

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA



Influencia de *Azospirillum sp* Y *Rhizophagus intraradices* Sobre los Caracteres  
Morfológicos y Bioquímicos del Tomate (*Solanum lycopersicum* L.)

Por

**FIDENCIO BERNARDO ALCOCER HERRERA**

TESIS

Presentada como requisito parcial para  
Obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

Saltillo, Coahuila, México

Agosto, 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Influencia de *Azospirillum sp* y *Rhizophagus intraradices* Sobre los Caracteres  
Morfológicos y Bioquímicos del Tomate  
(*Solanumlycopersicum*L.)

Por

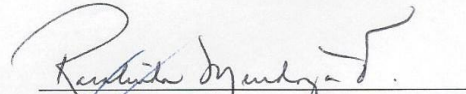
**FIDENCIO BERNARDO ALCOCER HERRERA**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

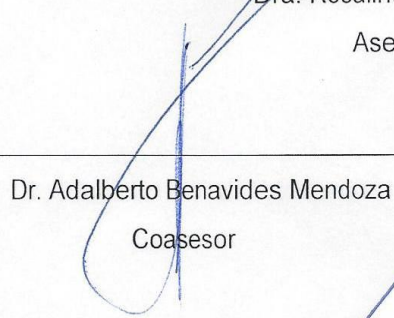
**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

Aprobada



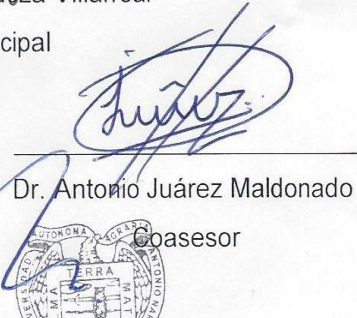
Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal

Asesor Principal



Dr. Adalberto Benavides Mendoza

Coasesor



Dr. Antonio Juárez Maldonado

Coasesor



Dr. Leobardo Bañuelos Herrera

Coordinador de la División de Agronomía

Coordinación  
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Septiembre, 2014

## AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por haberme regalado esta vida maravillosa y darme la oportunidad de ver concluido mi carrera profesional, por la excelente familia que me ha regalado.

A mi **Alma Terra Mater**, por brindarme la grandiosa oportunidad y por abrir sus puertas de sus instalaciones, proporcionándome todos sus servicios que en su momento necesite y con ello hacer más ligera mi vida universitaria. Gracias por todas esas experiencias, nociones y conocimientos que día tras día fui recopilando con su sabiduría y grandeza en mi formación académica, para ser una mejor persona y un excelente profesionista gracias por todo “NARRO”

A la **Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal**, por su apoyo y tiempo incondicional, brindando disponibilidad durante la realización del trabajo.

Al **Dr. Antonio Juárez Maldonado**, por su ayuda incondicional y por enseñarme y guiarme durante este trabajo.

Al **Dr. Adalberto Benavides Mendoza**, por su apoyo y comprensión para realizar este trabajo gracias por todo.

A la **MC. Mari Carmen López Pérez**, primordialmente por su apoyo, comprensión y por compartir tantos conocimientos gracias por todo el trabajo y el tiempo.

Gracias a las laboratoristas Martina y Laura del departamento de horticultura por su apoyo en los análisis y material utilizado.

Gracias a Biol. Silvia Guerrero y Lic. Ma. Del Socorro Mireles por su colaboración y ayuda durante el análisis de los minerales.

## DEDICATORIAS

### A MIS PADRES

#### **Ing. Jesús Gregorio Alcocer Hernández y Ana María Herrera Ibarra**

Porque si no fuera por ustedes yo no fuera la persona que soy ahora, gracias a los dos soy un hombre de bien, porque sin su ayuda no podría llegar a terminar esta etapa de mi vida tan valiosa y lograr ser un profesionista. Porque con su amor y coraje puedo enfrentarme a cualquier golpe o desafío que contrae la vida, porque si no fuera por ustedes apoyándome y dándome confianza por eso y muchas virtudes más que los rodean gracias a ustedes se los debo todo en esta vida.

A mis hermanas por confiar en mí, por están dispuestas siempre ayudarme incondicionalmente tanto en la vida, como en mi profesión.

A mis abuelos Fidencio Alcocer, Teresa Hernández y Bernardo Herrera, Aurora Ibarra, por apoyarme siempre y estar al pendiente de mis estudios.

A mis tíos por parte de mi papa (†Armando, Ofelia, Guadalupe, Fidencio, Juana, Juan y Javier) por apoyarme en toda mi vida gracias.

A mis tíos por parte de mi mama (María, Rosaura, †Angélica, Miguel, Eduardo, Juan, Agustín, José) por apoyarme en toda mi vida gracias.

A Deisy Yael Daniel Cañada por ayudarme y acompañarme por gran parte de mi vida estudiantil, gracias por estar ahí cuando lo necesitaba.

A Josefina Cristian Castañeda por apoyarme, guiarme y estar ahí disponible para cualquier problema que siempre me apoyaste gracias por ser una persona maravillosa, a ti y toda tu familia gracias

A Norma y Máyelo, gracias por ser parte de mi vida y por ser unas personas grandiosas, por hacer el bien sin ver a quien, gracias por estar ahí cuando más necesite.

A Luis Arturo Palomo gracias por las cosas que aprendí junto a ti y día con día sigo aprendiendo eres un gran amigo y gracias por tenderme la mano cuando más lo necesitaba.

#### A PERSONAS DISTINGUIDAS

José francisco Martínez Jiménez, Mari Carmen, Didier Zaragoza, Edison Zaragoza, Guadalupe Campos, Josefina, Victoria Álvarez, Chino Hernández, José Manuel Herrera, Ing. Alfonso Rojas, José Cárdenas, Andrés, Chaco, tamal, Luis Manuel Iriarte, gracias a todos por su apoyo en cada momento de mi formación académica y por estar ahí cuando los necesité.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	iii
<b>DEDICATORIA</b> .....	iv
<b>ÍNDICE DE CONTENIDO</b> .....	v
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	vi
<b>RESUMEN</b> .....	vii
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Objetivos.....	3
Hipótesis.....	3
<b>REVISIÓN LITERATURA</b> .....	4
<i>Azospirillum sp</i> .....	5
<i>Rhizophagus intraradices</i> .....	9
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	14
Ubicación del experimento.....	14
Variables evaluadas.....	15
Descripción de los tratamientos.....	15
Análisis estadístico.....	16
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	18
<b>CONCLUSIONES</b> .....	24
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	26

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág
<b>CUADRO 1</b>	.
Prueba de comparación de medias en Diámetro y altura inoculado con <i>Azospirillum sp</i> y <i>Rhizophagus intraradices</i> en invernadero de forestal 2014.....	18
<b>CUADRO 2</b>	
Prueba de comparación de medias en número de hojas, numero de racimos, peso fresco y peso seco frutos inoculado con <i>Azospirillum sp</i> y <i>Rhizophagus intraradices</i> en invernadero de forestal 2014.....	19
<b>CUADRO 3</b>	
Prueba de comparación de medias en frutos totales, peso en tomate y Media de frutos inoculado con <i>Azospirillum sp</i> y <i>Rhizophagus intraradices</i> en invernadero de forestal 2014.....	20
<b>CUADRO 4</b>	
Prueba de comparación de medias en N, P y K inoculado con <i>Azospirillum sp</i> y <i>Rhizophagus intraradices</i> en invernadero de forestal 2014.....	21

## RESUMEN

Los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) y Rizobacterias Promotoras del Crecimiento de Plantas (PGPR) mejoran significativamente el crecimiento y desarrollo de cultivos de interés agrícola. El objetivo del estudio fue verificar el efecto de la inoculación de *Azospirillum sp* y *Rhizophagus intraradices* en el crecimiento y desarrollo de tomate saladette, aplicando solución Steiner modificada en el cultivo del tomate. Se realizaron dos aplicaciones de la bacteria y del hongo a la raíz de las plantas. Se evaluó la respuesta en crecimiento, desarrollo y rendimiento de la planta y calidad de fruto. Se usó un diseño factorial 4\*2 con arreglo completamente al azar. Los tratamientos de estudio fueron: solución nutritiva al 100% con micorrizas y bacteria; solución nutritiva al 100% con micorrizas; solución nutritiva al 100% con bacteria, y solución nutritiva 100% (testigo); solución nutritiva al 50% con micorrizas y bacteria; solución nutritiva al 50% con micorrizas; solución nutritiva al 50% con bacteria, y solución nutritiva 50% (testigo). Se usó como sustrato suelo esterilizado-peat moss-perlita (10:60:30). Las aplicaciones de micorrizas y la bacteria produjeron un efecto positivo en la fijación de P y N en parte aérea, sin embargo, no se presentaron diferencias significativas en la mayoría de variables evaluadas.

**Palabras clave:** *Azospirillum*, *Rhizophagus*, Solución Steiner, minerales.



## INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es uno de los cultivos hortícolas de mayor importancia comercial, tanto en México como el extranjero. Es parte de una gran mayoría de platillos en nuestro país, y su consumo es en fresco y en conservas (SAGARPA, 2005). En la actualidad se ha incrementado la demanda para diferentes tipos de mercados tanto en el mercado nacional como al extranjero. La exigencias del mercado son tamaño, peso, cantidad y calidad, por lo que para lograr estos estándares es fundamental la nutrición, nuevas técnicas para bajar costos y aumentar los rendimientos (SAGARPA, 2005).

México se ubica en el décimo lugar de la producción mundial después de China, Estados Unidos, Turquía, India, Egipto e Italia, cuya producción en conjunto representa más del 60 % del total mundial (Rodríguez *et al*, 2001).

Según la FAO (2005), durante el período comprendido entre 2005 y 2009, el promedio de superficie cosechada fue de 112 mil 567 hectáreas, y el rendimiento obtenido fue de 25.7 toneladas por hectárea.

Ante esta situación es necesario considerar nuevas alternativas de producción, tales como es uso de microorganismos benéficos. En las interacciones entre plantas y ciertos microorganismos promotores de desarrollo vegetal, la raíz desempeña un papel central por su capacidad para ser colonizada (Chiarine *et al.*, 1998; Jiang y Sato, 1994).

Varias especies de microorganismos han sido utilizadas en la práctica para incrementar la producción de algunos cultivos, ya sea por su participación en el control biológico de hongos y bacterias fitopatógenos o por su capacidad para la fijación del nitrógeno atmosférico (Zhang *et al.*, 1996).

Las bacterias fijadoras de nitrógeno han sido objeto de numerosos estudios en diversos cultivos de importancia agronómica, estas se han utilizado para aumentar la germinación y crecimiento, fijar nitrógeno, producir sideróforos para asimilar nutrientes (Russo *et al.*, 2008). La inoculación de *Azospirillum sp*

se ha estudiado por su capacidad de fijar nitrógeno asociado con las raíces de diversos cultivos (Russo *et al.*, 2008; Pereyra *et al.*, 2009; Cohen *et al.*, 2008).

Referente a la bacteria fijadora de nitrógeno *Azospirillum brasilense*, ésta se ha probado principalmente en gramíneas con resultados positivos, sin embargo, no se descarta la posibilidad de que tenga buenos resultados en solanáceas como tomate de cáscara (El-Katatny, 2010). Se ha utilizado de forma inoculada a la semilla y a la raíz  $5 \times 10^6$  ufcml<sup>-1</sup> de la cepa C-5 de *Azospirillum sp.*, en la que afectan de manera positiva la calidad fisiológica de semillas de tomate (Richardson *et al.*, 2009).

Por su parte, las micorrizas son asociaciones simbióticas mutualistas que se establecen entre la planta y hongos del suelo (Pereyra *et al.*, 2009). Probablemente se trate del tipo de simbiosis más extendido en la biosfera, ya que cerca del 90% de las plantas terrestres son capaces de establecer simbiosis con algún tipo de micorrizas (Smith y Read, 1997). El hongo ayuda a la planta a absorber nutrientes minerales del suelo tales como el fósforo, y a cambio la planta le cede al hongo compuestos carbonados derivados de la fotosíntesis (Simon *et al.*, 1993; Redecker *et al.*, 2001; Cohen *et al.*, 2008; Moreno y Galvis, 2013).

Sin embargo, el papel de las micorrizas no solo se limita a mejorar la nutrición mineral de las plantas, sino que también contribuyen a la protección de las mismas frente a patógenos del suelo y a una mayor tolerancia frente a estreses abióticos (salino, hídrico o debido a la presencia de metales pesados) (Van Tichelen *et al.*, 2001; Azcon-Aguilar *et al.*, 2002; Ruiz-Lozano, 2003). Así, el uso simultáneo de dichos simbiosiontes podrían aumentar el potencial de crecimiento y desarrollo de diversos cultivos agrícola.

## OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la inoculación de *Azospirillum sp* y *Rhizophagus intraradices* en el crecimiento y desarrollo de tomate.

## Objetivos específicos

Evaluar los efectos de la aplicación independiente y en conjunto de *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum sp* sobre plantas de tomate, regadas con solución Steiner modificada.

## Hipótesis

Al menos una de las inoculación de *Azospirillum sp* y *R. intraradices*, favorecerá el crecimiento y desarrollo de plantas de tomate.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Aspectos generales e importancia

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es uno de los cultivos hortícolas más importantes en los países, debido a la alta demanda y gran importancia en dieta de la población, tanto en el consumo fresco y en conservas. La planta es nativa de América, cuyo origen se localiza cerca de los Andes en Latinoamérica en donde existen la mayor variabilidad genética y abundantes tipos silvestres (Jiménez, 2003).

El jitomate es una planta herbácea, perteneciente a la familia de las solanáceas; la taxonomía generalmente aceptada es (Peralta *et al.*, 2005 y 2007):

Reino: *Vegetal*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Solanales*

Familia: *Solanaceae*

Subfamilia: *Solanoideae*

Tribu: *Solaneae*

Género: *Solanum*

Especie: *Solanum lycopersicum* L.

Con una gran diversidad de variedades en el centro del país, llevó a los botánicos a considerar a México como el centro de origen del tomate cultivado en fruto grande (Peralta y Spooner, 2002).

En el siglo XVIII el tomate mexicano fue conocido y consumido por todo el mundo aclimatándose a casi todos los países y en el siglo XIX llegar a ser un alimento básico en el consumo humano (Jiménez, 2003).

En la actualidad el tomate se consume en fresco, como ingrediente preferido en las ensaladas, en forma de jugo, platillos exóticos, deshidratados para sopas, en

conservas al natural, pastas saladas, extracto tamizado y condimento, frutos verdes en vinagre y mermeladas (Nuez, 1996).

### ***Azospirillum***

*Azospirillum* es una bacteria fijadora de nitrógeno de vida libre, Katzy (2001), reportó que esta bacteria puede ser de vida libre o asociada con las raíces de los cereales, pastos y plántulas tuberosas. Aislada de la rizósfera y del espacio intracelular de la raíz de varias plantas. Estas bacterias son bacilos ligeramente curvados a menudo con puntos en los extremos, Gram negativos, móviles, microaerofílicas con diámetro celular es de 1 µm y pH de crecimiento entre 6.8 y 7.8 (Madigan y Pereyra *et al.*, 2009). *Azospirillum* sp, es microaerofílica, esta fue aislada de la raíz de varios cereales y forrajes de pasto en Nagano, Okinawa, Filipinas y Tailandia. La 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).

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).

La bacteria *Azospirillum* tiene capacidad para fijar nitrógeno gaseoso a las raíces, que conlleva a mayor superficie de absorción de nutrientes y por consecuencia mejor crecimiento de las plantas realizando diversos experimentos para evaluar sus efectos en distintos cultivos, suelos y condiciones climáticas, y los resultados son alentadores, con éxitos de 60 a 70 por ciento de los casos y con rendimientos en los cultivos de cinco a 30 puntos porcentuales mayores (Pereyra *et al.*, 2010).

La práctica de inoculación puede ser una metodología razonable de adoptar con la finalidad de proveer al cultivo aportes de la fijación biológica del Nitrógeno y otros estimuladores biológicos de crecimiento (Iglesias *et al.*, 2001).

Se ha comprobado que fertilizando los cultivos con estas bacterias y con nitrógeno químico en un porcentaje del 20 al 50% del utilizado normalmente se consigue un aumento de producción sobre las cosechas obtenidas únicamente con fertilizante químico al 100% (Russo *et al.*, 2008; Cassán *et al.*, 2009)

Producen reguladores de crecimiento como auxinas, ácido Indolacético (AIA), citosinas, y proteínas como poliamina, fijan nitrógeno, incrementar el crecimiento radicular, además son capaces de acelerar y potenciar el crecimiento de las plantas (Villegas *et al.*, 2010; Cassán *et al.*, 2009).

Son una alternativa emergente a los fertilizantes químicos inorgánicos para incrementar la fertilidad y producción de los cultivos en agro ecosistemas sustentables (Wu *et al.*, 2005).

La mayor exploración radical permite acceder a sitios del suelo enriquecidos con nutrientes poco móviles como el fósforo. El mayor desarrollo radical inducido por la inoculación con *Azospirillum* conduce a una mayor absorción de agua y nutrientes del suelo que se refleja en el mayor crecimiento del tallo y follaje. El contenido de fósforo, nitrógeno, potasio y diversos micronutrientes es mayor en las plantas inoculadas con *Azospirillum* que en las no inoculadas con la bacteria (Baldani *et al.*, 1979). Okon y Labandera-González (1994) llevaron a cabo una amplia revisión de las experiencias obtenidas en 20 años de inoculación con *Azospirillum*. Observaron efectos positivos sobre el rendimiento en el 60-70% de los experimentos y que la inoculación permite disminuir las dosis de fertilizantes (NPK) en un 30-45% sin afectar significativamente los rendimientos. Según estos autores las mayores respuestas se observan en suelos arenosos.

En 1970 se descubrió que esta bacteria puede también fijar el nitrógeno del aire sin asociarse simbióticamente a las plantas como sucede en las leguminosas como las bacterias del género *Rhizobium* (Dobbelaere *et al.*, 2003).

#### Uso de *Azospirillum* en la Agricultura

Canto *et al.* (2004) encontraron incrementos significativos en el peso seco aéreo y radical cuando se han inoculado plantas de chile habanero con  $10^7$  UFC mL<sup>-1</sup>

de *Azospirillum*. Las respuestas inducidas por *Azospirillum* sp. en tomatillo son análogas a las aplicaciones de *A. brasilense* y *A. lipoferum*, que incrementaron el diámetro de tallo, peso fresco y seco de tomate y peso fresco y seco de la planta de canola, respectivamente (El-Katatny, 2010; Baniaghil *et al.*, 2013). La inoculación de *Azospirillum* con la concentración de  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup> en semillas de trigo produjo un aumento en el porcentaje de germinación y longitud de plúmula (Rojas *et al.*, 2008). También se han hecho estudios de inoculación en cultivos como arroz, caña de azúcar, maíz, trigo y *Brachiaria* spp. Obteniendo como resultado la reducción de fertilizante químico nitrogenado (Shigueru *et al.*, 2013). Se evaluó el efecto de *Azospirillum brasilense* en el cultivo de trigo con diferente dosis de nitrógeno, para lo cual, los tratamientos inoculados con la bacteria mejoraron la fijación de nitrógeno en la planta, además de disminuir la cantidad de fertilizante aplicado (Piccinin *et al.*, 2013). Así también, bajo condiciones de invernadero se inoculó *Azospirillum brasiliense* y *A. irakense* en plantas de trigo y maíz con diferentes concentraciones de inóculo. Los mejores resultados obtenidos fueron con las concentraciones de  $10^5$  y  $10^6$  UFC/mL<sup>-1</sup> lo cual estimuló el desarrollo radicular, peso seco de plantas, en cambio las concentraciones de inóculo de  $10^7$  y  $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> no tuvieron efecto positivo, incluso inhibieron el desarrollo vegetal (Dobbelaere *et al.*, 2002). Rojas *et al.* (2009) evaluaron el efecto de *Azospirillum* sp., en semillas de trigo duro con una concentración de  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup> que causó incrementos de la longitud de hoja a diferencia del resto de los tratamientos.

Díaz *et al.* (2013) no encontraron una respuesta favorable al aplicar cepas micorrízicas y *Pseudomonas* spp. ya que el mayor rendimiento de maíz se observó en el testigo (fertilización).

### ***Rhizophagus intraradices***

El origen de los hongos micorrícicos se remota al ordívicio (hace 460 millones de años), como sugieren tanto los registros fósiles (Redecker *et al.*, 2000; Schußler *et al.*, 2001)

Los intentos de clasificar los hongos formadores de micorrizas arbusculares se remota a finales del siglo XIX- principios del XX, cuando se incluían en la familia Endogonaceae, dentro del phylum Zygomycota, basándose principalmente en el parecido de esporas y esporocarpios a los de los Zygomycetos (Gerdemann y Trappe, 1974). Para entonces no era evidente el posible origen monofilético de estos hongos, es decir, que compartieran o no un ancestro común. Hoy día, en base al análisis de la subunidad pequeña del ARNr se ha podido determinar su origen monofilético y se han agrupado en un nuevo phylum, denominado Glomeromycota (Schüßler *et al.*, 2001).

La historia evolutiva de los hongos micorrícicos es crucial para el entendimiento de origen morfológico o no de estos hongos. Es en este periodo de tiempo cuando se está produciendo la colonización del medio terrestre por las plantas por un medio acuoso. Se ha hipotetizado que los hongos micorrícicos tuvieron un papel determinante en esta transacción (Malloch *et al.* 1980), ayudando a los antecesores de las plantas actuales en la absorción de nutrientes de baja movilidad, como el fósforo y de agua. Hoy día perduran evidencias de esta temprana asociación de hongos micorrícicos con plantas primitivas, como son las asociaciones con briofitos (Schußler *et al.*, 2001).

Los hongos micorrícicos producen esporas de origen asexual, caracterizadas por tener un gran número de núcleos y de glóbulos lipídicos. El ciclo de vida se inicia con la germinación de las esporas. Este es un proceso independiente de la presencia de la planta hospedera, que no requiere más que de unas condiciones de humedad y temperatura (Carpio *et al.*, 2005; Russo y Perkins, 2010). Sin embargo, se sabe que determinados factores físicos, como la vernalización previa de las esporas (Hepper, 1981), químicos como concentraciones elevadas de CO<sub>2</sub> y presencia de exudados radicales (Becard y Piche 1989) y biológicos, derivados de la presencia de una amplia variedad de hongos y bacterias del suelo (Azcon- Aguilar *et al.*, 1986; Azcon, 1987; Hildebrandt *et al.*, 2002) acelerar el ritmo de germinación de las esporas.

Al igual que el hongo relaciona ante la presencia de la planta hospedera, también esta se prepara para el establecimiento de la simbiosis. Así, en presencia



del hongo se inicia el desarrollo de un programa genético que es, en parte, similar al desencadenado en leguminosas en presencia de su *Rhizobium* específico (Cordier *et al.*, 1998; Lingua *et al.*, 2002; Fritz *et al.*, 2006). Esto se ha puesto de manifiesto en leguminosas mutantes afectadas en la nodulación, que también tiene afectada la formación de micorrizas (Balagi *et al.*, 1994; Albrecht *et al.*, 1998). En este sentido se ha comprobado que factores difusibles producido por hongos micorrícicos son capaces de activar genes de la nodulación, como ENOD11 (Kosuta *et al.*, 2003), activación que se restringe en la zona de raíz en contacto con el hongo (Chabaud *et al.*, 2002). Sin embargo, pasa a compartir vías comunes de señalización, la simbiosis con los hongos micorrícicos y con los rizobios presentan distintas rutas de integración de la señal, lo que se refleja en que determinados mutantes que no responden a factores Nod, no pierden la capacidad de responder a los hongos micorrícicos (Chabaud *et al.*, 2002).

La formación de arbusculos y la extensión de colonización parece estar estrictamente controlada por la planta, como indica el hecho de que mutantes en el gen *har1*, también asociados con el control de nudos radicales en leguminosas (Nishimura *et al.*, 2002), presenta un número mayor de arbusculos que las plantas silvestres (Solaiman *et al.*, 2000).

La vida media de los arbusculos es muy breve, aproximadamente 7 días (Alexander *et al.*, 1988). Trascurrido este tiempo, los arbusculos degeneran.

El carácter mutualista de la simbiosis supone que ambos simbiosiontes resultan beneficiados de esta reacción, lo que generalmente se traduce en una mejor nutrición a ambos (Cordier *et al.*, 1998; Lingua *et al.*, 2002; Fritz *et al.*, 2006).

La nutrición mineral en relación a las micorrizas arbusculares es uno de los aspectos más estudiados en la simbiosis, debido a la importancia que esta tiene en el desarrollo vegetal, con implicaciones en áreas tan diversas como la nutrición humana, la agricultura sostenible o la biodiversidad de los ecosistemas terrestres (Fritz *et al.*, 2006).

Fue a mediados del siglo pasado cuando empezó a cobrar interés de las causas del mejor crecimiento de las plantas micorrizadas. El primer trabajo señalaba

como el manzano micorrizado presentaba un mayor contenido de Fe y Cu que él no micorrizado cuando crecía en suelos deficientes en estos micronutrientes (Mosse, 1957). Posteriormente se puso en manifiesto que los hongos formadores de micorrizas arbusculares mejoraban también la absorción de fosfato por la planta (Gerdemann, 1964; Daft y Nicolson, 1966; Baylis, 1967). Las causas de esta mejora en la nutrición pueden ser múltiples:

1. Las hifas del hongo son capaces de explorar un mayor volumen del suelo que las propias raíces, por lo que aumenta la capacidad de absorción de nutrientes, especialmente de aquellos que difunden con dificultad en la solución del suelo, lo que condiciona la formación de zonas de deficiencia alrededor de la raíz, es decir, zonas del suelo, en contacto directo con la raíz (Sanders y Tinker, 1973).
2. Por su tamaño, las hifas son capaces de compartir mucho mejor con otros microorganismos del suelo por nutrientes (Linderman, 1992).
3. Se ha postulado que los transportadores de los hongos micorrízicos presentan una mayor afinidad por su sustrato que los de la planta (Cress *et al.*, 1979)
4. La posibilidad de absorber fuentes de nutrientes no disponibles para la propia planta (Swaminathan, 1979)

#### Efecto de las micorrizas sobre la nutrición de las plantas

Numerosos estudios han puesto de manifiesto que la mayoría de las plantas aumenta la absorción de fósforo al establecer asociaciones micorrízicas (Raghothama, 1999; Rausch y Bucher, 2002;), estas, de hecho, pueden llegar a ser responsables.

Los hongos micorrízicos son organismos biotrofos obligados, que para completar su ciclo de vida necesitan colonizar una planta susceptible (planta hospedera) y establecer la simbiosis. Esta íntima asociación entre hongos micorrízicos y planta terrestres tiene una antigüedad de más de 460 millones de años (Redecker *et al.*, 2000), lo que ha condicionado decisivamente la biología de estos

hongos. No se les conoce ninguna fase de reproducción sexual pero si la formación de esporas de resistencia sobre hifas vegetativas. Se trata de esporas multinucleadas, con un número de núcleos que oscila desde los 720 de *Scutellospora castanea* (Hosny *et al.*, 1998), a 2600 para especies de género *Gigaspora* (Cooke *et al.*, 1987; Becard y Pfeffer, 1993). Así mismo estos hongos especialmente los miembros del género *Gigaspora*, pueden ser hospedadores de bacterias endosimbióticas (Bianciotto *et al.*, 1996) de función y origen desconocidos, e incapaces, al igual que los propios hongos que los albergan, de una fase de vida independiente (Jargeat *et al.*, 2004).

Los hongos micorrízicos son importantes en las plantas porque penetran y colonizan las células radicales del hospedante, forman un sistema de transferencia bidireccional, llevan nutrientes minerales del suelo a la planta y compuestos orgánicos de la planta al suelo. De este modo, la asociación posibilita, mediante mecanismos bioquímicos, mayor absorción de nutrientes, principalmente fósforo (Bethlenfalvay, 1993; González, 1993).

Sin embargo, la evaluación de la colonización micorrízica en campo es crítica, ya que el hongo micorrízico compite con poblaciones microbianas nativas (Van Duin *et al.*, 1989); existen investigaciones que refieren que nematodos micófagos, habitantes comunes de la zona rizosférica, reducen el potencial del hongo micorrízico arbuscular, ya que se alimentan de la hifa extramatricial (Linderman, 1992).

El contenido de nitrógeno en órganos de plantas cultivadas depende de la disponibilidad del elemento en el suelo y la cantidad de N aplicado; cuando el suplemento de N es escaso, el crecimiento es retardado (Greenwood *et al.*, 1980; Marschner, 1990).

Al aplicar *R. intraradices* en plantas de Chile, y *Glomus sp.* y *G. desertícola* en tomate se encontró un mayor rendimiento en dichos cultivos (Selvakumar y Thamizhiniyan, 2011; Hadad *et al.*, 2012; Wahb-Allah *et al.*, 2014).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización del área experimental

El presente trabajo se llevó a cabo en el invernadero del Departamento Forestal de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila (25°22' N y 101°00' O, a 1760 msnm).

### Descripción del experimento

Material vegetal.

Se utilizó como material biológico tomate (*Solanum lycopersicum* L.); producido en invernadero. Las semillas fueron sembradas charolas de polietileno de 200 cavidades, utilizando como sustrato peat moss y perlita (70:30), las cuales fueron nutridas de forma tradicional. Las plantas fueron trasplantadas a los 30 días después de la siembra. Se utilizaron bolsas de polietileno color negro de 4 litros utilizando como sustrato la combinación de suelo-peat moss-perlita (10:60:30). El suelo fue cribado y esterilizado: 3 ciclo de autoclave a 15 PSI por 15 min. Así mismo se usó un producto comercial a base de *R. intraradices*, y una cepa de *Azospirillum* sp aislada de trigo por Mendoza *et al.* (2009).

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar (8 tratamientos), con arreglo factorial 4\*2, la unidad experimental correspondió a una maceta con una planta. El primer factor presentó cuatro niveles: 1) *Rhizofagus intraradices* 2) *Azospirillum* sp, 3) *Rhizofagus intraradices* + *Azospirillum* y 4) un testigo sin la adición de estos microorganismos. El segundo factor tuvo dos dosis de fertilización; Solución fertilizante Steiner (Steiner, 1961) completa (100% de N, P) e incompleta (50% de fósforo y 50% de nitrógeno).

Se realizaron dos aplicaciones de micorrizas y bacterias inoculando 0.1 g de producto (40 esporas) y  $1 \times 10^8$  UFC ml<sup>-1</sup> por planta, respectivamente, al momento del trasplante (sobre el cepellón) y 15 días después del trasplante (sobre la base del tallo).

Las macetas fueron establecidas en el invernadero de forestal, se utilizó un acomodo en doble hilera con una separación de 30 cm entre cada una de ellas.

Posterior al trasplante se inició la fertilización mediante riego por goteo. El manejo del cultivo consistió en podas guiado a un solo tallo, tutoreo y aplicación de los pesticidas recomendados para el cultivo.

### Descripción de los tratamientos.

Cuadro 1. Tratamientos establecidos en invernadero en el cultivo de tomate con la inoculación de *R. intraradices*, y *Azospirillum* sp en tomate con solución completa.

100% N y P	
<i>R. intraradices</i> , + <i>Azospirillum</i> sp	<i>R. intraradices</i>
<i>Azospirillum</i> sp	testigo

Cuadro 2. Tratamientos establecidos en invernadero en el cultivo de tomate con la inoculación de *R. intraradices*, y *Azospirillum* sp en tomate con solución incompleta.

50% N y P	
<i>R. intraradices</i> , + <i>Azospirillum</i> sp	<i>R. intraradices</i>
<i>Azospirillum</i> sp	testigo

### Variables evaluadas

1. **Diámetro de tallo.** Se determinó por medio de un vernier tomando la medida del tallo
2. **Altura.** Se determinó por medio de una cinta métrica tomando la medida de la planta
3. **Numero de racimos.** Se determinó contando los racimos de cada planta

4. **Numero de hojas.** Se determinó contando las hojas de las plantas
5. **Peso de fruto.** Se determinó con una balanza analítica pesando de fruto en fruto en el laboratorio de horticultura
6. **Numero de frutos amarrados.** Se determinó contando los frutos después de cosechar los frutos
7. **Peso fresco de la planta.** Se determinó con una balanza analítica pesando la planta en cuanto fueron cortada y embolsada en el laboratorio de horticultura
8. **Peso seco de la planta.** Se determinó en una estufa durante 72 horas a una temperatura de 70°C y el peso con una balanza analítica en el laboratorio de horticultura.
9. **Nitrógeno.** Se determinó por el método micro Kjeldahl (Muller, 1961), El N total (%) se determinó por el método micro Kjeldahl: 0.05 g de muestra se colocaron en matraces Kjeldahl y se agregaron 4 ml de mezcla digestora ( $K_2SO_4 + HgO + H_2SO_4$ ), los matraces se llevaron a una estufa para digestión con temperatura de 150 °C hasta obtener color cristalino. La muestra digerida se colocó en un micro Kjeldahl (marca LABCONCO) haciéndose reaccionar con NaOH al 50% y  $H_3BO_3$  al 2.2%, y se recuperaron 60 ml del destilado, el cual fue titulado con  $H_2SO_4$  a 0.025 N. El porcentaje de nitrógeno se calculó mediante la fórmula:

$$\% \text{ nitrógeno} = \frac{(ml \text{ gastados de } H_2SO_4) \cdot (0.014) \cdot (Normalidad \text{ de } H_2SO_4)}{(g \text{ muestra})} * 100$$

Extracto para la determinación de minerales en hojas y tallos (a los 119 ddt) y del fruto (125 ddt). Se usó 1 g de muestra seca y molida que se colocó en un matraz y se adicionó mezcla perclórica ( $HNO_3$  y  $HClO_4$  3:1 (v/v)). El matraz se calentó a 250 °C en parrilla para digestión hasta obtener un líquido color claro. El digerido se filtró

con papel filtro 42 (Whatman) aforándose a 100 ml con agua desionizada. Del filtrado obtenido se tomaron las lecturas de K y P.

10. **Fósforo.** Se determinó mediante el método de colorimetría, con digestiones de la materia seca de la planta El % de P se determinó por el método colorimétrico de molibdato. Se tomó 1 ml de muestra digerida a la que se añadieron 5 ml de molibdato de amonio ( $H_{24}Mo_7N_6O_{24}.4H_2O$ ) y 2 ml de ácido aminonaftolsulfónico ( $C_{10}H_9NO_4S$ ), se agitó con un vórtex y se dejó reposar por 20 min. La mezcla se colocó en viales y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro Thermo Biomate 5. De acuerdo a la concentración obtenida en el espectrofotómetro se sustituyó en la fórmula:

$$\% \text{ fosforo} = \left[ \frac{(\text{g de muestra/volumen de adorción}) * (\text{Volumen tomado})}{(\text{Concentración} * 0.001)} \right] / 1000 * 100$$

11. **Potasio.** Se midió por absorción atómica. Se realizó con el espectrofotómetro METERTEK SP-830 para medir la intensidad de colores por, de las muestras de la digestión de material vegetal (Chapman y Pratt, 1976). El % de K se determinó por espectrofotometro 3 gotas de cobaltinitrito, 1 ml de alcohol, 1 ml de la muestra digerida, 5 ml de agua destilada, se mesclo el contenido y se colocó la mezcla en viales y se midió la trasmitancia usando el espectrofotómetro: Metertek sp – 830.

### **Análisis estadístico**

Se realizó un ANVA, así como prueba de medias según tukey ( $p < 0.05$ ), bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 4\*2.

## EL MODELO

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

### Donde:

- $Y_{ijk}$  : Variable de respuesta
- $\mu$  : Media global poblacional
- $\alpha_i$  : Efecto debido al  $i$ -ésimo nivel del factor A
- $\beta_j$  : Efecto debido al  $j$ -ésimo nivel del factor B
- $(\alpha\beta)_{ij}$ : Efecto de la interacción en la combinación  $ij$
- $\varepsilon_{ijk}$  : Error aleatorio con media 0 y  $\sigma^2$  constante



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el cuadro 1 se observa las variables diámetro de tallo y altura de planta de tomatillo. En las variables agronómicas el diámetro y altura de planta con solución Steiner no se encontraron diferencias significativas en el primer y segundo muestreo. Aunque en el tercer muestreo en el diámetro se encontró diferencia significativa, siendo la solución de 50% N y P la que género los mejores resultados. Los resultados anteriores difieren a lo reportado por Nzanza *et al.* (2011) quienes encontraron una mayor altura de planta al inocular *G. mossae* en tomate. Dentro de los microorganismos solo se muestra diferencia significativa, en el diámetro dos, siendo el menor diámetro el que corresponde al tratamiento con *Azospirillum sp.* Por otro lado se muestran las interacciones en las cuales solo 2 variables muestran diferencia significativa.

**CUADRO 1.** Prueba de comparación de medias en Diámetro y altura inoculado con *Azospirillum sp* y *Rhizophagus intraradices* en invernadero de forestal 2014.

Factor	Tratamientos	D (mm)	A (cm)	D 2 (mm)	A 2 (cm)	D 3 (mm)	A 3 (cm)
Solución Steiner	100% N, P	7.40a $\beta$	84.47a	9.37a	148.0a	10.61b	182.75a
	50% N, P	7.28a	81.05a	9.81a	161.4a	11.41a	185.14a
Microorganismos	Testigo	7.48a	85.00a	9.78ba	164.89a	10.68a	192.07a
	<i>R.intraradices</i>	7.46a	84.11a	10.01a	159.67a	11.52a	180.00a
	<i>R. intraradices</i> + <i>Azospirillum sp</i>	7.27a	80.50a	10.02a	154.00a	10.46a	172.93a
	<i>Azospirillum sp</i>	7.16a	81.44a	8.56b	140.39a	11.40a	190.79a
	A*100%	7.69a	83.66a	8.39b	144.8ab	10.95a	183.7a
interacciones	T*100%	7.08a	80.88a	9.09ab	159.4ab	10.39a	189.1a
	A+R*100%	7.37a	79.22a	9.55ab	127.6b	9.76a	172.0a
	R*100%	7.48a	80.44a	10.44ab	160.2ab	11.36a	186.1a
	A*50%	6.64a	79.22a	8.72ab	174.4a	11.85a	197.8a
	T*50%	7.89a	89.77a	10.48ab	170.3ab	10.97a	195.0a
	A+R*50%	7.16a	81.77a	10.49a	153.1ab	11.15a	173.8a
	R*50%	7.45a	87.77a	9.57ab	147.7ab	11.68a	173.8a

D: Diámetro; A: Altura; D2: Diámetro 2; A2: Altura 2; D3: Diámetro 3; A3: Altura 3;  $\beta$  Letras diferentes por columna indican diferencias estadísticas según Tukey ( $p < 0.05$ ). R: *R. intraradices*. A: *Azospirillum sp*. A+R: *R. intraradices* + *Azospirillum sp*. T: Testigo.

Dentro de los dos factores se encontró una diferencia en cada factor, en la solución Steiner el tratamiento que se mostró con mayor respuesta fue el de solución incompleta con 50% de N, P en la gran mayoría de los datos. El-Katatny, (2010) encontró un incremento el diámetro de tallo, peso fresco y seco en tomate, así mismo Baniaghil *et al.* (2013) obtuvieron aumento en el peso fresco y seco de la planta de canola. En el factor microorganismo el que mostró mejor respuesta fue *R. intraradices*, en relación con el testigo y el que dio menor respuesta fue la interacción de *R. intraradices* + *Azospirillum sp* (Cuadro 1) estos resultados pueden ser debido a que los microorganismos aplicados usaron gran cantidad de energía para su metabolismo disminuyendo así la energía disponible para la generación de biomasa. Ya que se sabe, que la aplicación de *R. intraradices* y *Azospirillum sp* requiere un alto gasto de energía (16 moles de ATP) para fijar un mol de N (Urzúa, 2005). En las interacciones muestra diferencia significativa solamente en el diámetro 2 en donde la interacción de los microorganismos con solución incompleta es la que muestra mejores resultados y en la altura 2 en donde la bacteria con la solución incompleta es la mayor, dentro de las variables restantes no muestran diferencia significativa.

En el cuadro 2 se observa las variables número de hojas, número de racimos, peso fresco de la planta y peso seco de la planta del tomate.

Las variables N° de hojas, N° de racimos, peso fresco de la planta y peso seco de la planta con el 100% N, P se la sol. Steiner muestran diferencia significativa según (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) teniendo los mayores valores. Dichos resultados son similares a lo encontrado por Singh (2013) al aplicar *Azospirillum* + 100% de N en cilantro. En base a los microorganismos no muestra diferencia significativa, sin embargo la interacción *R. intraradices* + *Azospirillum sp*, muestran los resultados más bajos. Las interacciones muestran diferencia significativa en las variables número de hojas, peso fresco y peso seco.

**CUADRO 2.** Prueba de comparación de medias en número de hojas, numero de racimos, peso fresco y peso seco frutos inoculado con *Azospirillum sp* y *Rhizophagus intraradices* en invernadero de forestal 2014.

Factor	Tratamientos	N H 15ddt	N R	N H 2 30 ddt	N R 2	P F	P S
Solución	100% N, P	17.80a $\beta$	3.58a	26.71a	6.60a	767.12a	122.21a
Steiner	50% N, P	19.05a	3.88a	22.03b	5.42b	577.69b	86.38b
Microorganismos	Testigo	19.00a	4.27a	25.35a	6.57a	707.00a	110.24a
	<i>R. intraradices</i>	18.83a	3.55a	25.78a	5.85a	692.07a	105.79a
	<i>R. intraradices</i> + <i>Azospirillum sp</i>	16.72a	3.22 a	23.57a	5.57a	598.69a	95.03a
	<i>Azospirillum sp</i>	19.16 a	3.88a	22.78a	6.07a	691.86a	106.11a
	interacciones	A*100%	19.55ab	3.77a	28.26a	6.85a	782.4ab
	T*100%	18.11ab	4.11a	26.57a	7.28a	820.9ab	130.5ab
	A+R*100%	14.33b	2.44a	27.28a	6.0a	594.0bc	99.6bcd
	R*100%	19.22ab	4.00a	24.71a	6.28a	871.1a	138.5a
	A*50%	18.77ab	4.00a	23.28a	5.28a	601.2bc	92.1cd
	T*50%	19.88a	4.44a	24.14a	5.85a	593.0bc	89.9cd
	A+R*50%	19.11ab	4.00a	19.85a	5.14a	603.3bc	90.3cd
	R*50%	18.44ab	3.11a	20.85a	5.42a	513.0c	73.0d

Dónde: NH es el número de hojas; NR: Numero de Racimos; NH2: Numero de Hojas 2; NR2: Numero de Racimos 2; PF: Peso Fresco; PS: Peso Seco;  $\beta$  Letras diferentes por columna indican diferencias estadísticas según Tukey ( $p < 0.05$ ).

R: *R. intraradices*. A: *Azospirillum sp*. A+R: *R. intraradices* + *Azospirillum sp*. T: Testigo.

Entre los dos factores, la solución Steiner si muestra diferencia significativa con un 100% de N, P en el segundo muestreo variables número de hojas y número de racimos, peso fresco de la planta y peso seco de la planta según (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). En el factor de los microorganismos no muestra diferencia significativa, sin embargo el testigo es el que tiene mayor valor, la interacción de *R. intraradices* + *Azospirillum sp* muestra los datos más bajos, de igual manera Díaz *et al.* (2013) no encontraron una respuesta favorable al aplicar cepas micorrízicas y *Pseudomonas spp* ya que el mayor rendimiento de maíz se observó en el testigo (fertilización completa). Dentro

de las interacciones muestra diferencia el número de hojas siendo el testigo con la solución incompleta el más alto, el peso fresco y peso seco de la planta el que mostro mejor resultado fue la micorriza con la solución completa.

En el cuadro 3 se muestran las variables total de frutos, peso del fruto total y media de fruto total. En el factor de solución Steiner la única variable que muestra diferencia significativa es peso del fruto total con la dosis de 50% N, P que fue en todas las variables la que obtuvo el mejor resultado según (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). Salinas-Ramírez *et al.* (2011) observaron una tenencia similar en el incremento del rendimiento de ejotes, al combinar *Rhizobium etli* + *R. intraradices* + dosis alta de N. En el factor de los microorganismos no se muestra diferencia significativa. En las interacciones solo la media de fruto total muestra diferencia significativa.

**CUADRO 3.** Prueba de comparación de medias en cuatro cortes de frutos totales, peso en tomate tratados con *Azospirillum sp* y *Rhizophagus intraradices* en invernadero de forestal 2014.

Factor	Tratamientos	T F	P F T	M F T
Solución Steiner	100% N, P	2.72a $\beta$	289.51b	158.03a
	50% N, P	3.85a	448.72a	231.69a
Microorganismos	Testigo	3.95a	478.7a	244.63a
	<i>R. intraradices</i>	2.75a	293.0a	162.72a
	<i>R. intraradices</i> +	2.75a	307.6a	162.72a
	<i>Azospirillum sp</i>			
	<i>Azospirillum sp</i>	3.70a	397.2a	218.61a
interacciones	A*100%	3.2a	232.0a	113.8ab
	T*100%	4.0a	489.3a	267.2ab
	A+R*100%	1.0a	107.1a	62.9b
	R*100%	2.7a	329.7a	188.0ab
	A*50%	4.2a	562.5a	326.3a
	T*50%	3.9a	468.1a	221.9ab
	A+R*50%	4.5a	508.1a	262.5ab
	R*50%	2.8a	256.2a	118.9ab

Donde TF: Total de Frutos; PFT: Peso del Fruto Total; MFT: Media de Fruto Total;  $\beta$  Letras diferentes por columna indican diferencias estadísticas según Tukey ( $p < 0.05$ ). R: *R. intraradices*. A: *Azospirillum sp*. A+R: *R. intraradices* + *Azospirillum sp*. T: Testigo.

Thankamani *et al.* (2011) observaron un mayor rendimiento en pimienta negra al aplicar *Azospirillum* sp + 50% de N recomendado. Para el factor de microorganismos y las interacciones de los tratamientos no se observaron diferencias significativas, para ninguna de las variables. Así también, bajo condiciones de invernadero se inoculó *Azospirillum brasiliense* y *A. irakense* en plantas de trigo y maíz con diferentes concentraciones de inóculo. Los mejores resultados obtenidos fueron con las concentraciones de  $10^5$  y  $10^6$  UFC ml<sup>-1</sup>, lo cual estimuló el desarrollo radicular, peso seco de plantas, en cambio las concentraciones de inóculo de  $10^7$  y  $10^8$  UFC ml<sup>-1</sup> no tuvieron efecto positivo, incluso inhibieron el desarrollo vegetal (Dobbelaere *et al.*, 2002). Quizá la concentración de las bacterias aplicadas en este experimento haya afectado su efectividad. Dentro de las interacciones solo media de fruto total muestra diferencia significativa siendo la bacteria con la solución incompleta la que muestra mayor resultado y en las otras variables no muestra diferencia significativa.

En el cuadro 4 se muestran el contenido mineral (N, P y K) en parte aérea, en raíz y en el fruto de tomate.

En el primer factor de solución Steiner mostraron diferencia significativa el P en la parte aérea con 100% N, P. El fruto y las demás variables no muestran diferencia significativa según Tukey ( $p \leq 0.05$ ), pero si muestran diferencia numérica mayor la de 100%N, P. En el factor de los microorganismos el que mostro diferencia la parte aérea el N con *Azospirillum* sp. Obtuvo el mayor porcentaje, por otro lado la parte aérea en el P con *R. intraradices* fue el más alto en el P en la parte aérea mostrando diferencia significativa según (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) a comparación las interacciones fueron las más bajas e inclusive que el testigo. En las interacciones solo en la parte aérea aumento el N y P, en las demás interacciones no mostraron diferencias significativas.

**CUADRO 4.** Prueba de comparación de medias en N, P y K inoculado con *Azospirillum sp* y *Rhizophagus intraradices* en invernadero de forestal 2014.

Factor	Tratamientos	Aérea	Raíz	Fruto	Aérea	Raíz	Fruto	Aérea	Raíz	Fruto
		N	N	N	P	P	P	K	K	K
Solución Steiner	100% N, P	3.57a $\beta$	2.04a	2.96a	2.82a	1.37a	1.50a	6.77a	2.42a	1.41a
	50% N, P	3.36a	1.75a	3.08a	1.94b	1.39a	1.23b	5.71a	2.51a	1.68a
Microorganismos	Testigo	2.94b	2.10a	2.90a	2.53ab	1.70a	1.40a	6.34a	2.72a	1.86a
	<i>R. intraradices</i>	3.52ab	1.61a	3.57a	3.22a	1.30a	1.16a	9.19a	2.18a	1.44a
	<i>R. intraradices</i> + <i>Azospirillum sp</i>	3.63ab	1.82a	3.00a	1.93ab	1.26a	1.44a	5.25a	2.94a	1.91a
	<i>Azospirillum sp</i>	3.78a	2.07a	2.62a	1.82b	1.80a	1.47a	4.18a	2.03a	0.98a
Interacciones	A*100%	3.88a	2.05a	2.4a	1.96ab	1.71a	1.7a	338a	2.1a	2.03a
	T*100%	2.60b	1.72a	3.2a	2.90ab	1.20a	1.5a	835a	2.0a	1.56a
	A+R*100%	4.21a	2.40a	2.9a	2.47ab	0.89a	1.6a	567a	1.9a	1.18a
	R*100%	3.60ab	2.02a	3.2a	3.95a	2.38a	1.1a	967a	2.0a	0.88a
	A*50%	3.67ab	2.14a	2.7a	1.72ab	1.24a	1.1a	497a	3.7a	1.68a
	T*50%	3.27ab	1.80a	2.5a	2.17ab	1.45a	1.2a	432a	2.2a	1.31a
	A+R*50%	3.05ab	1.59a	3.0a	1.39b	1.49a	1.2a	483a	2.1a	2.65a
	R*50%	3.44ab	1.51a	3.9a	2.50ab	1.42a	1.2a	871a	3.3a	1.07a

N: Nitrógeno, P: Fosforo; K: Potasio,  $\beta$  Letras diferentes por columna indican diferencias estadísticas según Tukey ( $p < 0.05$ ). R: *R. intraradices*. A: *Azospirillum sp*. A+R: *R. intraradices* + *Azospirillum sp*. T: Testigo.

En la Cuadro 4 la solución Steiner en dos tratamientos se muestran diferencia significativa, aunque la solución 100%N, P muestra mayor resultado aunque no haya diferencia significativa. Dentro del factor de microorganismos, la mayoría de los tratamientos no muestran diferencia significativa, sin embargo hay que recalcar que la interacción *R. intraradices* + *Azospirillum sp* fue uno de los más bajos en la mayoría de los tratamientos. Estos resultados son diferentes a lo encontrado por Latef (2013) quien demostró que la absorción de P en follaje en Chile se estimuló por la inoculación *G. mosseae*. De igual manera Domínguez *et al.* (2012) reportaron que la inoculación con *A. brasilense* aumentó la concentración de N. Dentro de las

interacciones muestran diferencia significativa en la parte aérea el aumento del N siendo la interacción de los microorganismos con la solución completa la mas alta y aumento el P en la parte aérea siendo la micorriza con la solución completa la que obtuvo el resultado más alto, las otras variables no muestran diferencias significativas sin embargo la micorriza con la solución completa muestra mejor resultado a comparación de las medias.

## CONCLUSIONES

Las aplicaciones de *Rhizophagus intraradices* aumentaron el P en follaje.

La inoculación *Azospirillum* sp incrementó el N en la parte aérea de la planta.

Las soluciones Steiner completa incrementó el P en la parte aérea



## LITERATURA CITADA

- Alarcon A, R Ferrera-Cerrato (2000) biofertilizantes: importancia y utilización en la agricultura . Agric. Tec. Mex. 26:191-203.
- Abdel-Latef, A.A. (2013). Growth and Some Physiological Activities of Pepper (*Capsicum annuum* L.) in Response to Cadmium Stress and Mycorrhizal Symbiosis. *Journal of Agricultural Science Technology*, vol, 15, pp. 1437-1448.
- Arzanesh M, H Alikhani, K Khavazi, H Rahimian, M M iransari. (2010). Wheat (*Triticum aestivum* L.) growth enhancement by *Azospirillum* sp. Under drought stress. Springer. *World Journal Microbiol Biotechnol.* 1-9.
- Azcon-Aguilar C, Jaizme-Vega CM, Calvet C, (2002). The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the control of soil-borne plant pathogens. In *mycorrhizal technology in agriculture* . birkhauser Verlag, Germany, pp 187-197.
- 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.
- Bethlenfalvai, G.J. (1993). The mycorrhizal plant-soil system in sustainable agriculture. pp. 127-133. In: R. Ferrera-Cerrato y R. Quintero Lizaola (eds.). *Agroecología, sostenibilidad y educación*. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.
- Canto – Martin, J.C., Medina – Peralta, S. y Morales – Avelino, D. (2004). Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp. en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* jacquin). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 4: 21 – 27.
- Carpio, A. L.; Davies, F. T. and Arnold, M. A. (2005). Arbuscular mycorrhizal fungi, organic and inorganic controlled-release fertilizers: effect on growth and leachate of container-grown bush morning glory (*Ipomoea carnea* ssp. *fistulosa*) under high production temperatures. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 130:131-139.
- Cassán F, D Perrig, V Sgroy, 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.
- Cordier, C., Pozo, M. J., Barea, J. M., Gianinazzi, S., Gianinazzi-Pearson, V. (1998). Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Mol Plant-Microbe Interact.* 11: 1017-1028.

- Chiarine, L., Bevivino, A., Yabacchioni, S. y Dalmastrri, C. (1998). Inoculation of Burkholderia cepacia, Pseudomonas fluorescens and Enterobacter sp on Sorghum bicolor: root colonization and growth promotion of dual strain inocula. Soil Biology and Biochemistry. 30: 81-87.
- Dobbelaere S., Vanderleyden J y Okon Y. (2003). Plant Growth-Promoting effects of diazotrophos in the rhizosphere. Crit. Rev. Pl. Sci. 22(2): 107-149.
- Dobbelare, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Okon, Y. and Vanderleyden, J. (2002). Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. Biology and Fertility of Soils. 36: 284 – 297.
- 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.
- Elein T, A Leyva, A Hernandez. (2005): Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). Revista Colombiana de Biotecnología, Vol. 7: (2). 47-54.
- Greenwood, D.J., T.J. Cleaver, M.K. Turner, J. Hunt, K.B. Niendorf y S.M.H. Loquens. (1980). Comparison of the effects of nitrogen fertilizer on the yield, nitrogen content and quality of 21 different vegetable and agricultural crops. J. Agric. Sci. Camb. 95: 471-485.
- G. Selvakumar and P. Thamizhiniyan (2011) The Effect of the Arbuscular Mycorrhizal (AM) Fungus *Glomus intraradices* on the Growth and Yield of Chilli (*Capsicum annum* L.) Under Salinity Stress. World Applied Sciences Journal, vol, 14, no. 8, pp. 1209-1214.
- Iglesias, M; Lifschitz, V.; Miceli, G.; Romero, E. ; Díaz, I. Inoculación y co-inoculación con *Azospirillum* spp y *Saccharomyces* Sp en el transplante de tomate. Jornada de Ciencias y Técnica (2001). (CD-ROM) 077.
- Jiménez, D.F., (2003). Enfermedades del Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Ed. Limusa. México, D.F. 102 p.
- K. Ordookhani, K. Khavazi, A. Moezzi and F. Rejali (2010) Influence of PGPR and AMF on antioxidant activity, lycopene and potassium contents in tomato. *African Journal of Agricultural Research*, vol, 5, no. 10, pp. 1108-1116.
- Linderman, R.G. (1992). Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. pp. 45-70. In: G.J. Bethlenfalvay and R.G. Linderman (eds.). *Micorrhizae in sustainable agriculture*. Special Publication 54. American Society of agronomy. Madison, WI.

- Loredo O C, L Lopez R, D Espinosa V (2004) bacterias promotoras de crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: una revisión. *Terra Latinoam.* 22:225-239.
- M.H. El-Katatny (2010) Enzyme Production and Nitrogen Fixation by Free, Immobilized and Coimmobilized Inoculants of *Trichoderma harzianum* and *Azospirillum brasilense* and Their Possible Role in Growth Promotion of Tomato. *Food Technology & Biotechnology*, vol, 48, no. 2, pp. 161-174.
- M.A. Hadad, H.S. Al-Hashmi and S.M. Mirghani (2012). Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) growth in response to salinity and inoculation with native and introduced strains of mycorrhizal fungi. *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, vol, 2, no. 6, pp. 228-233.
- Mendoza, R., Martínez, F., Rodríguez, V., Benavidez, A. (2009). Biofertilización con *Azospirillum* en trigo. En: Artículos en extenso. Avances en la ciencia del suelo. XXXIV Congreso Nacional de la ciencia del suelo. Edición de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del suelo, A.C. (2009). P. 16-614.
- M. Panneerselvam and P. Thamizhiniyan (2011) Response to AM fungi and *Azospirillum* in growth of *Vigna radiata* L. *Hub. Recent Research in Science and Technology*, vol, 3, no. 2, pp. 145-147.
- M. Wahb-Allah, H. Abdel-Razzak, A. Alsadon, A. Ibrahim (2014) Growth, Yield, Fruit Quality and Water Use Efficiency of Tomato under Arbuscular Mycorrhizal Inoculation and Irrigation Level Treatments. *Life Science Journal*, vol, 11, no. 2, pp. 109-117.
- Muller, L. (1961). Un aparato micro-Kjeldahl simple para análisis rutinarios de materiales vegetales. *Turrialba.* 11:17-25.
- N. Baniaghil, M.H. Arzanesh, M. Ghorbanli, M. Shahbazi (2013) The Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Growth Parameters, Antioxidant Enzymes and Microelements of Canola under Salt Stress. *Journal of Applied Environmental and Biological Science*, vol, 3, no. 1, pp. 17-27.
- Okon Y. y Labandera-González CA. (1994). Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biol. Biochem.* 26: 1591-1601.
- Piccinin, G.C., Braccini, A.L., Dan, L.G.M., Scapim, C.A., Ricci, T.T. and Bazo, G.L. (2013). Efficiency of seed inoculation with *Azospirillum brasilense* on agronomic characteristics and yield of wheat. *Industrial crops products.* 43: 393 – 397.
- 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

- Rojas – Sierra, J. y Moreno – Sarmiento, N. (2008). Producción y formulación de prototipos de un biofertilizante a partir de bacterias nativas asociadas al cultivo de arroz (*Oryza sativa*). Revista Colombiana de Biotecnología. 10: 50 – 62.
- Rojas – Méndez, B.A., Mendoza – Villarreal, R., Mellado, K., Torres – Tapia, A., Vázquez – Siller, L.M. (2009). Respuesta de trigo duro a la inoculación de *Azospirillum* sp. en la germinación y vigor. Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible. A.C. 6 ISBN: 978 – 607 – 8003 – 17 – 4.
- 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.
- Ruiz-lozano JM (2003). Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies mycorrhiza 13: 309-317.
- SAGARPA. (2005)., Análisis Agropecuario del Tomate. Boletín Informativo. Culiacán, Sinaloa, México. 9 p.
- SCHÜßLER, A., D. SCHWARZOTT, & C. WALKER. (2001). a new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. Mycol. Res. 105: 1413-1421.
- Shigueru – Okumura, R., De Cinque – Mariano, D., Dallacort, R., Nogueira – De Albuquerque, A., Da Silva – Lobato, A.K., Silva – Guedes, E.M., De Oliveira – Neto, C.F., Oliveira – Da Conceicao, H.E. and Ruffei – Alves, G.A. (2013). *Azospirillum*: a new and efficient alternative to biological nitrogen fixation in grasses. Journal of food agriculture and environment. 11: 142 – 1146.
- Simon L, Bousquet J Levesque RC, Lalonde M (1993). Origin and diversification of endomycorrhiza fungi and coincidence with vascular land plants. Nature 363:67-69.
- Villegas J, E Rueda, A Murillo, M Puente, O Grimaldo, S Avilés, J Ponce. Efecto en la inoculación de *Azospirillum halopraeferens* y *Bacillus amyloliquefaciens* en la germinación de *Prosopis chilensis*. 2010. Tropical and subtropical Agroecosystems. 12 (1): 19-32.
- Van Duin, W.E., J. Rosema y W.H.D. Ernest. 1989. Seasonal and spatial variation in the occurrence of vesicular-arbuscular (V-A) mycorrhizae in salt marsh plant. Agric. Ecosystems Environ. 29: 107-110.
- Van Tichele KK, Coloart JV, Vangronsveld J (2001). Ectomycorrhizal protection of *Pinus sylvestris* against copper toxicity. New phytologist 150[1], 203-213. 2001.
- Zhang F., Narges D., Hynes R.K. y D.L. Smith. (1996). Plant growth promoting rhizobacteria and soybean (*Glycine max* L. Merr) nodulation and nitrogen fixation at suboptimal root zone temperatures. Annals of Botany. 77: 453-459.