

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA



Cambios en la Morfología de Plántulas de Tomate Saladette con la Aplicación  
de Selenio y *Azospirillum*

Por:

**IPÓLITO GÓMEZ DÍAZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

Saltillo, Coahuila, México

Junio del 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Cambios en la Morfología de Plántulas de tomate Saladette con la Aplicación de  
Selenio y Azospirillum

Por:

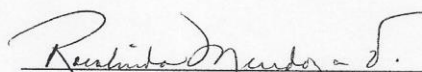
**IPÓLITO GÓMEZ DÍAZ**

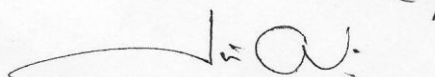
TESIS

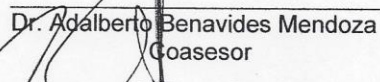
Presentada como requisito parcial para obtener el título de

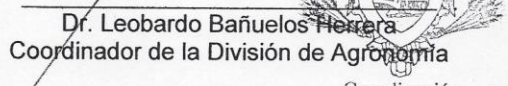
**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

Aprobada

  
Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal  
Asesor Principal

  
Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar  
Coasesor

  
Dr. Adalberto Benavides Mendoza  
Coasesor

  
Dr. Leobardo Bañuelos Herrera  
Coordinador de la División de Agronomía  
Coordinación  
División de Agronomía  
Saltillo, Coahuila, México

Junio del 2014

## AGRADECIMIENTOS

*A Dios todopoderoso,* Por permitirme llegar a esta etapa tan importante de mi vida, es un paso más de mis objetivos que me propuse, gracias señor por darme sabiduría y la habilidad de haber concluido mi carrera profesional, y me permitan seguir avanzando hacia nuevos objetivos, gracias por estar siempre conmigo y levantarme en los fracasos más difíciles, pero con tu ayuda, me has demostrado tu bendición. Gracias de todo corazón.

*A mi familia,* Por apoyarme en el sentido económico y moral, me siento muy satisfecho con todo lo que me brindaron porque gracias a ustedes he culminado esta carrera profesional.

*A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN)* Por darme la oportunidad de ofrecerme sus servicios y conocimientos, con ella obtuve mi formación como ingeniero agrónomo en horticultura.

*A la Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal,* Por darme la oportunidad de trabajar en este proyecto de investigación, la atención brindada en todo momento y su conocimiento transmitido en la realización de este trabajo, en el cual me fueron de mucha utilidad.

*Al Dr. Adalberto Benavides Mendoza,* Por brindarme la atención prestada y la orientación necesaria sobre mi trabajo de investigación.

*Al Dr. Luis Alonso Valdez Aguilar,* Por apoyarme en la revisión de este trabajo de investigación y sobre todo, compartir su conocimiento en analizar los datos estadísticos y la interpretación de los resultados, que fueron de mucha ayuda. Gracias.

*Al Dr. Alberto Sandoval Rangel,* Por ser parte del cuerpo de asesores de tesis.

*A mis amigos y compañeros,* Les doy las gracias por haber compartido esta casa de estudios y su amistad que me han brindado.

*A todos muchas gracias*

## DEDICATORIAS

### *A mis padres*

Este trabajo les dedico a mis padres con mucho amor, cariño, admiración e infinito agradecimiento. Por darme la confianza, comprensión y protección, por ser personas que tienen un gran espíritu de lucha y perseverancia, por estar en mi lado a pesar en los momentos más difíciles, enseñarme los buenos consejos y la humildad que nos guíe a un mejor persona, y que ellos siempre merecen mi respeto.

Gracias por darme la mejor herencia y apoyarme en todas las situaciones que me favorece. Le doy gracias a Dios por tenerlos, los quiero mucho.

### *A mi esposa*

A ti amor, por confiar conmigo, por tu gran apoyo y motivación a lo largo de este proyecto y por darme el regalo más preciado que me ha cambiado mi vida, nuestra hija.

### *A mi hija*

A ti mi bebe, eres la razón de mi ser por hacerme feliz desde tu llegada, eso me impulsa seguir preparándome cada día más y ser mejor en la vida.

### *A mis hermanos*

Con mucho amor y cariño. Por sus consejos, ánimos y motivación para salir adelante y cumplir mis objetivos. Al mismo tiempo agradecer el apoyo moral, económico e incondicional que siempre me han brindado y por confiar en mí, mil gracias hermanos, los quiero mucho.

*A este trabajo también le voy a dedicarles a mis: Abuelos, Tíos,  
Sobrinos, cuñados, etc. A todos.*

# ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>iii</b>
<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>iv</b>
<b>INDICE DE CONTENIDO.....</b>	<b>v</b>
<b>INDICE DE CUADROS.....</b>	<b>vi</b>
<b>INDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>vii</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>10</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>11</b>
Objetivo.....	13
Hipótesis.....	13
<b>REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>14</b>
Origen del tomate.....	14
Importancia económica.....	14
Clasificación taxonómica	15
Descripción botánica.....	15
Requerimientos edafoclimáticos .....	17
Plagas y enfermedades	18
Selenio en Plantas .....	18
Importancia del elemento.....	19
Absorción de selenio en plantas	21
Concentración en suelos y plantas.....	23
Estudios en plantas con Selenio .....	26
Biofertilización con <i>Azospirillum</i> .....	28
Bacterias promotoras de crecimiento de las plantas.....	29
Género <i>Azospirillum</i> .....	31
Características de <i>Azospirillum</i> .....	31

Clasificación taxonómica de <i>Azospirillum</i> .....	32
Fijación de Nitrógeno por <i>Azospirillum</i> .....	33
Importancia biológica de <i>Azospirillum</i> .....	33
Trabajo en hortalizas y gramíneas por <i>Azospirillum</i> .....	34
Como se aplica la Bacteria.....	36
Características agronómicas ó morfológicas.....	37
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	40
Localización del área experimental.....	40
Descripción del experimento.....	40
Descripción de tratamientos.....	42
Variables evaluadas.....	43
Diseño experimental y análisis estadístico.....	44
Modelo estadístico.....	44
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	45
<b>CONCLUSIÓN</b> .....	52
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	53
Anexos.....	59

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Componentes de la solución Steiner en miliequivalentes por litro.....	41
<b>Cuadro 2.</b> Descripción de los tratamientos que se aplicaron en el estudio de las plántulas de tomate saladette ( <i>Solanum lycopersicum</i> ), a los 8 días después de siembra.....	42
<b>Cuadro 3.</b> Prueba de comparación de medias de Duncan ( $p \leq 0.05$ ) de las variables de respuesta, inoculadas en tres concentraciones de <i>Azospirillum</i> y el testigo aplicado a plantas de tomate var. Río Grande, en invernadero.....	46
<b>Cuadro 4.</b> Prueba de comparación de medias de Duncan ( $p \leq 0.05$ ) de las variables de respuesta en tres concentraciones de selenio y el testigo aplicado a plantas de tomate var. Río Grande en invernadero.....	47
<b>Cuadro 5.</b> Efecto de la interacción Selenio* <i>Azospirillum</i> sobre la variable de respuesta en el cultivo de tomate saladette en invernadero.....	48
<b>Cuadro 1A.</b> Análisis de varianza de la variable altura de plantas con la aplicación de selenio y <i>Azospirillum</i> en plantas de tomate saladette var. Río Grande en invernadero.....	58
<b>Cuadro 2B.</b> Análisis de varianza del variable diámetro de tallo con aplicación de selenio y <i>Azospirillum</i> en plantas de tomate saladette var. Río Grande en invernadero.....	58

<b>Cuadro 3A.</b> Análisis de varianza del variable número de hojas con aplicación de selenio y <i>Azospirillum</i> en plantas de tomate saladette var. Río Grande en invernadero.....	58
<b>Cuadro 4A.</b> Análisis de varianza del variable peso fresco de planta con aplicación de selenio y <i>Azospirillum</i> en plantas de tomate saladette var. Río Grande en invernadero.....	59



## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ciclo del Selenio.....	22
<b>Figura 2.</b> Principales etapas de metabolismo del selenio en las plantas (Cyscisteína, metionina, DMSE-Dimethylseleniuro).....	23
<b>Figura 3.</b> Efecto de la interacción Selenio* <i>Azospirillum</i> sobre altura de planta. Las barras indican el error estándar de la media en respuesta a la interacción de los dos factores.....	49
<b>Figura 4.</b> Efecto de la interacción Selenio* <i>Azospirillum</i> sobre diámetro de tallo. Las barras indican el error estándar de la media en respuesta a la interacción de los dos factores.....	50
<b>Figura 5.</b> Efecto de la interacción Selenio* <i>Azospirillum</i> sobre el número de hojas. Las barras indican el error estándar de la media en respuesta a la interacción de los dos factores.....	50
<b>Figura 6.</b> Efecto de la interacción Selenio* <i>Azospirillum</i> sobre el peso fresco de la planta. Las barras indican el error estándar de la media en respuesta a la interacción de los dos factores.....	51

## RESÚMEN

Las bacterias *Azospirillum* clasificadas como bacterias promotoras del crecimiento vegetal son una alternativa en la agricultura orgánica, aunado a que no todas las plantas presentan un sistema antioxidante suficiente es necesaria la adición de Selenio para complementar su nivel, debido a que en suelos calcáreos no existe suficiente cantidad en forma disponible.

Por tal motivo, el presente estudio se llevó a cabo para conocer la respuesta de plántulas de tomate saladette (*Solanum lycopersicum* L.) con diferentes concentraciones de *Azospirillum* y selenio, en las variables agronómicas de altura de la planta, diámetro de tallo, número de hojas y peso fresco de la planta.

El experimento consistió en estudiar las combinaciones de las concentraciones de 0, 1, 5 y 10 ppm de selenio y diluciones de 0,  $10^4$ ,  $10^6$ , y  $10^8$  ufc  $\text{ml}^{-1}$  de *Azospirillum*, con 16 tratamientos y 9 repeticiones por tratamiento. Los datos obtenidos de esta investigación se analizaron con un diseño completamente al azar con arreglo factorial 4 x 4. Los resultados indican en la prueba de comparación de medias (Duncan  $P \leq 0.05$ ) que las concentraciones de *Azospirillum* de  $10^8$  y  $10^6$  ufc  $\text{ml}^{-1}$  se encontraron resultado de manera positiva en las plántulas, sin embargo en la combinación de 1ppm de selenio la planta puede mantener su normal crecimiento, mientras en la adición de 5 y 10 ppm de selenio afecta en general de manera negativa el crecimiento de las plántulas de tomate, por lo cual es recomendable aplicar en bajas concentraciones el selenio y para que las plantas puede mantener su crecimiento adecuado.

**Palabras clave:** *Azospirillum*, antioxidante, biofertilizante, fijador de nitrógeno, selenio, tomate.

## INTRODUCCIÓN

El cultivo de tomate es una de las principales hortalizas cultivadas en México y en todo el mundo y el sistema de producción puede ser a cielo abierto, directamente en el suelo, o en invernadero (Segura-castruita *et al.*, 2011). En México, el tomate es una de las especies hortícolas con gran trascendencia tanto en lo económico que se refleja en el valor que tiene la producción en la aportación de divisas a la balanza agropecuaria (COVECA, 2010) como en lo social que se mide por la cantidad de empleos generados durante el cultivo y comercialización de esta hortaliza (SIAP, 2014a). Los países de mayor producción incluyen a china con un 27%, Turquía 8%, India%, Egipto 6% y México 3%, entre otros (SIAP, 2007).

En México, el cultivo de tomate rojo durante el ciclo agrícola 2011-2012 se sembraron 55,888.04 Ha; con una Producción de 2,838,369.87 Ton y con un valor de producción 13,146,384.85 miles de pesos comprendido en este cultivo para estados cíclicos y perenes en la modalidad: Riego + Temporal (SIAP, 2014b).

La producción de plántulas con el uso de sustratos bajo ambientes controlados ha sido una alternativa útil para cultivos de alta importancia como el tomate, ya que ha permitido incrementar la productividad además de obtener un producto de mejor calidad, el cual puede ser obtenido con un uso más racional y reducido de los insumos y como consecuencia, un menor daño ambiental (Bracho, 2005). Por ello, las bacterias promotoras de crecimiento en plantas (BPCP) son una alternativa por la capacidad de penetrar y proliferar en el interior de las raíces, y de este órgano trasladarse a través del sistema vascular, y sin causar daño, establecerse y desarrollar poblaciones endófitas en los tejidos radiculares. Las BPCP favorecen el crecimiento de las plantas a través de diferentes mecanismos entre los que se destaca la fijación biológica de nitrógeno. La síntesis de fitohormonas como las auxinas, particularmente el

ácido indol acético, promueven el crecimiento de las raíces y la proliferación de pelos radicales, mejorando la absorción de agua y minerales del suelo y en consecuencia un mayor desarrollo de la planta (Caballero-Mellado 2006). Según (Cassán *et al.*, 2009) ciertas bacterias, pueden mejorar la germinación de semillas a través de la producción y liberación de algunas sustancias reguladoras del crecimiento. El *Azospirillum* constituye la piedra angular de las investigaciones relacionadas con la rizosfera (Bashan *et al.* 2004, Vessey 2003), absorción de nutrientes y rendimiento en cultivos de importancia agrícola.

Otro de los factores importantes para las plantas es el Selenio (Se), un elemento mineral natural, ampliamente distribuido en la naturaleza en la mayoría de las rocas y suelos; en forma pura existe como cristales hexagonales gris metálicos a negros, pero en la naturaleza generalmente está combinado con sulfuro o con plata, cobre, plomo y níquel (ATSDR, 2003).

Las raíces de las plantas pueden absorber “selenio” en forma de Selenato ó Selenito y también compuestos de “selenio” orgánicos, por ejemplo, Selenocisteína (Sec) y Selenometionina (SeMet). El selenio no está disponible para las plantas en forma de coloides “selenio” elemental o metal seleniuros (White & Broadley, 2009). Sin embargo, se puede incrementar la concentración en las plantas cultivadas en suelos deficientes en “selenio”, para mejorar la nutrición humana y animal (Cakmak, 2008). Para la mayoría de la población en el mundo, y el ganado, las plantas son la fuente principal de “selenio” en la dieta (Rayman, 2008). El “selenio” en las plantas induce el incremento de las enzimas que desintoxican H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> especialmente ascorbatoperoxidasa (APX) y glutatión peroxidasa (GPX), aumentando la concentración foliar de compuestos antioxidantes tales como ascorbato (ASA) y glutatión (GSH). y también puede disminuir el riesgo de cáncer (Hasanuzaman *et al.*, 2010).

## **OBJETIVO**

Encontrar la concentración de selenio y *Azospirillum* que provoquen un mejor desarrollo en plántulas de tomate Saladette (*Solanum lycopersicum L.*)

## **HIPÓTESIS**

Al menos una de las combinaciones de *Azospirillum* y selenio (Se) tiene efectos positivos en las características morfológicas de las plántulas de tomate Saladette (*Solanum lycopersicum L.*).

# REVISIÓN DE LITERAURA

## El Tomate (*Solanum lycopersicum L.*)

### Origen

El jitomate es originario de la América del Sur, de la región andina, particularmente de Perú, Ecuador, Bolivia y Chile. Sin embargo, su domesticación fue llevada a cabo en México. El nombre de jitomate procede del náhuatl *xictli*, ombligo y *tomatl*, tomate, que significa tomate de ombligo(COVECA, 2010).

### Importancia económica

El Tomate es la hortaliza más difundida en todo el mundo y la de mayor valor económico. Su demanda aumenta continuamente y con ella su cultivo, producción y comercio. El incremento anual de la producción en los últimos años se debe principalmente al aumento en el rendimiento y en menor proporción al aumento de la superficie cultivada. Es una de las especies hortícolas de gran importancia económica y nutricional; presenta altos contenido de vitamina C, hierro y vitamina A. Pocos productos agrícolas se presentan para tantos usos como el jitomate, debido a que se le puede usar como ingrediente en la cocina y consumo en fresco y procesado en forma de pasta, salsa, jugo, o polvo (COVECA, 2010).

Entre las diferentes variedades que se producen en México, se encuentra el tomate rojo Saladette, tomate bola, cherry, tomate verde y otras variedades como el criollo que es tan pequeño como una uva y crece en distintas selvas del país. Comparado con otros vegetales, los frutos de tomate son menos perecederos y resistentes a daños de transporte (Berenguer, 2003).

Durante el año 2010 hasta el mes de octubre se comercializaron dos millones de toneladas a nivel mundial ocupando México el primer lugar de exportación de tomate con dos millones de toneladas y un ingreso de doce mil 700 millones de pesos anuales (Cazares, 2010).

De acuerdo al avance del reporte de siembras y cosechas nacionales del total de la producción de tomate rojo en condiciones controladas y a campo abierto de riego mas temporal en año agrícola 2012, se tiene registradas un total de 2,838,369.87toneladas, de las cuales Sinaloa es el estado que encabeza la producción nacional con un total de 1,039,367.64toneladas de tomate, le sigue Baja california con 189,635.96, Michoacán 171,038.52, Jalisco,

Zacatecas y San Luis Potosí con 156,660.03 139,131.08 y 116,136.93 toneladas producidas respectivamente (SIAP, 2014a)

### **Clasificación taxonómica**

El tomate común es una planta dicotiledónea de la familia de las solanáceas, que comprende de la patata, el tabaco y la petunia, así como la hierbamora, belladona y otras plantas venenosas. La taxonomía aceptada es la siguiente (Foolad, 2007):

**REINO:** *Plantae*

**Subreino:** *Traqueobinta*

**Superdivisión:** *Spermatophyta*

**Clase:** *Magnoliopsida*

**Subclase:** *Asteridae*

**Orden:** *Solanales*

**Suborden:** *Solanineae*

**Familia:** *Solanaceae*

**Género:** *Solanum*

**Especie:** *Lycopersicum*

### **Descripción botánica**

#### **Planta**

El tomate es una planta perteneciente a la familia de las solanáceas, Perenne de porte arbustivo que se cultiva como anual. Puede desarrollarse de forma rastrera, semierecta 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. Seccionando transversalmente la raíz principal y de fuera hacia dentro encontramos: epidermis, donde se ubican los pelos absorbentes especializados en tomar agua y nutrientes, cortex y cilindro central, donde se sitúa el xilema (conjunto de vasos especializados en el transporte de los nutrientes).

## **Tallo principal**

Eje con un grosor que oscila entre 2-4 cm en su base, sobre el que se van desarrollando hojas, tallos secundarios (ramificación simpoidal) e inflorescencias. Su estructura, de fuera hacia dentro, consta de: epidermis, de la que parten hacia el exterior los pelos glandulares, corteza o cortex, cuyas células más externas son fotosintéticas y las más internas son colenquimáticas, cilindro vascular y tejido medular. En la parte distal se encuentra el meristemo apical, donde se inician los nuevos primordios foliares y florales.

## **Hoja**

Compuesta e imparipinnada, con foliolos peciolados, lobulados y con borde dentado, en número de 7 a 9 y recubiertos de pelos glandulares. Las hojas se disponen de forma alternativa sobre el tallo. El mesófilo o tejido parenquimático está recubierto por una epidermis superior e inferior, ambas sin cloroplastos. La epidermis inferior presenta un alto número de estomas. Dentro del parénquima, la zona superior es empalizada, es rica en cloroplastos. Los haces vasculares son prominentes, sobre todo en el envés, y constan de un nervio principal.

## **Flor**

Es perfecta, regular e hipogina y consta de 5 o más sépalos, de igual número de pétalos de color amarillo y dispuestos de forma helicoidal a intervalos de  $135^\circ$ , de igual número de estambres soldados que se alternan con los pétalos y forman un cono estaminal que envuelve al gineceo, y de un ovario bi o plurilocular. Las flores se agrupan en inflorescencias de tipo racemoso (dicasio), generalmente en número de 3 a 10 en variedades comerciales de tomate calibre M y G; es frecuente que el eje principal de la inflorescencia se ramifique por debajo de la primera flor formada dando lugar a una inflorescencia compuesta, de forma que se han descrito algunas con más de 300 flores. La primera flor se forma en la yema apical y las demás se disponen lateralmente por debajo de la primera, alrededor del eje principal. La flor se une al eje floral por medio de un pedicelo articulado que contiene la zona de abscisión, que se distingue por un engrosamiento con un pequeño surco originado por una reducción del espesor del cortex. Las inflorescencias se desarrollan cada 2-3 hojas en las axilas.



## **Frutos**

Baya bi o plurilocular que puede alcanzar un peso que oscila entre unos pocos miligramos y 600 gramos. Está constituido por el pericarpo, el tejido placentario y las semillas. El fruto puede recolectarse separándolo por la zona de abscisión del pedicelo, como ocurre en las variedades industriales, en las que es indeseable la presencia de parte del pecíolo, o bien puede separarse por la zona peduncular de unión al fruto (COVECA, 2010).

## **Requerimientos edafoclimáticos**

### **Temperatura**

La temperatura influye en todas las funciones vitales como son la transpiración, fotosíntesis, germinación, etc. Es una planta de clima cálido que requiere de mucho calor teniendo cada especie vegetal y en cada momento de su ciclo biológico una temperatura óptima para su crecimiento. (Rodríguez *et al.*, 2006). La temperatura óptima de desarrollo se sitúa en 23°C durante el día y entre 13-17°C durante la noche (SAGARPA, 2010)

### **Humedad**

La humedad relativa óptima para el desarrollo del tomate oscila entre 60 y 80 % (Rodríguez *et al.*, 2006).

### **Luminosidad**

Niveles de radiación diaria alrededor de 0.85 MegaJoules por metro cuadrado, son los mínimos para la floración y cuajado (SAGARPA, 2010)

### **Suelo**

La planta de tomate se puede cultivar en cualquier tipo de suelo, pero se prefieren suelos profundos, margosos y bien drenados. Lo ideal es un suelo ligeramente ácido, con un pH de 6.2 a 6.8 (SAGARPA, 2010)

## Plagas y enfermedades

### Las plagas más comunes

**Mosca blanca.** Transmite el virus del rizado amarillo del tomate conocido como “virus de la cuchara”.

**Trips.** Transmite el virus del bronceado del tomate.

**Pulgón.** Forman colonias y se distribuyen mediante las hembras aladas, principalmente en primavera y otoño.

**Minadores de hoja.** Sus larvas se desarrollan dentro de la hoja, ocasionando las galerías o minas. Polilla del tomate. Ataca a los brotes y los frutos.

**Araña Roja.** Son ácaros que producen manchas amarillentas en las hojas.

### Enfermedades más comunes

**Oidiopsis.** Son manchas amarillas que secan la hoja y la desprenden.

**Podredumbre gris.** Produce lesiones pardas en hojas y flores. Los frutos se ponen blandos y grises.

**Mildiu.** Aparecen machas irregulares y aceitosas en las hojas, en el tallo son manchas pardas que lo circundan. También ataca los frutos inmaduros.

**Fusarium oxysporum.** Comienza con la caída de las hojas superiores. Las inferiores amarillean y terminan por morirse. En un corte transversal del tallo, se observa un oscurecimiento de los vasos (SAGARPA, 2010).

## Selenio en plantas

El selenio (Se) fue descubierto por el químico sueco Jöns Jacob Berzelius en 1817. Al principio fue considerado un elemento tóxico presente en las minas y fijado en el suelo por las plantas. Hasta 1957 el “selenio” fue reconocido como un elemento esencial en varias formas de vida (Hatfield *et al.*, 2006).

Se clasifica como un metaloide que se encuentra entre el azufre y el telurio en el Grupo VIA y entre el arsénico y el bromo. El Se se parece mucho al azufre en propiedades químicas con respecto al tamaño atómico, energías de enlace, los potenciales de ionización y afinidades electrónicas. La principal diferencia entre dos estos elementos es que el “selenio” existe como forma reducida cudivalente mientras que el azufre se produce como forma tetravalente oxidado. Debido que “selenio tiene una concentración de ácido más fuerte, como compuestos selenol (R- SeH) se disocian fácilmente a pH fisiológico, ya que son importantes por su papel en la reacción catalítica. Se puede también existir en varios estados de oxidación y formando diferentes compuestos orgánicos de selenio (dedimetilo, trimethyselenium) y aminoácidos (selenometionina, selenocisteína) en lugar de azufre (Tinggi,2003). El selenio se encuentra en cantidades traza en los organismos biológicos en formas orgánicas e inorgánicas, y la selenocisteína (Sec) es la más importante. Las plantas captan Se del suelo en su forma inorgánica. El metabolismo del “selenio” converge a la forma de seleniuro ( $H_2Se$ ), qué es utilizado en la biosíntesis de la selenocisteína (Sec) (Cañari, 2011).

### **Importancia del elemento**

Los primeros estudios con selenio en seres vivos fueron en la década de los 50 por Schawarz y Foltz en 1957 se consideró como un elemento esencial para muchos organismos, incluyendo plantas, animales y seres humanos (Zhu *et al.*, 2009),debido a su papel en una enzima antioxidante glutatión peroxidasa (GSHPx). Esta enzima protege las membranas celulares contra el daño causado por la peroxidación de los lípidos (Tinggi, 2003). Como constituyente de las selenoproteínas, el selenio juega un papel estructural y enzimático. Además de su esencial papel como antioxidante, con sus trascendentales implicaciones protectoras contra los radicales libres, el selenio también actúa como catalizador para la producción de hormona activa tiroidea y es necesario para el funcionamiento del sistema inmune. El déficit de este elemento se

asocia a la aparición de trastornos del ánimo y una ingesta mejorada parece asociarse con una reducción del riesgo de cáncer (Margaret and Rayman, 2000).

A nivel mundial, el interés en los efectos biológicos de “selenio” en las cadenas de medio ambiente y de los alimentos es cada vez mayor, ya que es un micronutriente esencial para muchos organismos (Terry, *et al.*, 2000), es un alimento beneficioso para muchas plantas (Lyons *et al.*, , 2009), Sin embargo, para la mayoría de la gente en todo el mundo, así como para el ganado, “selenio” en las plantas son la fuente principal de la dieta (Rayman, 2008). Según Hamilton, 2004, el Se cuenta con tres niveles de actividad biológica: concentraciones traza son necesarios para el normal crecimiento y desarrollo, concentraciones moderadas puede ser almacenado para mantener las funciones homeostáticas y concentraciones elevadas puede dar lugar a tóxicos efectos. Estudios sobre el raigrás (*Lolium perenne*) y lechuga (*Lactuca sativa*) indican que el Se es perjudicial para las plantas en altas concentraciones >10 y 1,0 mg/kg, respectivamente (reducción de la biomasa), que pueden ejercer efectos beneficiosos en bajas concentraciones, es decir, 0,1 mg kg<sup>-1</sup> de suelo.

Recientes investigaciones han demostrado que él Se promueve el crecimiento y el desarrollo de las plantas, aumenta la resistencia y la capacidad antioxidante de plantas sometidas a estrés. Investigaciones realizadas por (Xue, *et al.*, 2001) y por Djanaguiraman *et al.* 2005 con “selenio” en forma de selenato provocan la senescencia en la lechuga y la soja, lo que confirma que la caída de la actividad de enzimas antioxidantes fue más leve en las plantas tratadas con este elemento, compensando el daño oxidativo al aumentar el crecimiento de las plantas tratadas.

La importancia en la bioquímica del “selenio” es el único elemento traza especificado en el código genético a través de la selenocisteína (Schomburg,

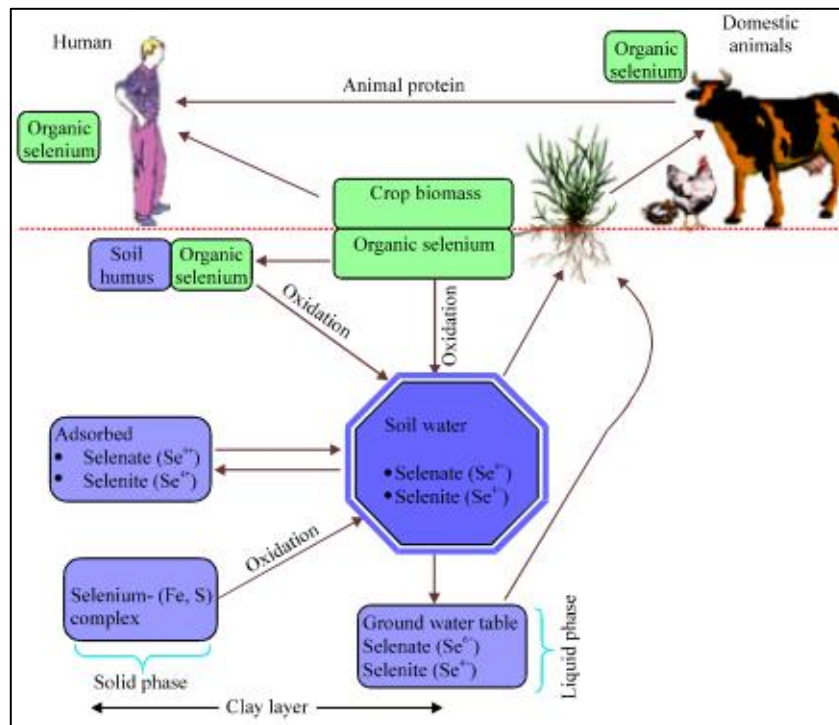
Schweizer, & Kohrle, 2004), el cuál es secundario a las denominadas selenoenzimas. Actualmente, se conocen aproximadamente 35 selenoenzimas; las cuáles contienen un residuo de selenocisteína en su sitio activo y el “selenio” es el cofactor enzimático (Dodig & Cepelak, 2004).

### **Absorción de Selenio en las plantas**

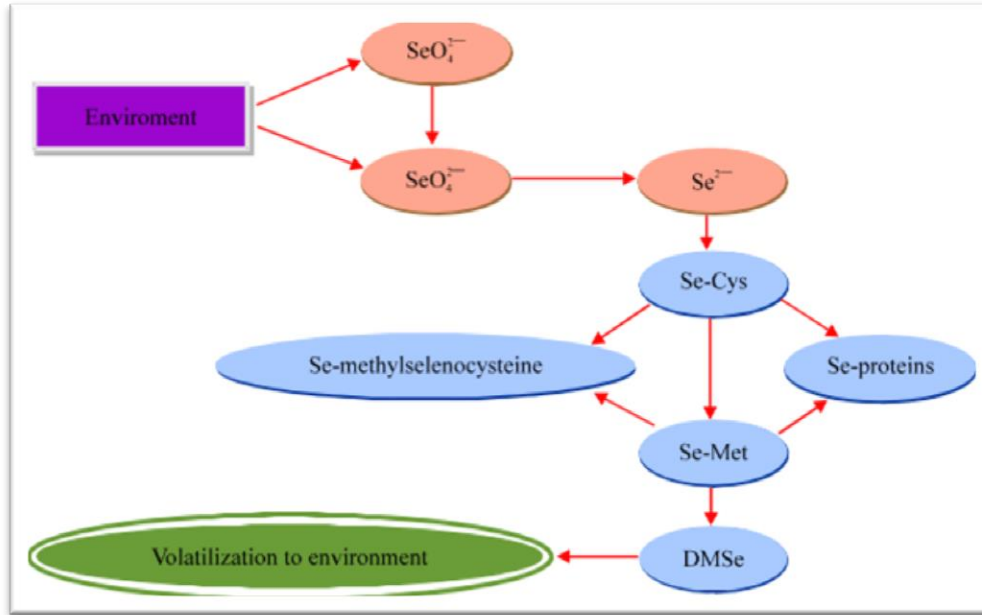
Las raíces de las plantas pueden absorber “selenio” en forma de selenato, selenito y compuestos de “selenio” orgánicos, por ejemplo, selenocisteína y selenometionina (SeMet) Figura 2. Dependiendo de la concentración de “selenio” se utiliza, puede ejercer un efecto doble sobre el crecimiento de la planta (White & Broadley, 2009).

En las plantas alimentadas con selenato, el “selenio” se transloca rápidamente a la filmación y es la especie predominante en la savia del xilema (Li, McGrath, & Zhao, 2008). Por el contrario, las plantas tratadas con selenito, la mayor parte de “selenio” queda en las raíces, y con poco selenito se detectó en la savia del xilema (Li *et al.*, 2008). Así, en general, la translocación de “selenio” en la raíz a mover es menor en las plantas alimentadas con selenito que las alimentadas con selenato (Li *et al.*, 2008). Sin embargo, selenato entra en las células de raíz activamente contra un gradiente de potencial electroquímico a través de los transportadores de sulfato en las membranas plasmáticas de las células de la raíz (Sors, Ellis, & Salt, 2005). La evidencia reciente sugiere que la absorción de selenito puede estar mediada por transportadores de fosfato (Li *et al.* 2008) y que la captación selenato y selenito puede mejorarse con azufre y las plantas sometidas a deficiencias de fósforo (P), respectivamente. De acuerdo con Li *et al.* 2008 la selenita se convirtió rápidamente en formas orgánicas en las raíces, lo que limitó la translocación de brotes. El “selenio” que se convierte en forma orgánica en los brotes se piensa que es redistribuido dentro de las plantas a través del floema de una manera análoga al azufre (White & Broadley, 2009).

Las interacciones con elementos mayores y traza en el suelo (óxidos de Fe, Al y Mn e hidróxidos) también son importantes para la absorción por la planta (Cuvardic, 2003), y los factores relacionados con plantas tales como la especie, variedad, etapa de crecimiento y partes de plantas comestibles son más importantes, pero su influencia también está limitada por las concentraciones relativamente bajas del suelo. Las condiciones climáticas como la temperatura, la humedad del aire y la humedad del suelo, pH son de primordial importancia para la transferencia de “selenio” dentro de la planta. De hecho, el clima afecta a la disponibilidad de agua en los suelos, controla las condiciones redox, influye en la cantidad de materia orgánica mediante la regulación de los procesos de oxidación y se correlaciona con la deposición húmeda atmosférica de “selenio” a través de la precipitación (Spadoni *et al.*, 2007), presentes en el ciclo del selenio de la Figura 1..



**Figura 1.** Ciclo del Selenio (Bureau, 1985).



**Figura 2.** Principales etapas de metabolismo del selenio en las plantas (Cyscisteína, metionina, DMSE-Dimethylseleniuro) (Dumont *et al.*, 2006).

### Concentración en suelos y plantas

El “selenio” metaloide es ubicuo en el medio ambiente, y su concentración en la mayoría de los suelos varía de 0.01 a 2.0 mg kg<sup>-1</sup>, con una media de ~ 0.4 mg kg<sup>-1</sup>, sin embargo, concentraciones más altas (> 10 mg kg<sup>-1</sup>) puede ocurrir en áreas seleníferas (Fordyce, 2005). El selenio puede encontrarse igual que el S, como selenuro (Se<sup>2-</sup>), selenio elemental (Se<sup>0</sup>), ambas insolubles y selenito (Se<sup>4+</sup>) y selenato (Se<sup>6+</sup>), solubles (Broadley *et al.*, 2006). Las formas oxidadas de Se se encuentran en suelos alcalinos y las formas reducidas en suelos ácidos y aguas continentales y marinas. Por lo tanto hay concentraciones ≥1200 mg Se kg<sup>-1</sup>, en suelos seleníferos (Fordyce, 2005). En México fue encontrado el selenio en el suelo en bajas concentraciones de hasta 0.05 mg kg<sup>-1</sup> (Ramírez-Bribiesca, *et al.*, 2001). Estudios sobre el raigrás (*Lolium perenne*) y lechuga (*Lactuca sativa*) mostró que, a pesar de que el Se es perjudicial para las plantas en altas concentraciones >10 y 1,0 mg/kg, respectivamente reducen la biomasa, en concentraciones de 0.1 mg/kg pueden ser benéficos en bajas concentraciones (Xue *et al.*, 2001).

Sin embargo, Singh *et al* (1980), demostraron que la aplicación de  $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$  en forma de selenito, estimula el crecimiento y rendimiento de materia seca de mostaza india (*Brassica juncea L.*). Más recientemente, se reveló que la Se, aplicado a bajas concentraciones, se mejora el crecimiento y la capacidad antioxidante en plantas mono-y dicotiledóneas. La respuesta que promueven el crecimiento de selenio se ha demostrado en la lechuga y el raigrás (*Lolium perenne L.*) y en la soja (*Glycinemax L.*). Por otro lado, (Djanaguiraman *et al.*, 2005) han demostrado también su efecto sobre la germinación. Carvalho *et al* (2003) informó de que un suplemento superior a  $29 \text{ mg kg}^{-1}$  de suelo, inhibió el crecimiento y la germinación de (*Raphanus sativus L.*) de semillas de tomate, lechuga y rábano. Los efectos positivos sobre la germinación fue vinculado a la actividad antioxidante. Sin embargo la mayoría de los cultivos, entre ellos el tomate, no acumulan selenio, es decir, son plantas para las cuales más de  $25 \mu\text{g}$  de selenio/1 g de peso seco de raíces y hojas resulta tóxico (White *et al.*, 2004). Esta puede manifestarse a través de estrés oxidativo considerando la habilidad pro-oxidante del selenio o por sustitución competitiva del azufre en las proteínas (Hartikainen, Xue, & Piironen, 2000).

La aplicación foliar, realizado manualmente en las plantas, es la forma más adecuada para añadir "selenio", ya que la contaminación del suelo es mínima. La aplicación foliar de la cebada a 10 y 20 gramos de  $\text{Se ha}^{-1}$ , en forma de selenato de sodio, incrementó el contenido de "selenio" del grano de cebada y la paja y el forraje de trébol rojo. Un efecto estimulante de la aplicación foliar de "selenio" en el crecimiento se ha realizado en raigrás, la papa y el té verde. (Turakainen *et al.*, 2004).

La aplicación de selenio en alta concentración tuvo un efecto negativo sobre el peso de la raíz y de tallos y hojas, en el sustrato perlita en donde las plantas tratadas mostraron de forma constante hojas cloróticas. Sin embargo la aplicación foliar de selenio en concentraciones de 10 y 20  $\text{mg L}^{-1}$  resultó



positiva para tallos y hojas así como para el peso seco y contenido de materia seca de los frutos (Benavides-Mendoza *et al.*, 2011).

Mientras tanto, algunas plantas hiperacumuladoras son capaces de acumular 1.000 a 10.000 mg Se kg PS<sup>-1</sup> cuando se cultiva en suelos seleníferos (Zhu *et al.*, 2009). Y solo se reproducen en suelos seleníferos (Terry *et al.*, 2000). Se caracterizan por una alta concentración de “selenio” en la hoja, un alto contenido de “selenio” y azufre, y “selenio” en la raíz (White *et al.*, 2007), lo que indica la regulación alterada de sulfato y / o transportadores selenatos y la presencia de transportadores específicos.

El hombre ingiere el selenio en forma de selenometionina y selenocisteína, siendo ésta última forma en que el selenio se encuentra en las selenoproteínas y la de mayor biodisponibilidad (Dietary Reference Intakes, 2001). La cantidad de ingesta en humanos puede variar de 10 µg por día en áreas con bajo contenido de selenio en el suelo, a 5000 µg diarios en donde se tienen suelos seleníferos. El valor de referencia de consumo de selenio es de 60 a 75 µg por día según datos de 1980 del US Food and Nutrition Board (Broadley *et al.*, 2006) La principal fuente de “selenio” es la dieta, y en muchas regiones del mundo los niveles de “selenio” en los suelos generalmente reflejan el estado de “selenio” en las poblaciones humanas. En los alimentos, la biodisponibilidad y la toxicidad de “selenio” dependen de sus formas químicas. En general, las formas orgánicas de “selenio” son más biodisponibles y menos tóxicos que las formas inorgánicas selenitos y selenatos (Tinggi, 2003). Las concentraciones de “selenio” en los alimentos vegetales, como el arroz (*Oryza sativa*) y el trigo (*Triticum aestivum*), pueden variar mucho entre países y regiones, por lo que, para evitar la deficiencia y la toxicidad, es importante monitorear y optimizar los cultivos en concentraciones de “selenio”.

El pH del suelo afecta de manera la concentración de “selenio” a la cosecha. Las verduras se cultivan principalmente en franco arenoso o suelos arenosos y dichos suelos son en general más ácidos (Chilimba *et al.*, 2011)

encontraron una fuerte significativa correlación entre el “selenio” en el grano de maíz y el pH del suelo a  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}} > 6,5$ , especialmente calcáreos Éútrico Vertisoles, pero sólo había una correlación débil en los suelos más ácidos.

### **Estudios en plantas con selenio**

(Dhillon & Dhillon, 2009) estudiaron la acumulación de selenio por algunos cultivos de hortalizas comúnmente cultivadas en el Indian Punjab. Once cultivos de hortalizas se suscitaron en un suelo franco arcilloso alcalino tratada con tres niveles deselenato-Se, 0, 1.25, 2.5 y 5.0  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de suelo. La mayor cantidad de Se fue absorbida por la parte comestible del rábano y la más baja en cebolla de bulbo. La papa y espinacas fueron tolerantes, mientras que el rábano, el nabo y la berenjena eran sensibles a altos niveles de selenato-Se en el suelo. Partes comestibles de los cultivos de hortalizas cultivadas en más de 1.25  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ -Se selenato suelo contendrán suficiente Se para causar síntomas de toxicidad y la reducción del rendimiento. Todos los cultivos de hortalizas, excepto zanahoria, patata y cebolla podrían absorber 20-40  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de Se por porciones comestibles (peso seco) en 1.25  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  selenato-Se del suelo y por lo tanto son potencialmente adecuados para su uso como la suplementación con “selenio” en la dieta de los seres humanos en las regiones con deficiencia de Se.

Bitterli *et al.*, 2010, encontraron que la influencia de los parámetros del suelo en la absorción de “selenio” por las plantas con una Solución nutritiva en hidroponia, cuando se agrega como selenato se incrementa el número de brotes y” en las raíces fue cuando se añade en forma de selenito

Benavides-Mendoza *et al.*, 2011, estudiaron el efecto de la aplicación de selenito de sodio, en el riego y por aspersion foliar, sobre la acumulación de selenio en el fruto, tallos y hojas de tomate en invernadero. Se verificó el efecto sobre el crecimiento de la planta, el rendimiento y la capacidad antioxidante total (TAS) de los frutos. El selenio en 10 y 20  $\text{mg L}^{-1}$  en la solución nutritiva

causó un efecto negativo en la biomasa, con acumulación de selenio en raíz, tallo y hojas  $>15 \mu\text{gg}^{-1}$ .

Boldrin *et al.* 2013, evaluaron el efecto de diferentes formas y fuentes de aplicación de “selenio” en el crecimiento de arroz, los resultados muestran que la aplicación selenato al suelo es más eficaz para disparar la producción de materia seca y la acumulación de grano de “selenio” que el selenito. La aplicación foliar de tanto selenato y selenito aumentó el rendimiento de grano.

Djanaguiraman *et al.* 2005, Pusieron a prueba su capacidad para contrarrestar el estrés oxidativo relacionado senescencia en la soja se llevó a cabo un experimento de cultivo en macetas. Aumento significativo de la actividad de la enzima antioxidante se relaciona positivamente con el contenido de Se. La disminución de enzimas antioxidantes en 90 días después de la siembra (DAS)era mucho más rápido en las plantas de control que las plantas pulverizadas con “selenio”. La reducción de la superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GSH-Px) puede estar asociada con el estallido oxidativo inducido por senescencia.

(Ramos *et al.*, 2010) en lechuga, han demostrado que el contenido de “selenio” en estos cultivos aumentó con la introducción de este elemento a través de la fertilización, lo que permite una mayor ingesta de “selenio” por la población y para la salud humana.

Durán *et al.* 2013) encontraron que Cultivos de cereal que se produce en el sur de Chile Andisol proporcionan niveles subóptimos de este metaloide para la dieta humana. Ciertos microorganismos de la rizosfera, tales como rizobacterias y hongos micorrícicos arbusculares pueden aumentar la absorción de selenio en las plantas. co-inoculación de cepas nativas selenobacterias (*Stenotrophomonas sp.* B19, *Enterobacter sp* B16, *Bacillus sp.* R12 y *Pseudomonas sp.* R8), tanto individualmente como en mezcla, como fuente selenonanosphere con un hongo micorriza arbusculares

(*Glomusclaroideum*). El contenido de selenio en el grano de trigo se incrementó en casi un 23% con la co-inoculación de mezcla selenobacteria (*Stenotrophomona* sp. B19, *Enterobacter* sp. B16, *Bacillus* sp R12. Y *Pseudomonas* sp. R8) y hongos micorrícicos arbusculares (*Glomus claroideum*) en comparación con las plantas no micorrizadas. Esta asociación microbiana representa estrategia prometedora para la biofortificación de plantas de trigo para producir harina enriquecida con Se para complementar los alimentos de consumo humano.

### **Biofertilización con *Azospirillum***

Con el uso y manejo de biofertilizantes en la agricultura, uno de los principales problemas es el desconocimiento de las especies presentes en los agroecosistemas y en la rizosfera de los cultivos, lo que dificulta para su posible utilización. Desde el punto de vista ecológico, es importante conocer los integrantes de la comunidad bacteriana que favorecen su aplicación como inoculantes y propician un efecto agrobiológico positivo en los cultivos agrícolas (Alfonso, 2005).

Entre los beneficios del uso de microorganismos en la agricultura están su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, la descomposición de residuos orgánicos, la desintoxicación con plaguicidas, la supresión de enfermedades en las plantas, el aporte de nutrientes al suelo y la producción de compuestos bioactivos como vitaminas y hormonas que estimulan el crecimiento de las plantas (Martínez, 2002).

En el grupo de rizobacterias promotoras del crecimiento Vegetal (RPCV), *Azospirillum* sp. es considerado un sistema modelo para el estudio de la asociación entre bacterias y plantas que no nodulan, es (promisorio como inoculante para plantas; ya que se pueden establecer en el la rizosfera (Burdman, Jurkevitch y Okon, 2000).

En un estudio fueron seleccionados cinco rizobacterias (*Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus* y *Streptomyces*), encontrando que el género dominante fue el *Azospirillum* sp, en el crecimiento, desarrollo y rendimiento en el cultivo del tomate. La inoculación artificial de esta rizobacteria causó un efecto positivo sobre el crecimiento de las plántulas, así como en el estado nutricional, con un rendimiento agrícola superior a un 11% con respecto a las plantas testigo. En general se obtuvo un alto nivel poblacional en la rizosfera de las plantas inoculadas (Alfonso, 2005).

### **Bacterias promotoras de crecimiento de las plantas**

Son bacterias que forman un grupo de diferentes especies de bacterias que ayuda el incremento del crecimiento de las plantas, entre los organismos más conocidos están permanentes a los Géneros *Rhizobium*, *Pseudomonas* y *Azospirillum*. Las BPCP se pueden clasificar en 2 grupos, la primera son promotoras de crecimiento en plantas donde la planta afecta a las plantas suprimiendo a otros microorganismos, Los mecanismos que estas bacterias utilizan pueden ser a través de su propio metabolismo (solubilizando fosfatos, produciendo hormonas o fijando nitrógeno), afectando directamente el metabolismo de la planta (incrementando la toma de agua y minerales), mejorando el desarrollo radicular, incrementando la actividad enzimática de la planta o “ayudando” a otros microorganismo benéficos para que actúan de mejor manera sobre las plantas. La segunda tiene la capacidad de control biológico las cuales promueven el crecimiento de las plantas al suprimir los patógenos (Bashan y Holguin, 1998).

Rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas son las bacterias del suelo que habitan alrededor de / sobre la superficie de la raíz y están directa o indirectamente involucrados en la promoción del crecimiento de las plantas y el desarrollo a través de la producción y secreción de diversas sustancias químicas reguladoras en las proximidades de la rizosfera .Generalmente , crecimiento de las plantas rizobacterias que promueven facilitar el crecimiento

de las plantas , ya sea directamente por la asistencia en la adquisición de recursos (nitrógeno, fósforo y minerales esenciales) o la modulación de los niveles de hormona de la planta, o indirectamente por la disminución de los efectos inhibidores de diversos patógenos en crecimiento de la planta y el desarrollo en las formas de agentes de control biológico . Varios estudios han documentado el aumento de la salud y la productividad de diferentes especies de plantas mediante la aplicación de la promoción de crecimiento de las plantas bajo condiciones normales y de estrés. Las rizobacterias benéfica de las plantas pueden reducir la dependencia mundial de los productos químicos agrícolas peligrosos que desestabilizan los agroecosistemas. Esta opinión acentúa la percepción de la rizosfera y promotoras del crecimiento vegetal rizobacteria bajo las perspectivas actuales. Además, las perspectivas explícitas sobre los diferentes mecanismos de rizobacterias la promoción del crecimiento de plantas mediada se han descrito en detalle con el reciente desarrollo y la investigación. Finalmente , los últimos paradigmas de la aplicabilidad de estas rizobacterias benéficas en diferentes agroecosistemas se han presentado ampliamente en condiciones normales y de estrés para poner de relieve las recientes tendencias con el objetivo de desarrollar perspectivas futuras (Ahemad & Kibret, 2013), Diferentes géneros bacterianos son componentes vitales de los suelos. Ellos están involucrados en diversas actividades bióticos del ecosistema del suelo para que sea dinámico para a su vez más de los nutrientes y sostenible para la producción de cultivos (Ahemad *et al*, 2009;. Chandler *et al*, 2008.). Estimulan el crecimiento de plantas a través de la movilización de nutrientes en los suelos, produciendo numerosos reguladores del crecimiento vegetal, la protección de plantas a partir de fitopatógenos mediante el control o la inhibición de ellos, mejorar la estructura del suelo y bioremediación de suelos contaminados mediante el secuestro de las especies de metales pesados tóxicos y compuestos x enobióticos degradantes (como pesticidas) (Ahemad, 2012).

Además de su aplicación directamente en agricultura, *Azospirillum* se ha convertido en un excelente modelo para los estudios genéticos de bacterias asociadas a plantas en general. El mayor volumen de literatura sobre

*Azospirillum* consiste en estudios genéticos en casi todos los aspectos de la bacteria, y su asociación con las plantas. Debido a esto, *Azospirillum* constituye la piedra angular de las investigaciones relacionadas con la rizosfera, a pesar de su cuestionable aplicación en campo. Adicionalmente, aplicaciones diferentes a la agrícola, como la producción de poli-beta-hidroxibutirato para usos médicos, degradación de contaminantes, producción de vitaminas y tratamiento de aguas residuales, están introduciéndose lentamente (Bashan *et al.*, 2004).

### **El género *Azospirillum***

La primera especie de *Azospirillum* fue aislada en Holanda por (Beijerinck, 1925) a partir de suelos arenosos pobres en nitrógeno, y originalmente se llamó *Spirillum lipoferum*, pero durante 50 años el autor fue ignorado, hasta que fue descubierto en Brasil por (Bulow y Dobereiner 1975; Day y Dobereiner 1976). Después (Tarrand, *et al.* 1978) propusieron a *Azospirillum* como género con base en diferencias morfológicas y fisiológicas entre varias cepas y en experimentos sobre homología del ADN. Estas bacterias son bacilos ligeramente curvados a menudo con puntos en los extremos, Gram negativos, móviles, es microaerófilas con diámetro celular es de 1  $\mu\text{m}$  y pH de crecimiento entre 6.8 y 7.8 (Madigan y Parker, 1999). Actualmente son reconocidas siete especies aunque las más comunes son *Azospirillum lipoferum*, y *A. Brasilense* (Ecker, *et al.*, 2001). Esta bacteria puede ser de vida libre o asociada con las raíces de los cereales, pastos y plántulas tuberosas. *Azospirillum sp* ha sido el objetivo de numerosos estudios por su capacidad de fijar nitrógeno asociado con las raíces de diversos cultivos de importancia agronómica (Dobbeleare *et al.*, 2001).

## **Características de *Azospirillum***

*Azospirillum* ( $\alpha$ - subclase de las proteobacterias) es la una bacteria Gram negativa, de vida libre, fijadora de nitrógeno y asociada a la rizosfera de plantas. Tiene un metabolismo carbonado y nitrogenado muy versátil, lo que le permite adaptarse y establecerse en el competitivo entorno rizosférico. Como fuentes nitrogenadas, *Azospirillum* puede utilizar un amplio rango de sustratos, amonio, nitrato, nitrito, aminoácidos y nitrógeno molecular. En condiciones desfavorables, tales como desecación y carencia de nutrientes, puede enquistar, recubriéndose de una capa de polisacáridos produciendo una acumulación de gránulos de  $\beta$ -hidroxibutirato, que sirven a la bacteria de reserva de fuente carbonada (Collados, 2006)

Es una bacteria móvil, que muestra gran variabilidad en el número y posición de sus flagelos. En medio líquido produce un solo flagelo mientras que en medio sólido se inducen diversos flagelos laterales, siendo diferente la cantidad y posición de estos flagelos para cada una de las especies del género *Azospirillum* (Collados, 2006). Para identificar si las bacterias son móviles se realiza la prueba de movilidad con manitols con 3.5 g/l de agar (Benavides & Hermida, 2008)



## **Clasificación taxonómica de *Azospirillum***

La clasificación como género de *Azospirillum* fue hecha por (Tarrand, *et al.* 1978), para sustituir el antiguo nombre *Spirillum* y su división en las especies:

**Reino:** Procaryote

División: Gracilicute

Clase: Scotobacteria

Familia: No existe

Género: *Azospirillum*

Especie: *Sp.*

*lipoferum*

*brasillense*

*amazonense*

*haloproferenses*

*irakenses*

## **Fijación de nitrógeno por *Azospirillum***

El nitrógeno que se localiza en el suelo procede de la atmosfera, pero el N<sub>2</sub> atmosférico no puede ser utilizado directamente por los seres vivos salvo en el caso de algunos microorganismos (Villalobos, *et al.*, 2002). Para que el nitrógeno atmosférico sea absorbido por las plantas y la mayoría de los microorganismos, este tiene que formar parte de otros compuestos químicos, este proceso se llama fijación (Fuentes, 2002). Considerando la capacidad de *Azospirillum* para asociarse con plantas de interés agrícola, así como su capacidad para fijar N<sub>2</sub>, en medios de cultivo, Por lo que se realizaron pruebas para verificar que el *Azospirillum* no causa síntomas visibles de enfermedad sobre la raíz o las hojas de plantas de trigo, algodón o tomate (Bashan, 1998).

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

### **Importancia biológica de *Azospirillum***

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

Dos variables básicas que contribuyen a la respuesta del rendimiento a la inoculación son los cultivares los cuales muestran respuestas diferentes a la inoculación y al nivel de fertilización nitrogenada; por lo tanto, la inoculación de *Azospirillum sp.* puede considerarse un sustituto parcial de la fertilización nitrogenada (Schloter y Hartmann, 1998).

### **Trabajos en Hortalizas con *Azospirillum***

Plantas inoculadas con *Azospirillum* producen mayor cantidad de raíces laterales y mejor desarrollo del pelo radicular (Creus *et al.*, 2005). Estos efectos promotores se han atribuido principalmente a la producción de hormonas de crecimiento. El óxido nítrico (NO) ha sido recientemente descrito para actuar como una molécula de señal en la cascada hormonal que conduce a la formación de raíces.

En un experimento con semillas de tomate fueron inoculados con promotoras de crecimiento de las plantas, y con rizobacterias *Azospirillum brasilense* FT326, y cambios en los parámetros asociados con el crecimiento de las plantas se evaluaron 15 días después de la inoculación. *Azospirillum* fueron

localizados en las raíces y en el tejido xilemático. Un aumento en los brotes y peso fresco de raíz, longitud principal del pelo de la raíz, y la superficie de la raíz indica que la inoculación con *A. brasilense* FT 326 resultó en una mejoría del crecimiento vegetal (Ribaudó *et al.* 2006).

En un experimento donde se aislaron 43 cepas de *Azospirillum spp.* y 50 cepas de *Klebsiella spp.* de la rizosfera, rizoplasma, raíz estéril, tallo y semilla de plantas de maíz y teocintle (maíz ancestral) y se observó que dichos microorganismos pueden vivir en el suelo y en las plantas como endófitos. Además demostró que las cepas aisladas de *Azospirillum spp.* *Klebsiella spp.* secretan sustancias que regulan el crecimiento vegetal en diferentes concentraciones, las cuales dependen de la zona de aislamiento de la planta. En adición, se detectaron sideróforos en 20 y 90% de las cepas de *Azospirillum* y *Klebsiella*, respectivamente. Debido a estas propiedades, estas cepas podrían tener un enorme potencial para usarse en la inoculación de plantas de maíz o de otros cultivos de interés agrícola (Carcaño-Montiel *et al.*, 2006).

Pereyra *et al.*, 2006, encontraron en semillas de lechuga (*Lactuca sativa L.*, cv) que fueron imbibidas, con células de *A. brasilense* SP245 que tenían porcentajes de germinación significativamente más altos que los controles en todos los tratamientos después de haber sido expuestas a NaCl.

Barassi *et al.* 2007, muestran evidencias de que los microorganismos promotoras de crecimiento Vegetal (PGPMs) podrían mejorar la productividad vegetal en un entorno humano deteriorado. En general, podrían contribuir a reducir la carga de la pérdida de nutrientes del suelo en tierras de cultivo, para contrarrestar parte de los efectos negativos del agua y solución salina tensiones sobre el crecimiento de la planta, y para ayudar a las plantas a evitar o reducir al mínimo la captación de contaminantes. Estos resultados alientan a nuevas investigaciones sobre su aplicación en el sector hortícola.

El Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sobre el desarrollo de desarrollo de las raíces son relacionados a con la concentración del inóculo, cuando este es superior a los niveles óptimos tienen efectos inhibidores, mientras que la dosis bajas no causan efecto, el nivel de inoculación optimo para la semilla y plántulas para muchos cereales y en vegetales y plantas del cultivo comercial se ha observado que los niveles es a  $10^5$ - $10^6$  ( ufc ml<sup>-1</sup>) mientras que en el maíz es a  $10^7$  ufc, una concentración de  $10^8$ - $10^{10}$  ufc ml<sup>-1</sup> generalmente inhibe el desarrollo radicular, estos datos no se han revelado cuantas células bacterianas requieren para obtener una respuesta positiva, los efectos positivos de la bacteria reflejan diversos parámetros morfológicos de la raíz, como incremento de longitud de la raíz y laterales, incremento el volumen radicular , incremento en el peso seco de la raíz, densidad y aparición temprana de la raíz de pelos radiculares, (Creus *et al*, 2004).

### **Cómo se aplica la bacteria**

Actualmente se utilizan algunos métodos para inocular *Azospirillum*. El más simple es aplicado las bacterias en suspensión líquida, ya sea directamente al suelo o a las semillas. Esta técnica ha sido utilizada en numerosos experimentos de invernadero y de campo, pero resulta inadecuado puesto que el tiempo de sobrevivencia de *Azospirillum* en suelo es relativo corto en ausencia de un acarreador. Los mejores resultados en rendimiento han sido obtenidos a partir de suspensiones de turba vertido por goteo al surco o distribuyendo el inoculante de turba granular al momento de la siembra. Otra opción es la producción de microesferas o microencapsulados bacterianos en una matriz de alginatos y liofilizados. De esta manera, se satisfacen los requerimientos de un inoculante bueno y práctico, es un acarreador químicamente inerte similar a polvo de mármol, arena o carbonato de calcio, seco, fácil de usar, uniforme, biodegradable por organismos del suelo, de naturaleza no-toxica, que contiene una población bacteriana basta y uniforme, permite la liberación gradual de las bacterias durante periodos largos hasta un mes y puede ser producido a gran escala. (Bashan *et al*. 1996).

López *et al* (2010) obtuvo que los contenidos de materia orgánica aumentan con la mezcla de las cantidades bajas de los ácidos húmicos de leonardita experimentales y las concentraciones altas de la bacteria *Azospirillum*. En la materia orgánica, hay efecto altamente significativo de los tratamientos. Así, de forma particular se puede establecer que al adicionar la mezcla de 2 ml.litro-1 de agua de los ácidos húmicos de leonardita experimentales, con la bacteria *Azospirillum* a la concentración de  $10^9$  unidades formadoras de colonias, se presentó la cantidad superior de materia orgánica y aventajó al testigo absoluto en 34 por ciento.

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

## **Características agronómicas**

### **Altura de la planta**

En un experimento en trigo inoculado con *Azospirillum brasilense* Sp- 248 y diferentes niveles de N- fertilizante utilizando el agua de mar como agua de riego. Todos los tratamientos inoculados aumentaron la altura de planta, tallo y peso seco de raíz, y el número de hoja en comparación con los tratamientos no inoculados (Alamri & Mostafa, 2009). También se han obtenido plántulas más vigorosas en cuanto a la altura y la longitud de las raíces en los tratamientos donde se inoculó el biofertilizante AzoFert® combinado con dosis de 30 y 25 kgN.ha-1 respectivamente, difiriendo estadísticamente del testigo absoluto y del testigo de producción. Con esto se puede disminuir la fertilización del macronutriente nitrógeno en su efecto sobre el crecimiento de las plantas, ya que la

no aplicación del mismo (testigo absoluto) produce un efecto negativo en las variables evaluadas (Alfonso, 2005).

### **Número de hojas**

Las plantas de café en vivero (*Coffea arabica*) que fueron inoculadas con los microorganismos presentaron mayor número de hojas en comparación con el testigo. Entre tratamientos, *Glomus intraradices* y *Azospirillum brasilense* adheridas por separado a las semillas, indujeron la emisión de más hojas en comparación con el testigo sin inocular y cuando se introdujeron juntos ambos microorganismos. El mayor incremento en el número de hojas de las plantas inoculadas se considera que se debe a un efecto concomitante entre el aumento en la capacidad de absorción y el transporte del sistema radical (Aguirre-medina *et al.*, 2011)

Para evaluar los efectos de las PGPR, sobre el crecimiento y el desarrollo de *Tagetes minuta* var-IED con *Azospirillum brasilense*, o su combinación). Encontraron que la inoculación con *A. brasilense* causó aumentos significativos en el número de hojas, longitud de la raíz, y peso seco de raíz, pero no en rodaje peso fresco (Santoro *et al.*, 2011).

### **Peso fresco de la planta**

Se realizó un experimento en macetas utilizando con suelo Franco arenoso como medio de crecimiento para la lechuga (*Lactuca* var sativa Grtelit. ), Tomate (var *Lycopersicon esculentum* Hagein Maestro 100) , Rábano (*Raphanus sativus* var Indiaradis) y la fresa (Tioga ) para estudiar las diferencias entre algunas plantas en la acumulación de selenio de los suelos de suplementación con selenio las plantas para cada cultivo examinado fueron divididos en cinco grupos de tratamiento (0, 2 mg Se inorgánico, 2 mg Se orgánico, 30 mg de Se inorgánico y 30 mg de Se orgánico por Kg de suelo) . En laboratorio estudiaron el efecto de selenio en bioensayos de semillas, a concentraciones de 0, 10, 25, 50,100 y 200 ppm se utilizaron en los bioensayos. Los resultados obtenidos revelaron que el aumento de los niveles de selenio

disminuyeron los pesos frescos para las cuatro plantas ensayadas. Estadísticamente se estudiaron las diferencias significativas en la apetencia, la producción de la planta, y el peso fresco de la planta producida (Ahmed, 2010).

La aplicación de selenio en alta concentración tuvo un efecto negativo sobre el peso de la raíz y de tallos y hojas, en el sustrato perlita en donde las plantas tratadas mostraron de forma constante hojas cloróticas. Sin embargo la aplicación foliar de selenio en concentraciones de 10 y 20 mg L<sup>-1</sup> resultó positiva para tallos y hojas así como para el peso seco y contenido de materia seca de los frutos (Benavides-Mendoza *et al.* 2011).

En un experimento con plantas de orégano italiano (*Origanum x majoricum*) inoculado con *Azospirillum brasilense* incrementó el 30 % en peso fresco, además la bacteria produjo un efecto fitorregulador claro en el sistema de raíces de *T. minuta*. La producción de auxina se ha demostrado que estimula el crecimiento de raíces y para promover el crecimiento de la planta (Lucy *et al.*, 2004)(Lucy, Reed, & Glick, 2004). Por otro lado, Inoculación individual de *P. fluorescens* y su co-inoculación con *A. brasilense* aumentó significativamente (por ~ 50 %) el peso fresco de *T. minuta*. Además del número de hojas y el número de nodo (Banchio *et al.*, 2010).

# MATERIALES Y MÉTODOS

## Localización del área experimental

El presente trabajo experimental se llevó a cabo en el invernadero 2 del área de invernaderos del Departamento de Fitomejoramiento "U.A.A.A.N." que se ubica al sur de la ciudad de Saltillo, Coahuila, en las coordenadas 101° 01'51.59" de longitud Oeste y 25° 01'19.63" de latitud Norte, con una altitud de 1780 m.s.n.m.

## Descripción del experimento

### Materiales/ equipo

- Cinta métrica (2m)
  - Tijeras
  - Toneles de 200 L
  - Vernier
  - Balanza analítica
  - Bolsas de 1 kg de papel estraza
  - Autoclave
  - Agua destilada
  - Insecticidas
- **Material vegetal.** Se utilizó semillas de tomate tipo Saladette (*Solanum lycopersicum*) de crecimiento determinado, sus condiciones de adaptación le permiten ser cultivada de manera rastrera y envarado. Frutos rojo intenso con excelente firmeza, Peso promedio de 110-130gr, al contar con paredes gruesas le permiten tener una larga vida de anaquel. Tolerante al F1-2 Bsp.
  - **Siembra en contenedores.** La siembra de las semillas se hizo de manera directa en contenedores de Poliestireno expandido de 1 litro. El sustrato utilizado fue de un material llamado Peatmoss mix (orgánico) en combinación de otro material llamado perlita A-13 saco 100 L, es de origen



volcánica de partículas blancas de poco peso, Entre ellos se mezclaron con una relación 1:1, en ambos sustratos son previamente esterilizados en autoclave a 180° para estar seguros de que el material sea limpia y no contagiarse con otros patógenos

- **Solución nutritiva.** La solución nutritiva que se utilizó para este experimento fue Steiner (1961) la cual se considera los siguientes elementos y sus concentraciones: Nitrógeno ( $\text{NO}_3$ )= 167 ppm, Fósforo= 31 ppm, Potasio= 277 ppm, Magnesio= 49 ppm, Calcio=183 ppm, Azufre= 67 ppm, Hierro= 3 ppm, Manganeso=1.97 ppm, Boro= 0.44 ppm, Zinc =0.11 ppm, Cobre =0.02 ppm, Molibdeno =0.007 ppm.

**Cuadro 1.** Componentes de la solución Steiner en miliequivalentes por litro.

$\text{NO}_3^-$ (meq . L <sup>-1</sup> )	$\text{PO}_4$ (meq . L <sup>-1</sup> )	$\text{SO}_4^{2-}$ (meq . L <sup>-1</sup> )	$\text{K}^+$ (meq . L <sup>-1</sup> )	$\text{Ca}^{2+}$ (meq . L <sup>-1</sup> )	$\text{Mg}^{2+}$ (meq . L <sup>-1</sup> )	Concentración total
12	1	7	7	9	4	100%
6	0.5	3.5	3.5	4.5	2	50%
2.4	0.4	2.8	2.8	3.6	1.6	40%

A los 10 días después de la siembra se decidió comenzar la nutrición de las plántulas con la aplicación de la solución nutritiva Steiner al 40%. Aplicando esta concentración de nutrientes como una fertilización base para todos los tratamientos, en el cual, por la misma vía se aplicaba la concentración de selenio a las plantas que les correspondía sus diversos tratamientos. La forma en que se aplicó el selenio fue como selenito de sodio. La aplicación de la solución nutritiva se realizó de forma manual. Haciendo ésta todos los días a las 10 de la mañana.

A los 30 días después de la siembra los miliequivalentes por litro de los nutrimentos que aparecen en la tabla, la concentración del 40% de la solución nutritiva se decidió aumentar al 50% de acuerdo a la edad de las plantas, se

muestra las diferencias al aumentar en 10% de concentración de los nutrientes propuestas, donde se muestran los fertilizantes que se utilizaron.

- **Descripción de tratamientos**

En este estudio se manejó diferentes concentraciones de la bacteria *Azospirillum*, a tres concentraciones  $10^4$ ,  $10^6$ ,  $10^8$  ufc  $ml^{-1}$ , y selenio en concentraciones 1, 5 y 10 ppm utilizando selenito de sodio como fuente de selenio. Para la inoculación de plántulas de tomate, se utilizaron 2 testigos, uno sin *Azospirillum* y otro sin selenio, la aplicación se hizo manualmente con la solución preparada y se decidió aplicar un volumen de 20 ml por planta dependiendo de la concentración utilizada.

**Cuadro2.** Descripción de los tratamientos que se aplicaron en el estudio de las plántulas de tomate saladette (*Solanum lycopersicum*), a los 8 días después de siembra.

Tratamientos	Se(Mg L <sup>-1</sup> )+ <i>Azospirillum</i> (ufc ml <sup>-1</sup> )	Tratamientos	Se(Mg L <sup>-1</sup> )+ <i>Azospirillum</i> (ufc ml <sup>-1</sup> )
T <sub>1</sub>	0 + 0	T <sub>9</sub>	5 + 0
T <sub>2</sub>	0 + 10 <sup>4</sup>	T <sub>10</sub>	5 + 10 <sup>4</sup>
T <sub>3</sub>	0 + 10 <sup>6</sup>	T <sub>11</sub>	5 + 10 <sup>6</sup>
T <sub>4</sub>	0 + 10 <sup>8</sup>	T <sub>12</sub>	5 + 10 <sup>8</sup>
T <sub>5</sub>	1 + 0	T <sub>13</sub>	10 + 0
T <sub>6</sub>	1 + 10 <sup>4</sup>	T <sub>14</sub>	10 + 10 <sup>4</sup>
T <sub>7</sub>	1 + 10 <sup>6</sup>	T <sub>15</sub>	10 + 10 <sup>6</sup>
T <sub>8</sub>	1 + 10 <sup>8</sup>	T <sub>16</sub>	10 + 10 <sup>8</sup>

## **Variables estudiadas**

**Altura de la planta.** Esta se midió con una cinta métrica (cm) a partir de la base del tallo hasta la parte terminal de la planta.

**Numero de hojas.** Se contabilizaron todas las hojas verdaderas formadas completamente por cada planta evaluada.

**Diámetro de tallo.** Para esta variable se le realizaron las respectivas mediciones de los lados ecuatoriales con la ayuda de un vernier, se midieron todas las repeticiones hasta terminar los 16 tratamientos.

**Peso fresco de la planta.** Al momento de cortar la planta en parte aérea, se estimaron esta variable mediante una báscula analítica de la marca AND EK-1200.

## DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó con la ayuda del software Statical Analysis System (SAS 9.1) el cual se utilizó para correr los datos con diseño completamente al azar y con arreglo factorial 4x4, este último para analizar el efecto de cada factor y la interacción de ambas (*Azospirillum* y Selenio) sobre la variable respuesta (altura de la planta, diámetro de tallo, numero de hojas y peso fresco de plantas).para la comparación de medias se utilizó el método Duncan ( $P \leq 0.05$ ).

**El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:**

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

$i = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16$  (tratamientos)

$j = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9$  (repeticiones)

En donde:

$Y_{ij}$ = Valor observado en las diferentes variables

$\mu$ = Efecto de la Media poblacional

$T_i$ = Efecto verdadero del  $i$ -enésimo tratamiento

$E_{ij}$ = Error experimental en la  $e$ -nésima repetición

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza muestra en la altura de planta una respuesta significativa entre tratamientos en el factor *Azospirillum* ( $P= 0.019$ ) en el factor selenio ( $P<0.001$ ) y en la interacción de ambos (Cuadro 1A). En cambio, el diámetro de tallo no fue afectado significativamente por el factor *Azospirillum* y la interacción, sin embargo, el factor selenio fue altamente significativo (Cuadro 2A). El número de hojas no fue afectado por el factor *Azospirillum* mientras que el factor selenio y la interacción mostraron efectos significativos ( $P< 0.001$  y  $P= 0.0005$ , respectivamente) (Cuadro 3A). Por último, en el peso fresco de la planta los dos factores y la interacción resultaron ser significativos (Cuadro 4A). Los datos sugieren que el factor el selenio resultó ser muy importante porque de acuerdo al ANVA resultó tener un efecto significativo en todas las variables estudiadas.

Al realizar la comparación de medias, se observa que en la altura de planta (Cuadro 5), la concentración de  $10^6$  de *Azospirillum* comparado con el testigo (solución Steiner) resultaron estadísticamente iguales, solo con 2.5 cm de diferencia, superando a las plantas tratadas con  $10^4$  y  $10^8$ . El diámetro de tallo no mostró que los tratamientos fueron diferentes y en cuanto al número de hojas las plantas tratadas con la concentración  $10^6$  resultaron estadísticamente igual que el testigo, solo con la concentración de  $10^4$  se produjo un menor número. Por último, el peso fresco de la planta indica que la concentración y el testigo produjeron resultados estadísticamente iguales, mientras que con la concentración  $10^8$  se tuvo la menor acumulación de materia fresca.

**Cuadro 3.** Prueba de comparación de medias de Duncan ( $p \leq 0.05$ ) de las variables de respuesta, inoculadas en tres concentraciones de *Azospirillum* y el testigo aplicado a plantas de tomate var. Río Grande, en invernadero.

<i>Azospirillum</i> (ufc ml <sup>-1</sup> )	AP (cm)	DT (mm)	NH	PFP (g)
0	41.4 ab	5.4 a	7.1 ab	41.0 ab
10 <sup>4</sup>	40.1 b	5.5 a	6.9 b	39.5bc
10 <sup>6</sup>	43.9 a	5.6 a	7.3a	46.0 a
10 <sup>8</sup>	40.2 b	5.6 a	7.1 ab	34.2 c

AP= altura de plantas DT= diámetro de tallo NH= número de hojas PFP= peso fresco de la planta. Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales

En relación a las características agronómicas, Ribaudó *et al.* (2006) encontraron en semillas de tomate inoculadas con *Azospirillum brasilense* FT326 cambios del crecimiento en plantas, en raíces y tejido xilemático, además de un incremento en los brotes 15 días después de la inoculación. Alfonso (2005) mostró un estudio donde se evaluó la efectividad agrobiológica de *Azospirillum sp.* en el desarrollo y rendimiento en el cultivo del tomate y obtuvo las plántulas más vigorosas en cuanto a la altura y la longitud de las raíces en los tratamientos donde se inoculó el biofertilizante AzoFert® combinado con dosis de 30 y 25 kgN.ha<sup>-1</sup> respectivamente, difiriendo estadísticamente del testigo absoluto y del testigo de producción. Este resultado pone de manifiesto la eficiencia de la rizobacteria al permitir disminuir la dosis de fertilizante nitrogenado sin afectar la calidad de las plantas.

Con respecto al factor selenio se presentaron diferencias estadísticas para las variables AP y PFP, sin embargo el mejor tratamiento fue el testigo, mientras que el DT y NH, con 1 ppm de selenio y el testigo fueron estadísticamente iguales; con la concentración de 5 y 10 ppm disminuyeron ambas variables.

**Cuadro 4.** Prueba de comparación de medias de Duncan ( $p \leq 0.05$ ) de las variables de respuesta en tres concentraciones de selenio y el testigo aplicado a plantas de tomate var. Río Grande en invernadero.

Selenio (ppm)	AP (cm)	DT (mm)	NH	PFP (g)
0	57.7 a	6.3 a	7.7 a	67.6 a
1	52.5 b	6.3 a	7.7 a	58.2 b
5	34.9 c	5.0 b	7.0 b	24.7 c
10	20.0 d	4.5 c	5.8 c	9.3 d

AP= altura de plantas DT= diámetro de tallo NH= número de hojas PFP= peso fresco de la planta. Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales

Los resultados encontrados en este experimento son similares a los de (Ahmed, 2010), quién realizó un experimento en macetas utilizando suelo franco arenoso como medio de crecimiento para la lechuga (*Lactuca sativa* Grtelit), tomate (*Lycopersicum esculentum* var. Hagein Maestro 100), rábano (*Raphanus sativus* var India radish) y la fresa (*Fragaria vesca*), para estudiar las diferencias entre algunas plantas en la acumulación de selenio de los suelos suplementados con este elemento , las plantas para cada cultivo examinado fueron divididas en cinco grupos de tratamientos, cada uno con cuatro repeticiones: (1) sin la adición de selenio (2) cada planta recibió un total de 2,0 mg de selenio por kg de suelo,(3) 2,0 mg de una orgánica de selenio por kg de suelo (4) 30 mg de un inorgánica del selenio por kg de suelo, y (5) 30 mg de un compuesto orgánico de selenio por kg de suelo. También, en el laboratorio, se estudió el efecto de selenio en bioensayos de semillas. Las concentraciones de 0, 10, 25, 50,100 y 200 ppm se utilizaron en los bioensayos. Los resultados obtenidos revelaron que el aumento de los niveles de selenio disminuyó el peso fresco.

Respecto a la interacción de los tratamientos se muestra en el Cuadro 7 que los resultados de *Azospirillum* con selenio, afectó el desarrollo de la plántula de tomate, sin embargo hay algunas interacciones que ayuda a mantener el crecimiento normal de la planta, como se muestra en la altura de planta con la

aplicación de  $10^8$  ufc  $\text{ml}^{-1}$  de *Azospirillum* y con 0 ppm de selenio, y que resultó mayor numéricamente, aunque le siguen la concentración  $10^6$  con 0 de selenio y sin *Azospirillum* con 1 ppm de selenio resultó estadísticamente iguales. El diámetro de tallo mostró que con la concentración  $10^6$  de Azo\*1ppm resultó ligeramente mayor pero las siguientes concentraciones de  $10^8$  Azo\* 0 Se y  $10^4$  Azo\*1Se mostraron una tendencia similar, por lo cual se considera estadísticamente iguales. Por lo siguiente, el número de hojas en la concentración  $10^8$  y  $10^6$  Az\* sin selenio reflejaron el mayor número y por último la variable peso fresco de la planta demostró mayor con  $10^8$  Az\*0 selenio siguiendo la concentración  $10^6$  Az\*0 selenio.

**Cuadro 5.** Efecto de la interacción Selenio\**Azospirillum* sobre la variable de respuesta en el cultivo de tomate saladette en invernadero.

VAR. AGRON		---	AP	-----		DT	-----		NH	-----		PPF-----
Az	Se	N	Medias	E.E	Medias	E.E	Medias	E.E	Medias	E.E		
0	0	9	52.87	0.60	6.28	0.06	7.56	0.12	66.11	2.85		
$10^4$	0	9	59.22	0.94	6.20	0.05	7.78	0.14	68.33	1.82		
$10^6$	0	9	34.82	0.96	4.87	0.09	7.67	0.19	23.33	1.77		
$10^8$	0	9	18.60	0.43	4.42	0.04	5.44	0.09	6.11	0.37		
0	0	9	49.91	2.31	6.18	0.05	7.11	0.18	58.89	3.79		
$10^4$	1	9	55.46	1.03	6.40	0.08	7.78	0.07	64.44	2.10		
$10^6$	5	9	35.12	0.65	5.05	0.06	6.89	0.06	23.89	1.08		
$10^8$	10	8	17.28	0.41	4.41	0.04	5.50	0.09	7.38	0.58		
0	0	9	63.14	0.62	6.38	0.05	8.00	0.08	69.44	2.78		
$10^4$	1	9	53.43	0.74	6.46	0.08	7.89	0.10	68.89	2.69		
$10^6$	5	9	37.56	0.79	4.95	0.08	7.00	0.08	31.11	1.66		
$10^8$	10	9	21.34	0.72	4.61	0.09	6.11	0.13	14.44	2.37		
0	0	9	64.86	0.79	6.41	0.06	8.22	0.07	76.11	2.82		
$10^4$	1	9	41.80	0.96	6.25	0.07	7.33	0.12	31.11	2.20		
$10^6$	5	9	31.96	1.06	5.14	0.06	6.44	0.17	20.56	1.74		
$10^8$	10	9	22.29	0.34	4.69	0.05	6.22	0.11	8.89	0.37		

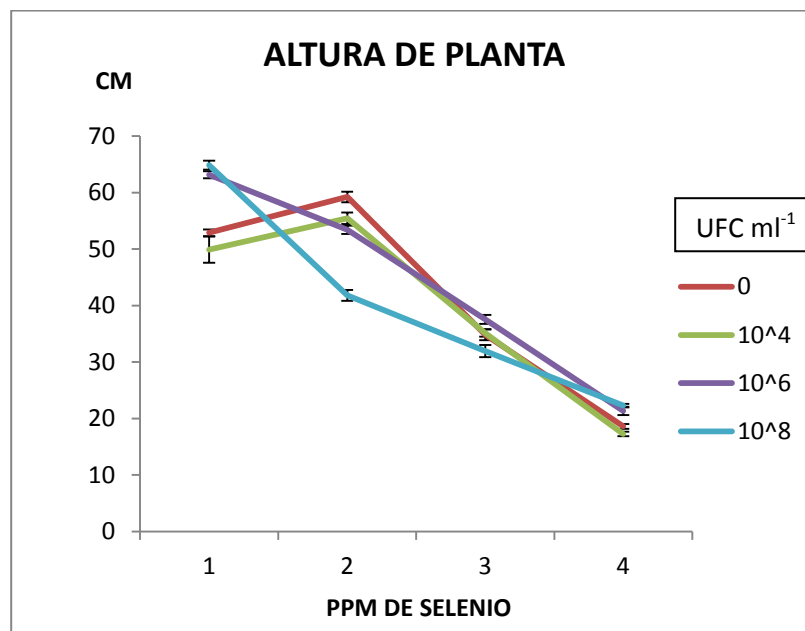
Az= *Azospirillum* Se= selenio E.E= error estándar



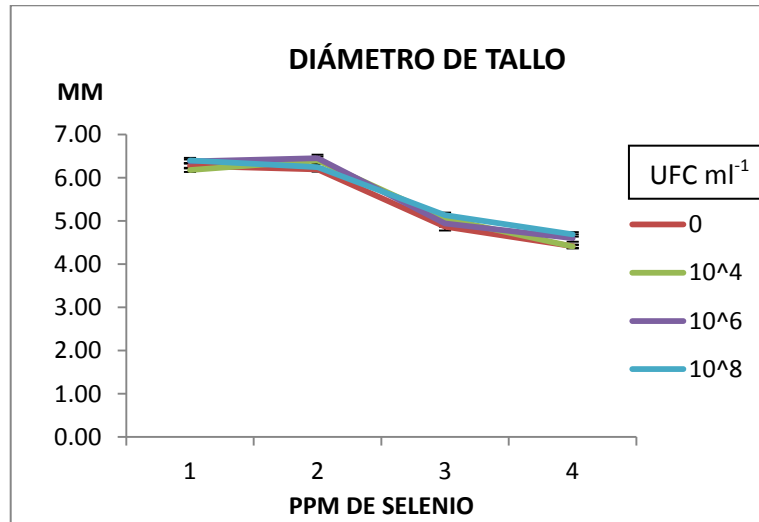
En relación de los resultados descritos, las mejores concentraciones que puede mantener la plántula de tomate son  $10^8$  y  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup> de *Azospirillum* combinado con 1 ppm de selenio favorece el crecimiento de las plantas.

A continuación se muestran las gráficas (Figuras 3-6) de las variables de respuesta de plantas de tomate, esto es, las cuatro variables de respuesta: altura de planta, diámetro de planta, número de hojas y peso fresco de la planta

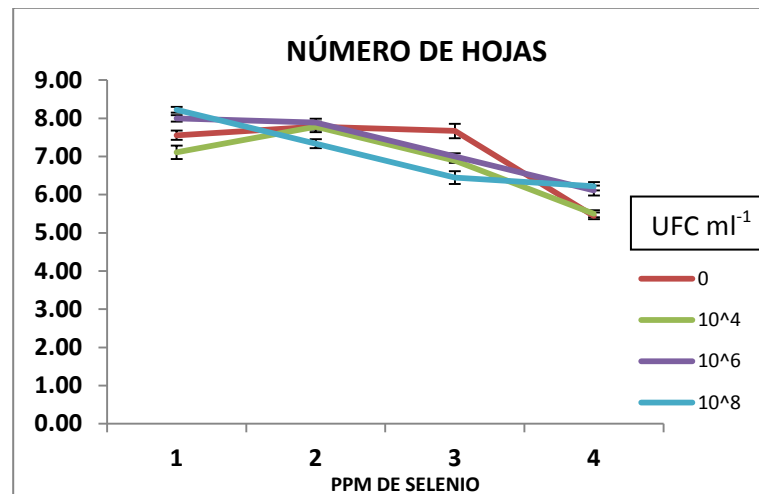
**Figura 3.** Efecto de la interacción Selenio\**Azospirillum* sobre el altura de planta. Las barras indican el error estándar de la media en respuesta a la interacción de los dos factores.



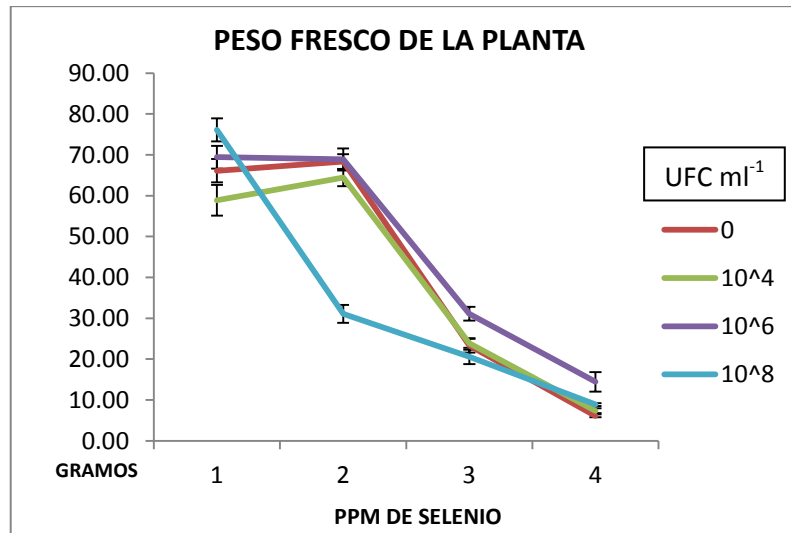
**Figura 4.** Efecto de la interacción Selenio\**Azospirillum* sobre el diámetro de planta. Las barras indican el error estándar de la media en respuesta a la interacción de los dos factores.



**Figura 5.** Efecto de la interacción Selenio\**Azospirillum* sobre el diámetro de planta. Las barras indican el error estándar de la media en respuesta a la interacción de los dos factores.



**Figura 6.** Efecto de la interacción Selenio\**Azospirillum* sobre el diámetro de planta. Las barras indican el error estándar de la media en respuesta a la interacción de los dos factores.



## CONCLUSIÓN

La producción de plántulas de tomate saladette en invernadero se mejora con la aplicación de 1 ppm de selenio y con  $10^8$  y  $10^6$  UFC ml<sup>-1</sup> de *Azospirillum*. Mientras la aplicación de 5 y 10 ppm de selenio muestra una disminución en el desarrollo de las plántulas de tomate.

## LITERATURA REVISADA

- Aguirre-Medina, J. F., Mendoza-López, A., Avendaño-Arrazate, C. H., & Aguirre-Cadena, J. F. (2011). Hongo endomicorrízico y bacteria fijadora de nitrógeno inoculadas a *Coffea Arabica* en vivero. *Agronomía Mesoamericana*, 22, 71–80.
- Ahemad, M., & Kibret, M. (2013). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*. doi:10.1016/j.jksus.2013.05.001
- Ahmed, H. (2010). Differences between some plants in selenium accumulation from supplementation soils with selenium. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(5), 1050–1056.
- Alamri, S. A., & Mostafa, Y. S. (2009). Effect of nitrogen supply and *Azospirillum brasilense* Sp-248 on the response of wheat to seawater irrigation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 16(2), 101–7.
- Alfonso, E. T. (2005). Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* , Mill ), VII(2), 47–54.
- ATSDR, ( Agency for Toxic Substances & Disease Registry). (2003). Resumen de salud pública: selenio. Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU. Retrieved from [http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs92.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs92.html)
- Barassi, C. A., Sueldo, R. J., Creus, C. M., Carrozzi, L. E., Casanovas, E. M., & Pereyra, M. A. (2007). *Azospirillum* spp., a dynamic soil bacterium favourable to vegetable crop production. *Dinamic Soil, Dynamic Plant*, 1(2), 68–82.
- Bashan, Y., Holguin, G., & de Bashan, L. E. (2004). *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances. *Can. J. Microbiol.*, 50(1), 521–577.
- Benavides, G. D., & Hermida, A. . (2008). Aislamiento e identificación de flora bacteriana nativa del suelo de los páramos Cruz Verde y Guasca (Cundinamarca). Tesis de licenciatura de la pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias. Carrera de Microbiología Industrial. Bogotá D.C., 118.
- Benavides-Mendoza, A., Becvort-Azcurra, A., Fuentes-Lara, L. O., Ramírez, H., Robledo Torres, V., & Rodríguez-Mendoza, M. de las N. (2011). Selenium

accumulation of tomato and its effect on the plant growth , productivity and fruit, (1), 1–15.

- Berenguer, J. J. (2003). Manejo del cultivo de tomate en invernadero, en: curso internacional de producción de hortalizas en invernadero. Editores; Castellanos, J. Z. y J. J. Muños, R. Celaya, Guanajuato, México., 147–174.
- Bitterli, C., Bañuelos, G. S., & Schulin, R. (2010). Use of transfer factors to characterize uptake of selenium by plants. *Journal of Geochemical Exploration*, 107(2), 206–216.
- Boldrin, P. F., Faquin, V., Ramos, S. J., Boldrin, K. V. F., Ávila, F. W., & Guilherme, L. R. G. (2013). Soil and foliar application of selenium in rice biofortification. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(2), 238–244.
- Bracho, J. (2005). Caracterización de sustratos para la producción de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en bandejas. Trabajo presentado para optar al grado de magister. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado Scientiarum, 91.
- Broadley, M.R., White, P.J., Bryson, R.J., Meacham, M.C., Bowen, H.C., Johnson, S.E., Hawkesford, M.J., McGrath, S.P., Zhao, F.-J., Breward, N., Harriman, M., Tucker, M. (2006). Biofortification of UK food crops with selenium. *Proceedings of the Nutrition Society*, 65(2), 169–181.
- Burau, R. G. (1985). Environmental chemistry of selenium. *Calific. Agric*, 39, 16–18.
- Caballero-Mellado, J. (2006). Artemisa microbiología agrícola e interacciones microbianas con plantas.
- Cakmak, I. (2008). Enrichment of cereal grains with zinc: agronomic or genetic biofortification. *Plant Soil*, 302(1-2), 1–17.
- Cañari Chumpitaz, C. L. (2011). El selenio, un elemento poco conocido con un rol biológico importante, 25, 29–33.
- Carcaño-Montiel, M. G., Ferrera-Cerrato, R., Pérez-Moreno, J., Molina-Galán, J. D., & Bashan, Y. (2006). Actividad nitrogenasa, producción de fitohormonas, sideróforos y antibiosis en cepas de *Azospirillum* y *Klebsiella* aisladas de maíz y teocintle, 493–502.
- Carvalho KM, Gallardo-Williams MT, B. R. and M. D. (2003). Effects of selenium supplementation on four agricultural crops. *J Agric Food Chem*, 51(3), 704–709.

- Cassán, F., Perrig, D., Sgroy, V., Masciarelli, O., Penna, C., & Luna, V. (2009). *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). *European Journal of Soil Biology*, 45(1), 28–35.
- Cazares, C. (2010). Consejo nacional del sistema producto tomate. primer foro de agronegocios, centro de estudios de negocios y estratégicos del ITZON., 190.
- Chilimba ADC, Young SD, Black CR, Rogerson KB, Ander EL, W. M. (2011). Maize grain and soil surveys reveal suboptimal dietary selenium intake is widespread in Malawi. *Sci Rep*, 1, 72.
- Collados, C. (2006). Impacto de inoculantes basados en *Azospirillum* modificado genéticamente sobre la diversidad y actividad de los hongos de la micorriza arbuscular en rizosfera de trigo y maíz. Tesis doctoral. Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Mi, 7–11.
- COVECA, (Comisión Veracruzana de Comercialización Agropecuaria). (2010). Monografía del tomate, 2–21.
- Creus, C. M., Graziano, M., Casanovas, E. M., Pereyra, M. A., Simontacchi, M., Puntarulo, S., Lamattina, L. (2005). Nitric oxide is involved in the *Azospirillum brasilense* induced lateral root formation in tomato. *Planta*, 221(2), 297–303.
- Cuvaradic, M. (2003). Selenium in soil. *Proceedings for Natural Sciences, Matica Srpska Novi Sad*, 104, 23–37.
- Dhillon, K. S., & Dhillon, S. K. (2009). Accumulation and distribution of selenium in some vegetable crops grown in selenate-Se treated clay loam soil. *Frontiers of Agriculture in China*, 3(4), 366–373.
- Djanaguiraman, M., Devi, D. D., Shanker, A. K., & Bangarusamy, J. A. S. & U. (2005). Selenium – an antioxidative protectant in soybean during senescence. *Plant and Soil*, 272(1-2), 77–86.
- Dodig, S., & Cepelak, I. (2004). The facts and controversies about selenium. *Acta Pharm*, 54, 261–76.
- Dumont, E., Vanhaecke, F., & Cornelis, R. (2006). Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385(7), 1304–1323.

- Durán, P., Acuña, J. ., Jorquera, M. A., Azcón, R., Borie, F., Cornejo, P., & Mora, M. . (2013). Enhanced selenium content in wheat grain by co-inoculation of selenobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi: a preliminary study as a potential Se biofortification strategy. *Journal of Cereal Science*, 57(3), 275–280.
- Foolad, M. R. (2007). Genome mapping and molecular breeding of tomato. *International Journal of Plant Genomics*, (1), 52.
- Fordyce, F. . (2005). Selenium deficiency and toxicity in the environment. In *Essentials of Medical Geology*. Elsevier, 373–415.
- Hamilton, S. . (2004). Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. *Science of The Total Environment*, 326, 1–31.
- Hartikainen, H., Xue, T., & Piironen, V. (2000). Selenium as an antioxidant and pro-oxidant in ryegrass. *Plant Soil*, 225, 193–200.
- Hasanuzaman, M., Anwar Hossain, M., & Masayuki, F. (2010). Selenium in higher plants: physiological role, antioxidant metabolism and abiotic stress tolerance, 5(4), 354–375.
- Hatfield, D., Berry, M., & Gladyshev, V. (2006). Selenium: Its molecular biology and role in human health, 2<sup>a</sup> edición. Springer: Nueva York, 1–8.
- Li, H.-F., McGrath, S. P., & Zhao, F.-J. (2008). Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *The New Phytologist*, 178(1), 92–102.
- Lucy, M., Reed, E., & Glick, B. . (2004). Applications of free living plant growth promoting rhizobacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 86, 1– 25.
- Lyons, G., Soole, y. K., Stangoulis, J., F. Liu, G., & RD, G. (2009). Selenium increases seed production in *Brassica*. *Plants and Soils*, 318(1-2), 73–80.
- Margaret, P., & Rayman. (2000). The importance of selenium to human health. *Lancet*, 356, 233–241.
- Pereyra, M. a, Zalazar, C. a, & Barassi, C. a. (2006). Root phospholipids in *Azospirillum*-inoculated wheat seedlings exposed to water stress. *Plant Physiology and Biochemistry: PPB / Société Française de Physiologie Végétale*, 44(11-12), 873–9.
- Ramírez-Bribiesca, J. E., Tórtora, J.L., Huerta, M., Aguirre, A., and Hernández, L. M. 2001. (2001). Diagnosis of selenium status in grazing dairy goats on the mexican plateau. *Small Rumin*, 41, 81–85.



- Ramos, S. J., Faquin, V., Guilherme, L. R. G., Castro, E. M., Avila, F. W., Carvalho, G. S., Bastos, C. E. A., Oliveira, C. (2010). Selenium biofortification and antioxidant activity in lettuce plants fed with selenate and selenite. *Plant Soil Environ*, 56(1), 584–588.
- Rayman, M. P. (2008). Food-Chain selenium and human health: emphasis on intake. *The British Journal of Nutrition*, 100(2), 254–68.
- Ribaudo, C. M., Krumpholz, E. M., Cassán, F. D., Bottini, R., Cantore, M. L., & Curá, J. a. (2006). *Azospirillum* sp. promotes root hair development in tomato plants through a mechanism that involves ethylene. *Journal of Plant Growth Regulation*, 25(2), 175–185.
- SAGARPA. (2010). Monografía de tomate, 10. Retrieved from [www.sagarpa.gob.mx](http://www.sagarpa.gob.mx)
- Schomburg, L., Schweizer, U., & Kohrle, J. (2004). Selenium and selenoproteins in mammals: extraordinary, essential, enigmatic. *Cell Mol Life Sci*, 61, 1988–95.
- Segura-castruita, M. A., Ramírez-seañez, A. R., García-legaspi, G., Preciado-rangel, P., García-hernández, J. L., Yescas-coronado, P., ... Montemayor-trejo, J. A. (2011). Desarrollo de las plantas de tomate en un sustrato de arena-pómez con tres diferentes frecuencias de riego, 17(1), 25–31.
- SIAP. (2007). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.
- SIAP. (2014). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. cierre de la producción agrícola por cultivo.
- Sors, T. G., Ellis, D. R., & Salt, D. E. (2005). Selenium uptake, translocation, assimilation and metabolic fate in plants. *Photosynthesis Research*, 86(3), 373–89.
- Spadoni, M., Voltaggio, M., Carcea, M., Coni, E., Raggi, A., & Cubadda, F. (2007). Bioaccessible selenium in Italian agricultural soils: comparison of biogeochemical and pedoclimatic variables. *Sci Total Environ*, 376, 160–77.
- Steiner, A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil*, 15(1), 134–154.
- Terry, N., Zayed, A. M., Souza, M. P. de, & Tarun, A. . (2000). Selenium in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51, 401–432.

- Tinggi, U. (2003). Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. *Toxicology Letters*, 137(1-2), 103–110.
- Turakainen, M. Hartikainen, H. Seppänen, M. M. (2004). Effects of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and concentrations of soluble sugars and starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(17), 5378–82.
- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers, 571–586.
- White, P. J., & Broadley, M. R. (2009). Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets: iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytologist*, 182, 49–84.
- White, P. J., Broadley, M. R. Bowen, H. C., Johnson, Sarah, E. (2007). Selenium and its relationship with sulfur, 1, 225–252.
- White, P.J., Bowen, H. C., Parmaguru, P., Fritz, M., Spracklen, W P., Spiby, R. E., Meacham, M C., Mead, A., Harriman, M., Trueman, L. J., Smith, B. M., Thomas, B., Broadley, M. (2004). Interactions between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, 55(404), 1927–37.
- Xue, T., Helinä, H., & Vieno, P. (2001). Antioxidative and growth-promoting effect of selenium in senescing lettuce. *Plant Soil*, 27, 55–61.
- Zhu, Y. G., Pilon-Smits, E. H., Zhao, F. J., Williams, P. N., & Meharg, A. A. (2009). Selenium in higher plants: understanding mechanisms for biofortification and phytoremediation. *Trends in Plant Science*, 14(8), 436–42.

## ANEXOS

**Cuadro 1A.** Análisis de varianza de la variable altura de plantas con la aplicación de selenio y *Azospirillum* en plantas de tomate saladette var. Río Grande en invernadero

F.v.	GL	SC	CM	F	P>F
<i>Azospirillum</i>	3	330.76	110.25	3.42	0.0193
Selenio	3	31615.53	10538.51	327.34	< .0001
Se*Azos	9	2958.95	328.77	10.21	< .0001
Error	127	4088.65	32.20		
Total	142	38993.90			

Se\* Azos= interacción entre selenio y *Azospirillum*

**Cuadro 2B.** Análisis de varianza del variable diámetro de tallo con aplicación de selenio y *Azospirillum* en plantas de tomate saladette var. Río Grande en invernadero.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Selenio	3	0.66	0.22	1.47	0.2249
<i>Azospirillum</i>	3	89.52	29.84	199.06	< .0001
Se*Azos	9	0.89	0.10	0.66	0.7463
Error	127	19.04	0.15		
Total	142	110.10			

Se\* Azos= interacción entre selenio y *Azospirillum*

**Cuadro 3A.** Análisis de varianza del variable número de hojas con aplicación de selenio y *Azospirillum* en plantas de tomate saladette var. Río Grande en invernadero.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Selenio	3	2.89	0.94	1.85	0.1410
<i>Azospirillum</i>	3	83.47	27.82	54.83	< .0001
Se*Azos	9	16.57	1.84	3.63	0.0005
Error	127	64.44	0.51		
Total	142	167.30			

Se\* Azos= interacción entre selenio y *Azospirillum*

**Cuadro 4A.** Análisis de varianza del variable peso fresco de planta con aplicación de selenio y *Azospirillum* en plantas de tomate saladette var. Río Grande en invernadero.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Selenio	3	2546.34	848.78	5.04	0.0025
<i>Azospirillum</i>	3	80896.12	26965.37	160.22	< .0001
Se*Azos	9	8654.75	961.64	5.71	< .0001
Error	127	21374.76	168.30		
Total	142	113471.97			

Se\* Azos= interacción entre selenio y *Azospirillum*