo tres plantas completa la cual se limpió eliminando todo el sustrato posible sin dañar la raíz; se evaluó 3 veces

consecutivas midiendo con una regla métrica desde la base hasta el ápice de la raíz más larga.

Longitud de tallo

Se midió desde la base del tallo hasta la parte más alta de la misma con la ayuda de una regla métrica. Para ello, se midió la altura de diez plantas representativas por cada repetición en los ocho tratamientos.

Diseño experimental

Se estableció bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial, que resultaron de combinar 2 niveles del Factor A (variedades de tomate: Rio grande y Floradade), con 8 niveles del Factor B (cepas solas y combinadas a la 10^9 ufc ml⁻¹ y un testigo absoluto), con tres repeticiones para cada tratamiento.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

Peso fresco de tallo

De acuerdo con los resultados obtenidos en el análisis de varianza (ANVA) presentado en el Cuadro 2, se encontraron diferencias altamente significativas entre tratamientos y variedades (Factor A) en los 3 muestreos. En cambio en el Factor B (cepas solas y combinadas) en el primer muestreo no hubo diferencias, pero en el segundo muestreo existe diferencias al $P < 0.05$ y en el tercer muestreo al $P < 0.01$. En la interacción entre los factores, en el muestreo 1 y 3 no efecto conjunto, en cambio en el segundo muestreo existe diferencias al $P < 0.05$.

Cuadro 2. Cuadrados medios de peso fresco de tallo en dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.

Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrados 1	Medios 2	3
Tratamiento	15	0.013**	0.028**	0.143**
A	1	0.170**	0.308**	0.461**
B	7	0.001NS	0.008*	0.178**
A*B	7	0.001NS	0.009*	0.063NS
Error	32	1.266	0.003	0.037
C.V. (%)		23.47	25.034	23.675**

** Altamente significativo, * significativo, NS= no significativo, C.V. = Coeficiente de Variación

Dado que se encontraron diferencias altamente significativas en la variable peso fresco de tallo, se realizó la prueba de Tukey (0.05) en los tres muestreos (Cuadro 2.1). En el primer muestreo encontramos que todos los tratamientos se comportaron iguales, siendo así el mejor numéricamente el tratamiento 1 (cepa 3) que presentó el mayor peso fresco de tallo, con una media de 0.170 superando al testigo en un 13 por ciento. Sin embargo en el segundo y tercer muestreo existe diferencias entre los tratamientos; el mejor tratamiento fue el 4 (mezcla 3 y 5), presentando una media de 0.288 y 1.073; superando al testigo en 39 y 28 por ciento ya que este presentó una media de 0.175 y 0.777 respectivamente. Lo anterior coincide con Nicolás *et al.*, (1997) en su

trabajo de investigación al evaluar la respuesta del cultivo del tomate a la aplicación de biopreparados en concentraciones de 10^7 para *A. brasilenses* y *A. lipoferum* y 10^8 para *A. chroococcum*, reportaron diferencias significativas entre tratamientos para la altura de planta y la masa fresca al momento del trasplante en comparación al testigo sin inocular.

Cuadro 2.1. Comparación de medias del Factor A y B en la variable peso fresco tallo en dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.

FACTOR B	FACTOR A		
	VARIEDADES		
Tratamiento	1	2	3
Cepa 3	0.170 A	0.217 AB	0.589 B
Cepa 5	0.140 A	0.235 AB	1.021 A
Cepa 7	0.123 A	0.236 AB	0.877 AB
Mezcla 3 y 5	0.167 A	0.288 A	1.073 A
Mezcla 3 y 7	0.130 A	0.199 AB	0.739 AB
Mezcla 5 y 7	0.150 A	0.257 AB	0.624 AB
Mezcla 3, 5 y 7	0.153 A	0.263 AB	0.811 AB
Testigo	0.149 A	0.175 B	0.777 AB

Misma letra en columna, no demuestran diferencia significativa (Tukey, 0.05)

En el Cuadro 2.2, se muestra la comparación de medias para las dos variedades de tomate, se encontró que la mejor variedad a la inoculación a la bacteria fue la variedad Rio grande en los tres muestreos reportando una media de 0.208, 0.314 y 0.912 gr superando a la variedad Floradade en un 57, 51 y 22 por ciento, ya que presento una media de 0.089, 0.153 y 0.716 respectivamente.

Cuadro 2.2. Comparación de medias en la variable peso fresco tallo de dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.

Variedad	1	2	3
Rio grande	0.208 A	0.314 A	0.912 A
Floradade	0.089 B	0.153 B	0.716 B

Misma letra en columna, no demuestran diferencia significativa (Tukey, 0.05)

Peso seco tallo

Los resultados obtenidos en el ANVA para la variable peso seco tallo, muestran que hubo las diferencias en los tres muestreos, donde los cuadrados medios para tratamientos indican diferencias altamente significativas. En el Factor A (variedades), se obtuvo diferencia al $P < 0.01$ en el primero y segundo muestreo y en el tercer muestreo diferencias al $P < 0.05$. En cuanto a las cepas (Factor B), se reporta en el segundo y tercer muestreo existe diferencias altamente significativas, sin embargo en el primer muestreo no hubo diferencias. Además no hubo interacción A x B como se observa en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Cuadrados medios de peso seco de tallo en dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.

Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrados	Medios		
		1	2	3	
Tratamiento	15	0.00007**	0.00076**	0.00271**	
A	1	0.00101**	0.00245**	0.00438*	
B	7	0.00001NS	0.00104 **	0.00428**	
A*B	7	0.00001NS	0.00023NS	0.00098NS	
Error	32	0.00001	0.00019	0.00084	
C.V. (%)		26.593	22.336	25.262	

**= Altamente significativo, * significativo, NS= no significativo, C.V. = Coeficiente de Variación

Dado que se encontró diferencias altamente significativas en peso seco tallo, se corrió la prueba DMS a los valores medios de los tres muestreos (Cuadro 3.1), encontramos nuevamente el tratamiento 4 (mezcla 3 y 5) presentó mayor peso seco de tallo en el segundo y tercer muestreo, con una media de 0.084 y 0.156; superando al testigo en un 23 por ciento en ambos muestreo ya que este presentó 0.064 y 0.118 gr. Sin embargo en el primer muestreo no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, pero numéricamente el mejor fue el tratamiento 1 (cepa 3). Los resultados obtenidos en este trabajo coinciden con lo reportado por Martín *et al.*, (2007), al evaluar cepas del genero *Azospirillum* sp en cultivo de pimiento, reporta que cepas a concentración de 10^9 bacterias/ml se obtiene mayor peso seco tallo en un 22 por ciento mas que el testigo. Al igual que Adalberto Hdez. *et al.*,

(2007), reportaron para el peso seco tallo diferencia estadística ($P < 0.05$) en la primera evaluación destacando la Cepa 5 a una concentración 10^9 ufc ml^{-1} con 46.84 y 30.49 por ciento más en relación al testigo y fertilizante químico, igual que inocular chile habanero (Canto Martin *et al.*, 2004). Esto se debe a que *Azospirillum* sp tiene mayor capacidad para colonizar la raíz, fijar nitrógeno y solubilizar minerales (Bloemberg Lugtenberg; Bottini *et al.*, 2004)

Cuadro 3.1. Comparación de medias del Factor A y B en la variable peso seco tallo en dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.

FACTOR B	FACTOR A		
	VARIEDADES		
Tratamiento	1	2	3
Cepa 3	0.013 A	0.045 C	0.078 C
Cepa 5	0.010 A	0.078 AB	0.146 AB
Cepa 7	0.009 A	0.064 ABC	0.118 ABC
Mezcla 3 y 5	0.011 A	0.084 A	0.156 A
Mezcla 3 y 7	0.009 A	0.054 BC	0.099 BC
Mezcla 5 y 7	0.011 A	0.050 C	0.090 C
Mezcla 3, 5 y 7	0.011 A	0.062 ABC	0.113 ABC
Testigo	0.009 A	0.064 ABC	0.118 ABC

Misma letra en columna, no demuestran diferencia significativa (Tukey, 0.05)

El Cuadro 3.2 describe los resultados de la comparación de medias (DMS) de los tres muestreos, como respuesta a la inoculación a las bacterias de las dos variedades de tomate encontramos que el mejor en esta variable de peso seco tallo es la variedad Rio grande en ambos muestreos en un 60, 22 y 18 por ciento.

Cuadro 3.2. Comparación de medias en la variable peso seco tallo de dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.

Variedad	1	2	3
Rio grande	0.015 A	0.070 A	0.124 A
Floradade	0.006 B	0.055 B	0.105 B

Misma letra en columna, no demuestran diferencia significativa (Tukey, 0.05)

Peso fresco raíz

El análisis de varianza presentado en el Cuadro 4, muestra que existen diferencias altamente significativas para tratamiento y el Factor A (variedades), indicando que por lo menos un tratamiento tuvo un efecto diferente al resto para esta variable de peso fresco raíz en los tres muestreos realizados. En el factor B se puede apreciar en el tercer muestreo diferencias al $P < 0.05$, en cambio en el segundo y primer muestreo no existe diferencias significativas, así como no hubo interacción A x B.

Cuadro 4. Cuadrados medios de peso fresco de raíz en dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN. 2008.

Fuente de Variación	Grados de libertad	CUADRADOS MEDIOS		
		1	2	3
Tratamiento	15	0.0007**	0.0009**	0.0894**
A	1	0.0087**	0.0069**	1.0357**
B	7	0.0006NS	0.0004NS	0.0313*
A*B	7	0.0006NS	0.0001NS	0.0124NS
Error	32	0.0001	0.0003	0.0113
C.V. (%)		39.518	55.296	29.263

**= Altamente significativo, * significativo, NS= no significativo, C.V. = Coeficiente de Variación

En el Cuadro 4.1, se muestra la comparación de medias (DMS) de los resultados obtenidos de la variable peso fresco raíz se encontró que en el primero y segundo muestreo los tratamientos (cepas solas y combinadas) y el testigo son estadísticamente iguales, aunque numéricamente en el primero y segundo muestreo fue el tratamiento 7 (mezcla 3, 5 y 7) y 1 (cepa 3) superando al testigo en un 33 y 59 por ciento, ya que este presentó una media de 0.023 y 0.016 gr. En cambio en el tercer muestreo encontramos que la Cepa (mezcla 3 y 5) fue estadísticamente superior al resto de los tratamientos ya que presenta una media de 0.421 gr en comparación al testigo que cuenta con una media de 0.252 gr, superándolo en un 46 por ciento.

Díaz *et al.*, (2001), encontraron un incremento en peso fresco de raíz al inocular con *Pseudomonas* y *Beijerinck* a concentraciones de 10^9 ufc/ml¹ en planta de lechuga, esto concuerda con los resultados obtenidos en este trabajo donde el mayor peso fresco de raíz se obtuvo al inocular a las semillas con la de mezcla de las cepas a esa misma concentración. Por su parte Elein Terry (1998), encontro que entre las hormonas producidas por *Azospirillum* sp, juegan un importante papel, dado que su efecto fisiológico esta relacionado con el alargamiento y la división celular. En lo referente a la masa fresca, los tratamientos inoculados con rizobacterias tienden a incrementar la biomasa radical (Wani, 1990; Elein Terry, 1998).

Cuadro 4.1. Comparación de medias del Factor A y B en la variable peso fresco raíz en dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.

FACTOR B	FACTOR A		
	VARIEDADES		
Tratamiento	1	2	3
Cepa 3	0.022 A	0.039 A	0.335 AB
Cepa 5	0.018 A	0.035 A	0.368 AB
Cepa 7	0.019 A	0.024 A	0.421 AB
Mezcla 3 y 5	0.026 A	0.032 A	0.463 A
Mezcla 3 y 7	0.020 A	0.020 A	0.280 AB
Mezcla 5 y 7	0.025 A	0.038 A	0.370 AB
Mezcla 3, 5 y 7	0.034 A	0.030 A	0.419 AB
Testigo	0.023 A	0.016 A	0.252 B

Misma letra en columna, no demuestran diferencia significativa (Tukey, 0.05)

En el Cuadro 4.2 se da la comparación de medias de ambas variedades de tomate como respuesta a la inoculación de las cepas, en este caso nuevamente encontramos que la variedad Rio Grande es el que mayor peso fresco de raíz presenta, siendo el tercer muestreo el de mayor peso fresco con una media de 0.510 gr superando a la variedad Floradade en un 58 por ciento ya que presento una media de 0.217 gr.

Cuadro 4.2. Comparación de medias en la variable peso fresco raíz de dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.

Variedad	1	2	3
Rio grande	0.037 A	0.041 A	0.510 A
Floradade	0.010 B	0.017 B	0.217 B

Misma letra en columna, no demuestran diferencia significativa (Tukey, 0.05)

Peso seco raíz

Los cuadrados medios del análisis de varianza (ANVA) muestran las diferencias que hay en los muestreos que a continuación se describen, donde los tratamientos al igual que el Factor A (variedades) presento diferencias al $P < 0.01$ en los tres muestreos. En el Factor B (cepas) encontramos que el segundo y tercer muestreo existe diferencia al $P < 0.05$ así como en el primer muestreo de la interacción si hubo efecto conjunto, sin embargo, en el segundo y tercero no hubo diferencias significativas como se observa en el cuadro 5.

Cuadro 5. Cuadrados medios de peso seco de raíz en dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la U.A.A.A.N. 2008.

Fuente de Variación	Grados de libertad	CUADRADOS MEDIOS		
		1	2	3
Tratamiento	15	0.000005**	0.000302**	0.001101**
A	1	0.000043**	0.003579**	0.012786**
B	7	0.000002NS	0.000084**	0.000337*
A*B	7	0.000002*	0.000051NS	0.000196NS
Error	32	0.000001	0.000038	0.000152
C.V. (%)		55.825	28.462	29.647

**= Altamente significativo, * significativo, NS= no significativo, C.V. = Coeficiente de Variación

En el siguiente Cuadro (5.1) se describe la comparación de medias (DMS) realizada para la variable peso seco raíz, encontrando que los diferentes tratamientos son estadísticamente iguales, aunque numéricamente los mejores tratamientos para esta variable son el T4 (mezcla 3 y 5) y T7 (mezcla 3,5 y 7) en el muestreo dos y tres superando al testigo en un 30 por ciento, ya que en el primer muestreo los tratamientos se comportaron iguales numéricamente, excepto el tratamiento 3 (cepa 7). Díaz *et al.*, (2007) quien al evaluar 30 cepas

en la variable peso seco raíz encontró que 11 fueron estadísticamente superiores con un peso de 0.03 a 0.085 g contra 0.006 g del testigo, estos resultados son similares a lo reportado en este trabajo únicamente que aquí no hubo diferencia significativa, sin embargo, los tratamientos son superiores numéricamente en comparación al testigo. Estos resultados concuerdan con los reportados por Pereira *et al.*, (1988) y Kloepper *et al.*, (1991, quienes mencionan que las bacterias promotoras de crecimiento vegetal como *P. flourescens*, se caracterizan por incrementar el desarrollo radical, lo que repercute directamente en el rendimiento del cultivo.

En la comparación de medias de las dos variedades utilizadas en este trabajo se puede mencionar que la variedad Rio grande es la que mejor respuesta da a la inoculación a las diferentes cepas en cuanto a mayor peso seco de raíz en los tres muestreos, ya que el 60 por ciento más que la variedad Floradade, (Cuadro 5.2)

Cuadro 5.1. Comparación de medias del Factor A y B en la variable peso seco raíz en dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.

FACTOR B	FACTOR A		
	VARIEDADES		
Tratamiento	1	2	3
Cepa 3	0.002 A	0.019 A	0.036 A
Cepa 5	0.002 A	0.022 A	0.043 A
Cepa 7	0.001 A	0.022 A	0.043 A
Mezcla 3 y 5	0.002 A	0.027 A	0.052 A
Mezcla 3 y 7	0.002 A	0.018 A	0.034 A
Mezcla 5 y 7	0.002 A	0.018 A	0.035 A
Mezcla 3, 5 y 7	0.002 A	0.027 A	0.053 A
Testigo	0.002 A	0.019 A	0.037 A

Misma letra en columna, no demuestran diferencia significativa (Tukey, 0.05)

Cuadro 5.2. Comparación de medias en la variable peso seco raíz de dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.

Variedad	1	2	3
Rio grande	0.003 A	0.030 A	0.058 A
Floradade	0.001 B	0.013 B	0.025 B

Misma letra en columna, no demuestran diferencia significativa (Tukey, 0.05)

Longitud de tallo

El análisis de varianza (ANVA) para esta variable muestra diferencias altamente significativas tanto para tratamientos, Factor A, Factor B, encontrando efecto conjunto entre A y B, para estos dos últimos, únicamente en el segundo y tercer muestreo, ya que en el primero no existen diferencias como se observa en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Cuadrados medios de longitud de tallo en dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la U.A.A.A.N, 2008.

Fuente de Variación	Grados de libertad	CUADRADOS MEDIOS		
		1	2	3
Tratamiento	15	0.957**	3.805**	75.529**
A	1	11.310**	19.635**	961.230**
B	7	0.078NS	2.861**	13.041**
A*B	7	0.357NS	2.488**	11.488**
Error	32	0.320	0.533	1.266
C.V. (%)		13.484	15.869	11.280

**= Altamente significativo, * significativo, NS= no significativo, C.V. = Coeficiente de Variación

En el Cuadro 6.1 se muestra la comparación de medias de la variable longitud de tallo de los tres muestreos realizados, lo cual se indica que en el primero y segundo no hubo diferencias entre los tratamientos, según los resultados obtenidos en el primer muestreo el testigo supera a los de más tratamientos ya que arroja una media de 4.400 cm superando en un dos por ciento al segundo mejor tratamiento T2 (Cepa 5) con una media de 4.300 cm, caso contrario para el segundo muestreo tenemos que el mejor tratamiento es el T2 (Cepa 5) con una media de 5.400 cm superior al testigo en un 40 por ciento y en el tercer muestreo si existen diferencias entre tratamiento, observamos que el mejor para esta variable fue el tratamiento T7 (mezcla de cepas 3, 5 y 7) con una media de 11.083 cm superando al testigo en un 41 por ciento, presentando una media de 6.550 cm. los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por Nery Santillana et al., (2005) al evaluar 19 cepas de *Rhizobium* para en el crecimiento de plantas en tomate; lo

cual reportan para esta variable no presentó diferencias significativas, de las cuales 7 de las cepas de rizobios evaluadas (cepas PEVF01, PEVF02, PEVF03, PEVF04, PEVF05, PEVF08 y PEPSM14) estimularon el crecimiento de la misma.

Cuadro 6.1. Comparación de medias del Factor A y B en la variable longitud tallo en dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.

FACTOR B	FACTOR A		
	VARIEDADES		
Tratamiento	1	2	3
Cepa 3	4.183 A	4.733 A	10.217 A
Cepa 5	4.300 A	5.400 A	10.950 A
Cepa 7	4.183 A	5.133 A	10.450 A
Mezcla 3 y 5	4.233 A	4.717 A	10.950 A
Mezcla 3 y 7	4.117 A	4.900 A	9.867 A
Mezcla 5 y 7	4.133 A	5.150 A	9.733 A
Mezcla 3, 5 y 7	4.033 A	5.267 A	11.083 A
Testigo	4.400 A	3.217 A	6.550 B

Misma letra en columna, no demuestran diferencia significativa (Tukey, 0.05)

A continuación se presenta el siguiente cuadro, lo cual indica la comparación de medias de las dos variedades utilizadas y se puede mencionar que la variedad Rio grande es la que mejor respuesta da a la inoculación de las diferentes cepas en cuanto a mayor longitud de tallo en los tres muestreos, ya que es representa el 35 por ciento más que la variedad Floradade, (Cuadro 6.2)

Cuadro 6.2. Comparación de medias en la variable longitud de tallo de dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.

Variedad	1	2	3
Rio grande	4.683 A	5.454 A	14.450 A
Floradade	3.712 B	4.175 B	5.500 B

Misma letra en columna, no demuestran diferencia significativa (Tukey, 0.05)

Longitud de raíz

El ANVA aplicado a la variable longitud de raíz presentó diferencias altamente significativa para tratamiento en el primero y tercer muestreo,

así como para el Factor A, B e interacción en el segundo, tercer y primer muestreo respectivamente, sin embargo en los otros muestreos existen diferencias al $P < 0.05$ de ambos factores; únicamente podemos observar que no hubo efecto conjunto en la interacción A x B en el segundo y tercer muestreo (Cuadro 7).

Cuadro 7. Cuadrados medios de longitud de raíz en dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.

Fuente de Variación	Grados de libertad	CUADRADOS MEDIOS		
		1	2	3
Tratamiento	15	1.652**	2.168*	35.396**
A	1	2.660*	6.527**	59.853*
B	7	1.363*	2.214*	49.739**
A*B	7	1.793**	1.500NS	17.558NS
Error	3	0.515	0.994	13.321
C.V. (%)		24.309	25.856	35.782

**= Altamente significativo, * significativo, NS= no significativo, C.V. = Coeficiente de Variación

En el Cuadro 7.1 se muestra la comparación de medias de la variable longitud de raíz se aprecia que en el primer muestreo existen diferencias significativas, esto indica que la longitud de raíz fue afectado por al menos uno de los tratamientos en este caso en el primer muestreo tenemos que el mejor es el T7 (mezcla 3, 5 y 7) indicando una media de 3.967 cm superando al testigo en un 30 por ciento, ya que presenta una media de 2.800 cm. en el segundo muestreo observamos que no hubo diferencia entre tratamientos, siendo el mejor numéricamente el testigo con un media de 4.850 cm, superando a los de mas tratamientos incluso al T4 y T7 que son los de mejor respuesta en otras variables. Sin embargo para el tercer muestreo se observa que el tratamiento T7 (mezcla 3, 5 y 7) es el de mejor respuesta con una media de 16.600 superando al T4 (mezcla 3 y 5) y el testigo en un 50 por ciento ya que reportan una media de 11.950 y 8.317 cm. lo anteriormente señalado coincide con los reportes de Okon y Labandera-González (1994) quienes mencionan que la

inoculación con *Azospirillum* sp estimula el crecimiento de raíces, que aumentaría su longitud, densidad y velocidad de crecimiento.

Cuadro 7.1. Comparación de medias del Factor A y B en la variable longitud de raíz en dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.

FACTOR B	FACTOR A		
	VARIEDADES		
Tratamiento	1	2	3
Cepa 3	2.483 B	4.067 A	8.417 B
Cepa 5	2.433 B	3.583 A	9.150 B
Cepa 7	3.083 AB	3.117 A	9.283 B
Mezcla 3 y 5	2.933 AB	4.100 A	11.950 AB
Mezcla 3 y 7	2.833 AB	3.050 A	9.983 AB
Mezcla 5 y 7	3.083 AB	4.317 A	7.900 B
Mezcla 3, 5 y 7	3.967 A	3.767 A	16.600 A
Testigo	2.800 AB	4.850 A	8.317 B

Misma letra en columna, no demuestran diferencia significativa (Tukey, 0.05)

A continuación se presenta el siguiente cuadro indicando la comparación de medias de las dos variedades utilizadas y se puede mencionar que la variedad Rio grande es la que mejor respuesta da a la inoculación de las diferentes cepas en cuanto a mayor longitud de raíz de los tres muestreos realizados, ya que es representa el 20 por ciento más que la variedad Floradade, (Cuadro 7.2)

Cuadro 7.2. Comparación de medias en la variable longitud de raíz de dos var. de tomate inoculadas con *Azospirillum* sp en tres muestreos desarrollado bajo invernadero en la UAAAN, 2008.

Variedad	1	2	3
Rio grande	3.187 A	4.225 A	11.317 A
Floradade	2.717 B	3.487 B	9.083 B

Misma letra en columna, no demuestran diferencia significativa (Tukey, 0.05)

V. CONCLUSIÓN

- 1.- La mezcla de Cepas 3 y 5 de *Azospirillum* sp a concentración de 10^9 ufc/ml⁻¹ incremento la biomasa de plántula de tomate en las variedades Rio Grande y Floradade.
- 2.- La mezcla de Cepas 3, 5 y 7 incrementó la longitud de tallo y raíz en las dos variedades de tomate.

RESUMEN

Esta investigación se realizó en invernadero número de dos del departamento de fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Dicho trabajo se hizo con el objetivo de evaluar la producción de Biomasa de dos variedades de tomate (Rio grande y Floradade) inoculadas con tres cepas de *Azospirillum* sp bajo condiciones de invernadero en donde fueron colocadas cinco charolas de 200 cavidades, cuatro de ellas contenían semillas tratadas con *Azospirillum* sp a una concentración de 10^9 ufc ml⁻¹ y la quinta charola el testigo sin inocular. Después de germinada la semilla se realizaron tres evaluaciones, el primer muestreo se realizó cuando había un 90% de plántulas. Las variables que se midieron fueron: Peso fresco (tallo y raíz), Peso seco (tallo y raíz), Longitud de tallo y raíz. El análisis estadístico fue un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial, con dos variedades de tomate (A) y 7 tratamientos (cepas solas y combinadas) y un testigo (B). En análisis de Peso fresco y seco de tallo y raíz se encontró que la mezcla de Cepa 3 y 5 (T4) generó el mayor peso y el mayor crecimiento en cuanto a la variable longitud de tallo y raíz, se obtuvo con el tratamiento 7 (mezcla de Cepas 3, 5 y 7) ya que representa el 45 por ciento más que el testigo. En general se puede concluir que las diferentes cepas de *Azospirillum* sp utilizadas en esta investigación tuvieron un efecto positivo en ambas variedades de tomate ya que superan al testigo en todas las variables evaluadas, impactando en la variedad Rio grande.

VI. LITERATURA CITADA

Anuario estadístico de la producción agrícola de los estados unidos mexicanos. Servicio de información y estadística agroalimentaria y pesquera (sagarpa).2003.pp 688

Álvarez, R. 1983. Presencia de *A. lipoferum* y *A. brasilense* en la rizosfera de algunas plantas cultivadas y silvestres. Rev. Facultad de Agronomía. 4(3): 271-276. UNAM. México.

Bashan, Y., H. Levanony, and R. E. Whitmoyer. 1991. Root surface colonization of non-cereal crop plants by pleomorphic *Azospirillum brasilense* Cd. J. Gen. Microbiol. 137:187-196.

Bashan, Y., G. Mitiku, R. E. Whitmoyer, and H. Levanony. 1991. Evidence that fibrillar anchoring is essential for *Azospirillum brasilense* Cd attachment to sand. Plant Soil 132:73-83.

Bashan, Y., M. E. Puente, M. Rodríguez- Mendoza, G. Toledo, G. Holguin, R. Ferrera- Cerrato, and S. Pedrin. 1995. Survival of *Azospirillum brasilense* in the bula soil and rhizosphere of 23 soil types. Appl. Environ. Microbiol. 61:1938-1945.

Bastarrachea, F., M. Zamudio, and R. Rivas. 1987. Non-encapsulated mutants of *Azospirillum brasilense* and *Azospirillum lipoferum*. Can. J. Microbiol. 34: 24-29.

Bergey's Manual. 1984 Bacteriología sistemática. Ed. I, Vol. I sección 2. Instituto nacional de ciencias agrícolas. artículo científico.

Caballero-Mellado, J., and Valdés.1983.Incidencia de *Azospirillum* en algunas gramíneas del trópico subhúmedo calido de Mexico.Turrialba33:83-88.35

Chanway, C.P., R.K. Hynes y L.M. Nelson. 1989. Plant growthpromoting rhizobacteria: Effects on growth and nitrogen fixation of lentil (*Lens esculenta* Moench.) and pea (*Pisum sativum* L.). Soil Biol. Biochem. 21: 511-517.

Curl, E. A. Y B. Truelove. 1986. The rizosphere. Springer-ver lag- new york.

De Coninck, K., S. Horemans, S. Randoz, and K. Vlassak. 1988. Occurrence and survival of *Azospirillum* spp. in temperate regions. Plant Soil 110:213-218.

De Freitas, J.R. y J.J. Germida. 1992 Growth promotion of winter wheat by *Pseudomonas fluorescens* under growth chamber conditions. Soil Biol. Biochem. 24:1127-1135.

Díaz, V. P., Ferrera- Cerrato, R., Almaraz- Suárez, J.J. y Alcanzar G. G. 2001 Inoculación de bacterias de crecimiento en lechuga. *Terra* 19:327-335.

Döbereiner, J., I. E. Marriel, and M. Nery. 1976. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. *Can. J. Microbiol.* 22:1464-1473.

Döbereiner, J. 1983. Ten years *Azospirillum*, p. 9-23. En W. Klingmüller (ed.), *Azospirillum* II: Genetics, physiology, and ecology. Birkhauser, Basel Switzerland. (Experientia supplementum, 48).

Fernandez, A., Pelaez, I. Evaluacion de plantas de *Zea mays* inoculadas con *Azospirillum* I. Actividad de la nitrato reductasa y contenido de proteínas solubles en las hojas. *Ciencias en la agricultura.* 39, 1990.

Hernandez, A. et al. Nueva versión de clasificación de los suelos de Cuba. 1995

Hernandez, A. N. Selección de Rizobacterias para la biofertilización en el cultivo del maíz. Tesis de Maestría. La Habana. 4-18, 1996.

Terry, E. Efectividad agronomicacde biofertilizantes en el cultivo del tomate. Tesis presentada en opción al título académico de Maester en Ciencias Agrarias. ISCH. 1998

Hartmann, A., M. Stoffels, B. Eckert, G. Kirchhof, and M. Schloter. 2000. Analysis of the presence and diversity of diazotrophic endophytes, p. 727-. *En* E. W. Triplett (ed.), *Prokaryotic nitrogen fixation: a model system for analysis of a biological process.* Horizon Scientific Press, Wymondham, UK.

Jain, D.K., and Patriquin. 1984. Root hair deformation, bacterial attachment, and plant growth in wheat-*Azospirillum* associations. *Appl. Environ. Microbiol.* 48:1208-1213.

Kapulnik, Y., M. Feldman, Y. Okon, and Y. Henis. 1985. Contribution of nitrogen fixed by *Azospirillum* to the N nutrition of spring wheat in Israel. *Soil Biol. Biochem.* 17:509-515.

Kloepper, J.W., R.M. Zablotowicz, E.M. Tippig y R. Lisfshitz. 1991. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizer. pp. 315-326. In : D.L. Keister y P.B. Cregan (eds.). *The rhizosphere and plant growth.* Kluwer. Dordrecht, The Netherlands.

Levanony, H., and Y. Bashan. 1991. Active attachment of *Azospirillum brasilense* to root surface of non-cereal plants and to sand particles. *Plant Soil* 137:91-97.

Levanony, H., and Y. Bashan. 1988. Enhancement of cell division in wheat root tips and growth of root elongation zone induced by *Azospirillum brasilense*, *Azospirillum* Cd. Can. J. Bot. 67:2213-2216.

Li, C.Y., and M.A. Castellano. 1987. *Azospirillum* isolated from within sporocarssp of the mycorrhizal fungi Hebeloma crustuliniforme, Laccaria laccata, and Rhizopogon vinicolor. Trans. Br. Mycol. Soc. 88:563-565

López-Reyes, L., L. Soto-Urzúa, M. A. Mascarúa-Esparza, I. Herrera-Camacho, and J. Caballero-Mellado. 1989. Antibiotic resistance and blactamase activity in *Azospirillum*. Soil Biol. Biochem. 21:651-655.

Martinez, R., Hdez. G. Los biofertilizantes en la agricultura cubana. Conferencias y mesas redondas. La Habana. 43-47, 1995

Medina, B. Nicolas et al. Efecto de la biofertilizacion con bacterias rizofericas en el cultivo del tomate. Instituto nacional de ciencias agrícolas. articulo científico, 1996-1997.

Murthy, M.G., and J.K. Ladha. 1987. Differential colonization of *Azospirillum lipoferum* on roots of two varieties of rice (*Oryza sativa* L.). Biol. Fertil. Solis 4:3-7.

Okon and C. Labandera-Gonzalez. 1994. Agronomic applications of *Azospirillum*: An evaluation of 20 years worldwide field inoculation. Soil Biol. Biochem. Vol 26 (12):1591-1601

Pereira, J.A.R., V.A. Cavalcante, J.I. Baldani y J. Dobereiner. 1988. Sorghum and rice inoculation with *Azospirillum* sp. y *Herbaspirillum seropedicae* in field. Plant Soil 110: 269-274.

Rodríguez, C.E.A. 1981. Nuevo medio para aislar *Azospirillum* SP. 1a Reunión. Nacional sobre fijación Biológica de Nitrógeno. Argentina

Rodriguez-Caceres, E. 1982. Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp. Appl. Environ. Microbiol. 44:990-991.

Sly, L. I., and E. Stackebrandt. 1999. Description of *Skermanella parooensis* gen. nov., sp. nov. to accommodate *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *parooensis* following the transfer of *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *largomobilis* to the genus *Azospirillum*. Int. J. Syst. Bacteriol. 49:541-544.

Santillana, N. et al. Capacidad del *Rhizobium* de promover el crecimiento en planta de tomate. Ecol. Apl. Vol. 4 N° 1 y 2, pp 47-51.

Soto, M. Martin et al. Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp y plásticos de colores en plántulas de pimiento. Tesis de licenciatura. UAAAN. pp. 41.

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

Sundaram, S.,A.Arunkumari, and R.V. Klucas. 1988. Characterization of *Azospirilla* isolated from seed and roots of turf grass.Can.J. Microbiol. 34:212-217.

Taller, G.J. y T. Wong 1989. cytokinins in *Azobacter vinelandi* culture medium. Appl Environ. Microbiol. S: 266-267.

Tarrand,J.J.,N.R.Krieg.and J.Dúbereiner.1978.A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group,with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen.nov.and two species. *Azospirillum brasilense* sp. Nov.Can.J.Microbiol.24: 967-980.

Vande Brock,A.,J.Mchiels.A.Van Gool,and J.Vanderleyden.1993.Spatialtemporal colonization patterns of *Azospirillum brasilense* on the wheat root surface and expression of the bacterial nifH gene during association.Mol.Plant-Microbe Interact.6:592-600.

Wani, S. P. Inoculation with associative nitrogen-fixing bacteria: Role in cereal grain production in provement. Indian Jour. Of Microbiology. 30: 363, 1990.

Wong, P.P., and N.E.Stenberg.1979.Characterization of *Azospirillum* isolated from nitrogen-fixing roots of harvested sorghum plants.Appl.Environ.Microbiol.38:1189-1191.