



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

ZARAGOZA

EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DE *Solanum lycopersicum* L. (Jitomate) AL
INOCULAR CON *Azospirillum* sp. Y *Rhizophagus intraradices* EN CONDICIONES
DE INVERNADERO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

PEÑALOZA REMIGIO CARLOS JOSUÉ

DIRECTORA:

Biól. ELVIA GARCÍA SANTOS

ASESORA INTERNA:

M. en C. PATRICIA RIVERA GARCÍA



MÉXICO D.F. 11 DE MARZO 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
OBJETIVOS	5
JUSTIFICACIÓN	6
HIPÓTESIS	7
CAPITULO I	8
EL SUELO Y SU INTERACCIÓN CON PLANTAS Y MICROORGANISMOS.....	8
CAPITULO II	16
EL GÉNERO <i>Azospirillum sp.</i>	16
2.1 CARACTERÍSTICAS Y GENERALIDADES DE <i>Azospirillum sp.</i>	17
2.2 COLONIZACION DE LA RAIZ POR <i>Azospirillum sp.</i>	19
2.3 PROMOCION DEL CRECIMIENTO VEGETAL POR <i>Azospirillum sp.</i>	21
2.4 EFECTO DE <i>Azospirillum sp.</i> EN LAS PLANTAS.....	24
CAPITULO III	27
HONGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES (HMA)	27
3.1 MECANISMOS DE COLONIZACIÓN	29
3.2 CARACTERISTICAS GENERALES DE <i>Rhizophagus intraradices</i>	32
3.3 BENEFICIOS DE LA SIMBIOSIS HONGO-PLANTA	34
CAPITULO IV	37
ORIGEN Y DOMESTICACIÓN DE <i>Solanum lycopersicum</i> L. (JITOMATE).....	37

4.1 DESCRIPCIÓN DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE <i>Solanum lycopersicum</i> L. (JITOMATE)	38
4.2 IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE <i>Solanum lycopersicum</i> L. (JITOMATE)	40
4.3 SITUACIÓN E IMPORTANCIA DEL <i>Solanum lycopersicum</i> (JITOMATE) EN MÉXICO.....	41
4.4 IMPORTANCIA MUNDIAL	42
MÉTODO:.....	44
I) FASE EN CAMPO	44
LOCALIZACIÓN DEL PREDIO PARA IMPLEMENTACIÓN DEL PROYECTO.	44
MUESTREO DEL SUELO DE LAS CAMAS DE CULTIVO EN EL INVERNADERO	44
DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DEL INVERNADERO.....	46
DISEÑO EXPERIMENTAL.....	47
COLECTA DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE <i>Azospirillum sp.</i>	47
SIEMBRA DE SEMILLAS Y TRASPLANTE DE PLÁNTULAS DE <i>Solanum lycopersicum</i> L.	48
EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE <i>Solanum lycopersicum</i> L.	49
TUTORADO DE LAS PLANTAS DE JITOMATE	50
II) TRABAJO EN LABORATORIO	51
EVALUAR LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS y BIOLÓGICOS DEL SUELO DEL INVERNADERO.....	51
CUANTIFICACIÓN DEL NÚMERO DE ESPORAS.....	52
EVALUACIÓN DE COLONIZACIÓN RADICAL POR HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES.....	52
IDENTIFICACIÓN Y MULTIPLICACIÓN DE COLONIAS DE <i>Azospirillum sp.</i>	53
AISLAMIENTO DE CEPA DE <i>Azospirillum sp.</i>	53
CULTIVO DE BACTERIAS	54
GERMINACIÓN E INOCULACIÓN DE SEMILLAS DE <i>Solanum lycopersicum</i> L. CON <i>Azospirillum sp.</i> , y <i>Rhizophagus intraradices</i>	55

ANÁLISIS ESTADÍSTICO	56
RESULTADOS.....	57
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	72
CONCLUSIONES.....	75
LITERATURA CITADA.....	77

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Producción mundial en el 2008. (Fuente: Secretaria de Fomento a los Agronegocios.2010).....	43
Gráfica 2. Porcentaje de motorización en plántulas de jitomate a 45 días después del trasplante.....	59
Gráfica 3. Porcentaje de micorrización en plántulas de jitomate al final del experimento.....	60
Gráfica 4. Registro semanal de la altura de las plantas de <i>Solanum lycopersicum</i> L.	62
Gráfica 5. Número de hojas para cada tratamiento.....	63
Gráfica 6 Diámetro del tallo para cada uno de los tratamientos.....	64
Gráfica 7. Número de brotes florales para cada uno de los tratamientos.....	65
Gráfica 8 Peso promedio del cultivo de <i>Solanum lycopersicum</i> L.....	66
Gráfica 9. Volumen promedio del cultivo de <i>Solanum lycopersicum</i> L.....	67
Gráfica 10. Longitud de raíz de plántulas de <i>Solanum lycopersicum</i> L.....	68
Gráfica 11. Rendimiento de jitomate por cosecha.....	70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros físicos, químicos y biológicos del suelo trabajado.....	51
Tabla 2. Propiedades físicas y químicas del suelo.....	57
Tabla 3. Total de esporas en 100g de suelo antes del trasplante.	58
Tabla 4. Subconjuntos homogéneos	63
Tabla 5. subconjuntos Homogéneos	64
Tabla 6. Subconjuntos homogéneos.....	65
Tabla 7. Subconjuntos homogéneos	66
Tabla 8. Homogeneidad de los grupos entre los tratamientos	67
Tabla 9. Homogeneidad entre los tratamientos.....	67
Tabla 10. Comparación de medias entre tratamientos.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema simplificado de las interacciones entre las características físicas, químicas y biológicas del suelo que se relacionan con la oferta ambiental.	8
Figura 2. Nutrientes esenciales para las plantas y su forma de absorción.....	10
Figura 3. Disponibilidad de nutrientes con respecto al pH.....	10
Figura 4. Morfología celular de <i>Azospirillum brasilense</i> por ed celular teñida con colorante rojo congo	18
Figura 5. a) Raíz sin <i>Azospirillum sp.</i> escaso crecimiento de raíces secundarias; b) Raíz con <i>Azospirillum sp.</i> , desarrollo de raíces secundarias.....	23
Figura 6. Glomalina actúan como cementante lo que favorece la agregación o formación del suelo.....	29
Figura 7. Colonización micorrízica	30
Figura 8. Estructura subcelular de las esporas	32
Figura 9. Estructura de las paredes de la espora tomada y modificada de INVAM...	33
Figura 10. Jitomate para consumo en fresco.	38
Figura 11. Etapas fenológicas del jitomate.....	39
Figura 12. Principales estados productores de jitomate	42
Figura 13. Delegación Xochimilco ubicación del Barrio Xaltocan.....	44
Figura 15. Lugar donde se realizó el invernadero y el experimento.	46
Figura 14. Diagrama para la construcción del invernadero.....	46
Figura 16. Instalación del invernadero.	45
Figura 17. Camas de cultivo.....	46

Figura 18. Tratamiento con 12 repeticiones	47
Figura 19. Cultivo de maíz	48
Figura 20. Germinación de semillas de jitomate.....	48
Figura 21. Trasplante y riego de plántulas de jitomate al suelo del invernadero.....	49
Figura 22. Medición de la altura de las plantas.	50
Figura 23. Conteo de número de hojas y flores.....	50
Figura 24 . Cuantificación de frutos y medición del diámetro del tallo.....	50
Figura 25. Tutorado con estacones de madera.....	51
Figura 26. Montaje de raíces teñidas con azul de tripano para su observación.....	53
Figura 27. Observación de raíces en microscopio a 100x.....	53
Figura 28. Tubos que indican la presencia de <i>Azospirillum sp.</i> con el vire de color. a) siembra de raíces en el medio de cultivo (NFB) color verde esmeralda, b) cambio de color del medio de cultivo a un azul claro indica presencia de <i>Azospirillum sp.</i>	55
Figura 29. Técnica de estriado en ángulo recto que se utilizó para el aislamiento de <i>Azospirillum sp.</i>	54
Figura 30. a) Hifa extraradical y b) Hifas intraradical de <i>Rhizophagus intraradices</i> observadas a microscopio a 100x en la raíz de <i>Solanum lycopersicum</i> L. (Jitomate).....	59
Figura 31. Vesícula del Hongo Micorrizico Arbuscular.	60
Figura 32. Estructura donde se realiza la simbiosis micorrízica: Arbúsculos	60
Figura 33 Vire de color a un azul claro Figura 34. Formación de la película blanquecina	61

Figura 35. Observación a 100X del color rosado o rojizo y movimiento de <i>Azospirillum</i> sp utilizando la Tinción de Gram.....	61
Figura 36. Longitud de raíz de los diferentes tratamientos.....	68
Figura 37. Recolecta de frutos en el termino del rayado a) De forma individual, b) recolecta en racimo.....	69
Figura 38. a) Jitomate en crecimiento de color verde, b) Jitomate maduro color rojo.	69
Figura 39. Rendimiento del cultivo obtenido	71

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México en especial a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por abrirme las puertas del conocimiento.

A mi directora Biol. Elvia García Santos por continuar con la dirección de mi tesis y la gran paciencia que me tuvo a lo largo de mis revisiones.

A la Dra. Patricia Rivera por su apoyo, motivación constante y sus aportaciones en las revisiones de mi tesis.

Al M.C. Armando Cervantes por incluirme en sus proyectos y ayudarme a entender mis datos.

A mis compañeros de laboratorio Yuvani, Richi, Paulina, Rosario y Nataly por las múltiples prácticas compartidas y la buena convivencia que pasamos en nuestra covacha.

A mis amigos del cubo a Rodrigo (el rorro) por prestarme sus equipos de cómputo y al M.C. Luis Ávila (chikis) por su apoyo en todo momento.

Al grupo de A.A Jazmín en especial a Aristeo por su apoyo incondicional, por escucharme en esas noches de insomnio y las experiencias compartidas.

A José Carrera por su motivación constante, por ser un ejemplo a seguir y por instruirme en el arte de hacer pan.

A Gabby, Cristina, Elisa y Nancy por el apoyo extraescolar y motivación constante. Tan sólo un instante basto para unirnos de por vida.

A Leticia Peñaloza y familia por sus consejos, cariño y motivación.

Gracias por su amistad porque es una dicha tener amig@s como ustedes sé que me faltaron muchos más por mencionar pero no es posible poner a todos, tendría que escribir otra tesis de todos ustedes y la verdad ya me quiero titular los quiero.

Dedicatorias

A Julia Aguilar † por ser la maestra quien me enseñara mis primeras líneas, las primeras letras, por darme los primeros consejos y por cuidarme con ese cariño que solo una madre puede dar.

A Mi querida profesora María de Jesús Sánchez Colín † por compartirme de su amor por la docencia en toda la extensión de la palabra, sobre todo enseñarme que todo alumno es valioso y merece atención, por dirigir mi tesis y su apoyo incondicional.

A un logro escuchar su voz diciéndome ¡hasta que te titulas condenado!

Con amor y respeto... gracias.

A Jaime Peñaloza por su apoyo incondicional en todas las decisiones de mi vida tanto buenas como no tan buenas, por guiarme paso a paso desde que era niño por ser mi ejemplo a seguir hoy sé que tengo un amigo en quien confiar. Para tí papá gracias.

A Evelia Remigio por su amor y cariño ilimitado, por enseñarme que se debe de tener una buena alimentación aun si no se quiere ser profesionista, por darme el ejemplo de una mujer emprendedora pero sobre todo muy trabajadora te quiero mucho mamá gracias.

A mis hermanas Jessica Elizabeth Peñaloza y Marlene Peñaloza por escucharme y estar al pendiente de mí en todo momento, bien dicen hermanos en lo bueno y en lo malo sin pedirnos nada a cambio las quiero.

A Elizabeth Bonilla por las risas, los secretos y los sueños compartidos gran parte de estudiar y terminar esta carrera es gracias tí, haberte conocido me motivo a seguir adelante a un recuerdo cuando quería ser francesero y tu cara de ¡hay no por favor! jajaja. Inviernos y primaveras pasaran pero mi corazón siempre contigo estará. Te quiero mucho Ely.

*P.D. Tu alma y la mía, dos almas gemelas que se encontraron en
la vida...*

Lo bueno ha pasado lo mejor está por venir.

RESUMEN

En el cultivo de *Solanum lycopersicum* L. (jitomate) se utiliza una gran cantidad de agroquímicos, para aumentar su producción debido a su alta demanda por consumo en fresco o industrializado, lo que ha provocado la contaminación de mantos acuíferos y una sobreexplotación de los suelos haciéndolos cada vez menos fértiles.

Como una alternativa para el cultivo de *Solanum lycopersicum* L. se planteó el uso de vermicomposta y de biofertilizantes como *Rhizophagus intraradices* (hongo micorrízico arbuscular) y de *Azospirillum* sp., (bacteria fijadora de nitrógeno atmosférico N₂). Por lo que la aplicación de un inóculo de *Rhizophagus intraradices* y de *Azospirillum* sp., a semillas de *Solanum lycopersicum* L., facilitará una mayor captación de agua y nutrimentos, por ello se espera mantener el rendimiento de frutos frescos y un buen desarrollo de las plantas inoculadas con respecto a las no inoculadas en condiciones de invernadero.

Por lo que el siguiente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum* sp., sobre el rendimiento y las variables morfológicas del jitomate bajo condiciones de invernadero en Xochimilco, también se calculó el porcentaje de colonización de *Rhizophagus intraradices* y antes, 45 y 137 días de crecimiento.

El desarrollo de las plantas se evaluó mediante las variables morfológicas, realizando un ANDEVA para ver si había diferencias entre las medias de los tratamientos y posteriormente se aplicó una prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95% (P-value>0.05) para verificar si existían diferencias entre los tratamientos. Posteriormente se utilizó el software estadístico SSPS para realizar una prueba factorial de mediciones repetidas para determinar en qué tiempos existían diferencias para cada tratamiento.

Los resultados obtenidos confirman el establecimiento de *Rhizophagus intraradices* y

Azospirillum sp., en la raíz de las plantas a los 45 días después del trasplante, la colonización de *Rhizophagus intraradices* aumenta cuando se inocula junto con *Azospirillum sp.* Sin embargo *Azospirillum sp.*, tuvo mejor efecto en el número de hojas, diámetro del tallo, peso y volumen de raíz; pero el mejor rendimiento se logra cuando se inocula con *Rhizophagus intraradices* con un rendimiento obtenido de 124.72 ton ha⁻¹ aunque el rendimiento disminuyó en un 22% con respecto al cultivo tradicional en invernadero utilizando agroquímicos, esta pérdida posiblemente se puede compensar con el valor agregado de ser un producto orgánico con un sabor intenso, olor agradable, color rojo vivo con brillo natural y una durabilidad en anaquel sin refrigeración de 15 días en promedio lo que confiere una calidad suprema y un valor económico alto en comparación al producto convencional.

Por lo que se puede concluir que si se desea mayor crecimiento en las plantas se propone el uso de *Azospirillum sp.*, y para obtener un mejor rendimiento se propone el uso de *Rhizophagus intraradices*.

INTRODUCCIÓN

La relación suelo planta tiene diferentes enfoques sin embargo el más importante tiene que ver con la fertilidad del suelo, cualidad resultante de las interacciones físicas, químicas y biológicas mismo que se relacionan con las condiciones ambientales como lluvia, altas o bajas temperaturas (Sánchez, 2007:19). Las interacciones biológicas se establecen con una gran diversidad de microorganismos dentro de los cuales se encuentran las bacterias, hongos, actinomicetos, algas y protozoos formando poblaciones que pueden llegar a millones por gramo de suelo (Nogales, 2005: 41-42; Di Barbaro, 2009:4). Existen diferentes tipos de microorganismos algunos pueden ser patógenos causantes de enfermedades y microorganismos benéficos que tienen la capacidad de hacer más disponibles los nutrimentos para las plantas.

Los microorganismos benéficos son conocidos como biofertilizantes que son una mezcla de bacterias u hongos edáficos en un soporte inerte, que al ser aplicados ya sea en semillas o plántulas, incrementa significativamente la producción agrícola (Aguirre-Medina y col, 2009:11-12.).

Dentro de los biofertilizantes se encuentra *Azospirillum sp.*, bacteria con una distribución geográfica muy amplia adaptándose a cualquier condición climática (Döbereiner y col, 1976:1465; Pérez, 2005:5-7, Bashan y col, 1995:1938). No se ha definido el mecanismo principal por el cual *Azospirillum sp* promueve el crecimiento vegetal sin embargo se tienen algunos mecanismos de acción como la fijación de nitrógeno atmosférico gracias a la enzima llamada nitrogenasa, solubilización de minerales y síntesis de fitohormonas debido a estos mecanismos de acción se les considera dentro del grupo de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal o PGPR por sus siglas en ingles (Plant Growth Promoting Rizobacteria) (Canto y col, 2004, Carcaño-Montiel, y col, 2006:493; Gholami y col, 2009:19).

Otro microorganismo considerado como biofertilizante son los hongos micorrízicos arbusculares (HMA). Estos son considerados microorganismos cosmopolitas que forman asociaciones con el 80 y 90% de las plantas (Aguilera y col,

2008:300). Los HMA surgieron antes de la colonización del medio terrestre por las plantas durante el Ordovícico, aproximadamente hace 460 millones de años, lo cual indica que la micotrofia se pudo haber desarrollado junto con la evolución vegetal confiriendo a las plantas ventajas adaptativas importantes.

Se les conoce también como endomicorrizas debido a que el hongo se desarrolla intracelularmente formando estructuras en forma de un diminuto arbolillo llamado arbusculo que es el sitio de intercambio entre la planta y el hongo. A este proceso de intercambio entre la planta y el hongo se le conoce como simbiosis, donde la planta ofrece un beneficio a su huésped un beneficio a cambio de recibir otro, la planta suministra al hongo fuentes de carbono procedentes de la fotosíntesis (proceso que el hongo no puede realizar) y le brinda protección (Gianinazzi-Pearzon; 2006:1) por su parte el hongo le facilita a la planta la absorción de agua y de nutrimentos principalmente P, N, K, Ca, Mg, Si, Cu, Zn, B y Fe, debido a la exploración de un mayor volumen de suelo por la hifas que, en condiciones extremas, la raíz difícilmente obtendría por si sola. Debido a estos múltiples beneficios de los biofertilizantes se consideran como una alternativa para frenar el deterioro ecológico promoviendo la sanidad y productividad en cultivos de importancia nutricional y económica como el caso de *Solanum lycopersicum* L. (jitomate).

OBJETIVOS

GENERAL

- Evaluar el efecto de *Azospirillum* sp. y *Rhizophagus intraradices* sobre el rendimiento y las variables morfológicas del jitomate bajo condiciones de invernadero en Xochimilco.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo de las camas de cultivo.
- Calcular el porcentaje de colonización de *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum* sp antes de la siembra, a los 45 y a los 137 días de crecimiento.
- Cuantificar el efecto de la aplicación de *Azospirillum* sp. y *Rhizophagus intraradices* sobre las variables morfológicas (altura, diámetro del tallo, número de brotes florales, número de hojas, peso, volumen y tamaño de raíz).
- Determinar el rendimiento de *Solanum lycopersicum* L. en los diferentes tratamientos experimentales.

JUSTIFICACIÓN

En el cultivo de jitomate se utiliza una gran cantidad de fertilizantes químicos.

Su alta demanda se debe a conceptos de exportación por su consumo en fresco ó industrializado y por su alto contenido de antioxidantes en particular de vitamina E y en menor medida vitamina C.

Debido a su alta demanda se propone el uso de abonos orgánicos como la vermicomposta y de biofertilizantes como hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y *Azospirillum sp.* Como una alternativa para frenar el deterioro ecológico, mantener el rendimiento y calidad de tan importante producto agrícola.

HIPÓTESIS

Si se inocula en semillas de *Solanum lycopersicum* L. con *Rhizophagus intraradices* y o *Azospirillum sp.*, se podrá mantener un buen desarrollo y buen rendimiento en la producción de frutos frescos en plántulas inoculadas con respecto a las no inoculadas en condiciones de invernadero.

CAPITULO I

EL SUELO Y SU INTERACCIÓN CON PLANTAS Y MICROORGANISMOS

La relación suelo-planta tiene que ver principalmente con la fertilidad del suelo, cualidad que es resultado de las interacciones entre las características físicas, químicas y biológicas que se relacionan con la temperatura, lluvia, humedad relativa entre otros (Figura 1), estas interacciones deben de tener la capacidad de suministrar todos y cada uno de los nutrimentos en cantidad y forma adecuada para su crecimiento y desarrollo de las plantas (Sánchez, 2007:19). La fertilidad del suelo es vital para el rendimiento de los cultivos, sin embargo un suelo fértil no es necesariamente un suelo productivo. Esto se debe a que existe un mal drenaje, enfermedades causadas por plagas u hongos, sequías y otros factores pueden limitar la producción, por lo que se requiere conocer los requerimientos para cada cultivo.

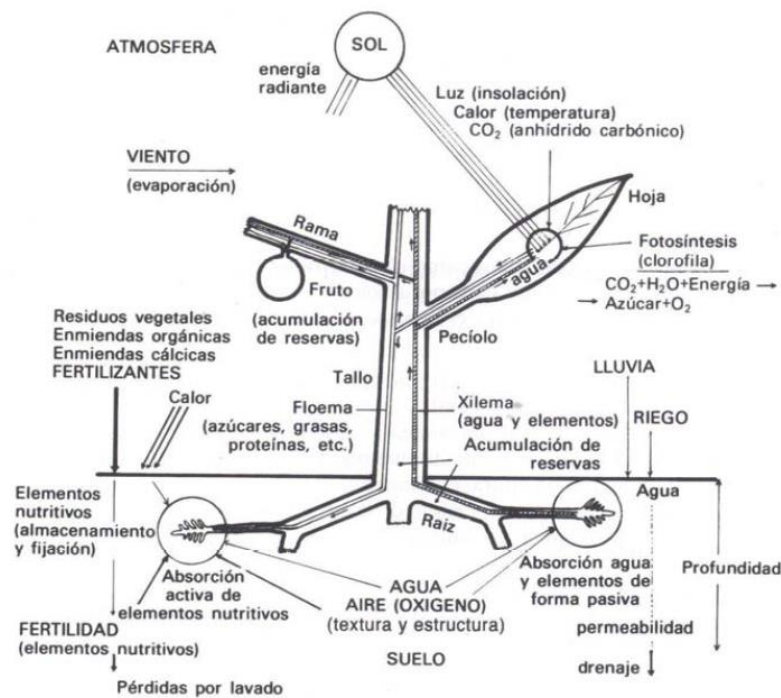


Figura 1. Esquema simplificado de las interacciones entre las características físicas, químicas y biológicas del suelo que se relacionan con la oferta ambiental.

Estos requerimientos están enfocados en una armónica interrelación de cada uno de los siguientes parámetros:

Parámetros físicos: Condicionan el desarrollo del sistema radicular y su aporte hídrico. Las propiedades físicas se identifican por textura, estructura, porosidad, aireación, capacidad de retención hídrica, estabilidad de agregados. (Ojeda, 1996).

La textura es la característica más importante y permanente del suelo, se refiere a la porción relativa de las partículas de arena, limo y arcilla. Relacionada con muchas reacciones físicas y químicas del suelo, importantes para el desarrollo de cultivos (Ibarra y col., 2008). Se considera que un suelo presenta buena textura cuando, la proporción de los elementos que lo constituyen, le brindan a la planta la posibilidad de ser un soporte que permita un buen desarrollo radicular derivado del contenido de espacio poroso y brinda un adecuado nivel de nutrientes.

Dentro del espacio poroso se pueden distinguir microporos y macroporos. Los primeros son los que retienen el agua, parte de la cual es disponible para las plantas. Los segundos no retienen el agua por la fuerza de la gravedad, por lo tanto son los responsables del drenaje y aireación del suelo, constituyendo además, el principal espacio en el que se desarrollan las raíces.

La aireación se define como la fracción de espacio poroso ocupada por aire en el suelo. La profundidad del suelo influye en la capacidad de aireación, a mayor profundidad menor es la capacidad de aireación. Cuando la capacidad de aireación es reducida se presenta la deficiencia de aire (O_2) y las plantas muestran síntomas de falta de agua.

La capacidad de aireación está ligada a la compactación del suelo, su deficiencia provoca escaso desarrollo radical, poco crecimiento de la parte aérea, síntomas de marchitamiento a un con suelo húmedo, y muerte de la planta.

Parámetros químicos: Se define como la reserva de los nutrimentos, su aporte y disponibilidad para las plantas. Estos parámetros se caracterizan por su capacidad de intercambio catiónico, pH, materia orgánica, macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S)

y micronutrientes (B, Fe, Mo, Mn, Zn, Cu, Na y Cl), y sus formas químicas en el suelo que condicionan su biodisponibilidad (Figura 2 y 3), (Ojeda, 1996).

La disponibilidad de los nutrimentos se ve favorecida cuando se encuentra en un rango de pH de 6.5 a 7.5, cuando el pH del suelo aumenta, la disponibilidad de la mayor parte de los nutrientes baja y de igual manera cuando el pH es bajo, la disponibilidad de los nutrientes es limitada.

Elemento	Sim	Forma de Absorción
Carbono	C	CO ₂
Oxígeno	O	O ₂ y H ₂ O
Hidrógeno	H	H ₂ y H ₂ O
Nitrógeno	N	NO ₃ ⁻ y NH ₄ ⁺
Fósforo	P	H ₂ PO ₄ ⁻ y HPO ₄ ²⁻
Potasio	K	K ⁺
Calcio	Ca	Ca ²⁺
Magnesio	Mg	Mg ²⁺
Azufre	S	SO ₄ ²⁻
Hierro	Fe	Fe ²⁺
Manganeso	Mn	Mn ²⁺
Cobre	Cu	Cu ²⁺
Zinc	Zn	Zn ²⁺
Boro	B	H ₂ BO ₃ ⁻
Molibdeno	Mo	MoO ₄ ²⁻
Cloro	Cl	Cl ⁻
Sodio	Na	Na ⁺

Figura 2. Nutrimentos esenciales para las plantas y su forma de absorción.

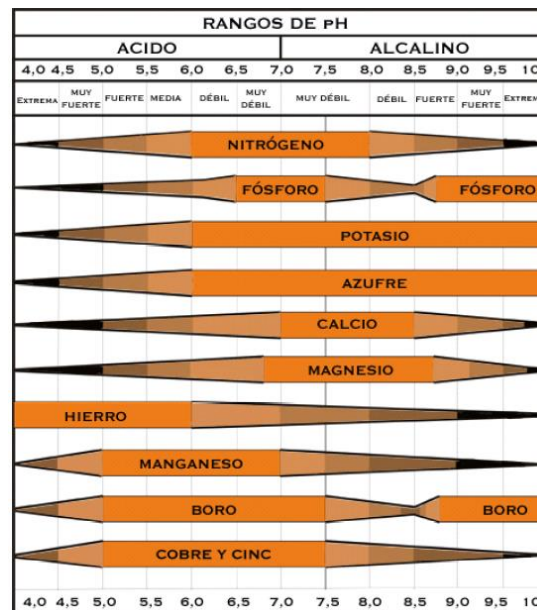


Figura 3. Disponibilidad de nutrimentos con respecto al pH (Tomada de Sánchez, 2007).

Parámetros biológicos: Estos parámetros son utilizados como indicadores de la calidad del suelo, que se determina por la presencia y actividad de los microorganismos y está conformada por bacterias y hongos, que presentan su mayor actividad en la rizosfera, lo que les confiere un papel importante en la fertilidad, por utilizar materia orgánica como sustrato y como fuente de energía, interviniendo en la producción de enzimas, ciclos de Carbono, de Nitrógeno, transformaciones biológicas de nutrientes, procesos de humificación y mineralización. (Ojeda. 1996; Reyes y Valery, 2007).

Los microorganismos son la fuente principal de enzimas, y a pesar de sus relativamente bajas cantidades, juegan un rol fundamental en el mantenimiento y dinámica de los nutrientes, a través del ciclado de la materia orgánica. Algunas enzimas, como las fosfatasas están a cargo de la hidrólisis de diversos ésteres fosfatos orgánicos e inorgánicos y ureasa, una hidrolasa relacionada con la transformación del nitrógeno orgánico a amoníaco, están involucradas en los ciclos del fósforo y nitrógeno, respectivamente. Estas enzimas se sintetizan y se secretan extracelularmente por microorganismos tales como bacterias u hongos, formando parte de la matriz del suelo. Por lo tanto, las actividades de estas enzimas exocelulares y la disponibilidad de nutrimentos se pueden regular de manera indirecta por los microorganismos, o directamente a través de condiciones físico, químicas ya que se pueden estabilizar por medio de la unión de las enzimas a los coloides del suelo (Ferrerías y col., 2009).

La principal dificultad que entraña el estudio de las interacciones planta-suelo y los procesos de retroalimentación, radica en que la distribución de las especies a menudo responde a la variabilidad de factores tales como clima, topografía, suelo mineral entre otros, lo que impide aislar el efecto de las plantas sobre las características del suelo. En estos casos, existe una combinación compleja de los efectos de las especies sobre los procesos del ecosistema y de las condiciones ambientales sobre las especies.

LOS MICROORGANISMOS Y LA FERTILIDAD DEL SUELO.

La variedad de plantas es la característica más llamativa de la superficie terrestre, sin embargo, existe un recurso natural menos conocido, en cuanto su origen, historia, desarrollo y distribución geográfica; cumpliendo con el sostén básico de nuestra supervivencia, así como el de plantas y animales: la diversidad microbiana. (Whitman y Wiebe, 1999:16).

Los microorganismos han colonizado exitosamente cada nicho ecológico posible. Se encuentran en todas las regiones del planeta, desde los polos, en ambientes muy fríos o secos, hasta los trópicos con temperaturas altas y con elevada precipitación pluvial (Olalde y Aguilera, 1998: 289).

Pocos ambientes de la tierra están habitados por tal gran cantidad y variedad de microorganismos como en un suelo fértil. Nogales (2005) menciona que bacterias, hongos, actinomicetos, algas, protozoos, forman una población que puede llegar a mil millones de unidades por gramo de suelo, mientras que Di Barbaro (2009), menciona que dentro de esos grupos, las bacterias son los organismos más numerosos en el suelo (entre 10^6 y 10^7 bacterias existentes en un gramo de suelo), los hongos dado su mayor tamaño pero en menor abundancia tienen la biomasa más significativa, siendo todos estos microorganismos invisibles a la observación directa.

Existen diferentes tipos de microorganismos en el suelo, tanto patógenos como benéficos. Los microorganismos benéficos para la agricultura son muchos y desarrollan sus funciones bajo la influencia de las raíces de las plantas. La raíz, además de las funciones de anclaje, absorción, transporte de agua y nutrientes al sistema vascular, pone a la planta en contacto con la rizósfera, que se extiende desde la superficie de la raíz hasta 2 mm fuera, es decir la zona del suelo que rodea a las raíces de las plantas donde abundan los microorganismos (Arshad y Frankenberger, 1998:2; Bowen y Rovira, 1999: 2-3).

Los microorganismos cumplen un papel clave en la formación del suelo, en

especial en el desarrollo de suelos fértiles debido a su participación en los ciclos biogeoquímicos de elementos tales como el oxígeno, carbono, azufre, fósforo, nitrógeno, entre otros, en interacciones bióticas (tróficas, parásitas, patógenas y simbióticas), como las que se establecen con organismos más complejos tales como plantas y nematodos (Collados, 2006: 6-9; Sáenz, 2006:27-28).

Uno de los ciclos más importantes es el ciclo del nitrógeno que en condiciones naturales, el nitrógeno atmosférico entra a los ecosistemas terrestres por medio de la fijación (Roesch y col, 2008:92); la atmósfera contiene un 78% de nitrógeno atmosférico, sin embargo este se encuentra no disponible para la mayoría de los organismos, únicamente cierto tipo de bacterias, conocidas como fijadoras de nitrógeno, tienen la capacidad de romper el triple enlace del nitrógeno y fijarlo en forma de amonio (NH_4), que utilizan diferentes tipos de organismos para su crecimiento.

Estas bacterias están en formas de vida libre en suelos, sedimentos y agua; o formando nódulos con las raíces de ciertas plantas vasculares; o en líquenes como asociaciones mutualistas con hongos (Chapin y col, 2002:50; Lara y col., 2007:7-8).

Los hongos son otro grupo importante presente en el suelo, han sido ampliamente estudiados en la mayoría de las regiones del planeta, en particular los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), los cuales tienen un papel fundamental en la productividad de las plantas con las que establece una asociación simbiótica e intervienen en el proceso de captura de agua y nutrimentos y por ende en la supervivencia y vigor de las plantas (Samaniego-Gaxiola y Chew-Mandinaveitia, 2007:384). Actualmente hay pocos estudios de estos microorganismos basta mencionar que el 99% de los microorganismos son desconocidos y solo el 1% de estos está bien identificado lo que se convierte en un campo amplio para la investigación microbiológica.

QUÉ ES UN BIOFERTILIZANTE: IMPORTANCIA Y DEFINICIÓN

Actualmente se utilizan diferentes microorganismos benéficos también llamados “biofertilizantes” para mejorar la productividad agrícola. Todos son una fuente facilitadora de los nutrientes, que benefician el funcionamiento de los cultivos y forman parte de una tecnología que garantiza una productividad biológica, económica y ecológica sin la contaminación del ambiente con inocuidad reconocida por el hombre (Aguirre-Medina y col, 2009:11-12).

Se denomina biofertilizante a la mezcla de bacterias u hongos edáficos con un soporte inerte, que al ser aplicado en suelo ya sea en semilla o plántula, incrementa significativamente la productividad agrícola. Este efecto se debe a que los microorganismos utilizados, tienen la capacidad de realizar uno o más de los siguientes mecanismos de acción:

- **Fijación de nitrógeno atmosférico:** Su reducción de N_2 a NH_4 le permite ser utilizado tanto por las mismas bacterias como por las plantas.
- **Solubilización de minerales:** Esto se traduce en aumento de la disponibilidad de nutrientes.
- **Producción de sideroforos:** Compuestos orgánicos quelantes que acomplejan al hierro oxidado, el cual es reducido a la forma disponible para las bacterias y las plantas.
- **Producción de fitohormonas:** Algunas de estas hormonas estimulan el crecimiento de las raíces, lo que favorece una mayor absorción de agua y nutrientes (Arshad y Frankenberger, 1991).
- **Mineralización de materia orgánica:** Este mecanismo asegura la liberación de compuestos que son fácilmente asimilables por las plantas (Domínguez, 2006:9, Ocampo y col, 2001:2-3).

La conjugación de dos o más mecanismos de acción presentan beneficios tales como:

- i) Estimulación de la germinación de semillas,
- ii) Aceleración del desarrollo de las plantas,
- iii) Incremento del rendimiento de cultivos de interés comercial (Hernández y Chailloux, 2001:16-17; Ocampo y col, 2001:4).

Es por ello que el desarrollo y uso de los biofertilizantes se contempla como una alternativa para la sustitución parcial o total de los fertilizantes minerales. La aplicación de bacterias que interaccionan con las plantas es considerada una opción viable en muchos países y actualmente las bacterias promotoras del crecimiento vegetal; en particular con bacterias fijadoras de nitrógeno y productoras de fitohormonas, así como también el uso de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), se busca su aplicación en México.

CAPITULO II

EL GÉNERO *Azospirillum* sp.

Las primeras especies de *Azospirillum* se aislaron de suelos arenosos pobres en nitrógeno por Beijerinck en Holanda en el año de 1925, inicialmente se le llamó *Spirillum lipoferum* (Bashan y Levanony, 1990:591; De Bashan y col, 2007:162-163). Esta bacteria permaneció olvidada por varias décadas hasta que Peña-Cabrales y Döbereiner, en 1973, iniciaron el estudio de esta bacteria, sin embargo fueron Tarrand y colaboradores quienes en 1978 la reclasificaron en un género nuevo: *Azospirillum*, identificando dos especies *Azospirillum lipoferum* y *Azospirillum brasilense*. (Tarrand y col, 1978; Caballero-Mellado, 2005:1).

El nombre de *Azospirillum* se deriva de los términos “azo” que significa capacidad para fijar nitrógeno atmosférico y “spirillum” que significa movimientos espirales de la célula. Actualmente, con ayuda de las técnicas de la biología molecular, se reconocen quince especies pertenecientes al género *Azospirillum*: *Azospirillum lipoferum* y *Azospirillum brasilense*, que son las especies más estudiadas y aplicadas a cultivos de importancia alimenticia; posteriormente se descubrieron las especies como *A. amazonense* en puntos de estudio del río Amazonas en Brasil por Magalhaes y colaboradores en 1983 (citado por Pedraza y Díaz, 2000:199).

La especie halo-tolerante *Azospirillum halopraeferans* se asocia exclusivamente a raíces del pasto Kallar, *Azospirillum irakense* especie que degrada pectina, fue aislada a partir de raíces de arroz; *Azospirillum largomobile* que posteriormente cambio su nombre por *Azospirillum largimobile* (Sly y Stackebrandt, 1999:541); *Azospirillum doebereineriae* en honor de quien impulsara los estudios de este género bacteriano y quien descubriera otros diazótrofos (Eckert y col, 2001:17), *Azospirillum oryzae* fue aislado de la raíz de la planta *Oryza sativa* e identificado en el 2005 (Xie y Yokota, 2005:1435), *Azospirillum melinis* como un nuevo diazótrofo aislado a partir

de malezas de la región tropical de China (Peng y col, 2006:1263-1264), *Azospirillum canadense* es una bacteria aislada de la rizósfera de plantas de maíz en Canadá (Mehnaz y col, 2007a: 620-621; López; 2007:9), *Azospirillum zea* aislada de la rizófera de *Zea mays* (Mehnaz y col, 2007b: 2805-2806), *A. rugosum* aislado de suelo contaminado con aceite (Young y col, 2008: 959-956), *Azospirillum picis* aislado de desechos de alquitrán en la ciudad de Taichung Taiwán (Lin y col, 2009:761-762), *Azospirillum thiophilum* cepa colectada de una fuente de sulfuro en Rusia (Lavrinenko y col, 2010:2832) y *Azospirillum formosense* aislado de suelo agrícola en Taiwán (Lin y col, 2011:1).

Con la descripción anterior se muestra que el género *Azospirillum* tiene una distribución geográfica muy amplia, siendo más abundante en las regiones tropicales, aunque también se encuentra en regiones con suelos subtropicales, templados, fríos y desérticos (Döbereiner y col, 1976:1465; Pérez, 2005:5-7, Bashan y col, 1995:1938). Varios factores juegan un papel importante en la presencia del género *Azospirillum* tales como el pH, el porcentaje de arcilla, contenido de materia orgánica, la capacidad de retención de agua y el contenido de nitrógeno en suelo el cual afecta negativamente la sobrevivencia de este género.

No obstante, la sobrevivencia de *Azospirillum* en la rizósfera es independiente de la aridez del suelo (Bashan y col, 1995:1938) por lo que *Azospirillum* se considera un colonizador general de la raíz y no una bacteria planta específica (Bashan y Holguin, 1997:103). Este género comprende especies de bacterias de vida libre cuyo hábitat principal es la rizósfera de cereales, constituyen el componente más importante de la alimentación humana. En la actualidad su uso comercial se está extendiendo a diferentes países, entre ellos México.

2.1 CARACTERÍSTICAS Y GENERALIDADES DE *Azospirillum* sp.

El género *Azospirillum* pertenece a la subclase alfa de las proteo bacterias, las características más importantes en la identificación de esta bacteria son: su forma de

bastón curvo, bacteria *gram-negativa* y con movilidad en espiral, misma que se pierde a las 72 horas en algunas especies. La movilidad de este género de bacterias se da mediante un flagelo polar con movimiento típico helicoidal o vibratorio en medio líquido (Figura 4), solo *Azospirillum brasilense*, *Azospirillum lipoferum* y *Azospirillum irakense* presentan un flagelo lateral el cual utilizan para desplazarse sobre la superficie cuando se desarrollan en medios de cultivos sólidos (Domínguez, 2006:4-5; Saura y col, 2003:6).

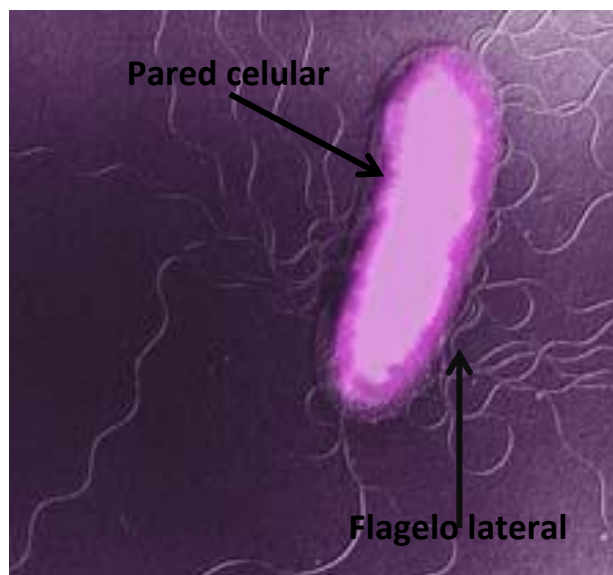


Figura 4. Morfología celular de *Azospirillum brasilense* pared celular teñida con colorante rojo congo (Rivera, 2008)

Sus dimensiones oscilan entre 0.1 μm de diámetro y de 2.1 a 3.8 μm de longitud, su temperatura óptima de desarrollo es de 30-35°C (Domínguez, 2006:4), se desarrollan bien en pH neutro aunque algunas especies prefieren condiciones ácidas, es un organismo quimio-organotrófico, usa como fuente de carbono azúcares, alcoholes, sales de ácidos orgánicos y como fuente de nitrógeno pueden disponer de nitrato, sales de amonio y ciertos aminoácidos (López, 2007:10).

Crece mejor en ambientes microaerófilos debido a que contienen un sistema enzimático que se llama nitrogenasa que es la responsable de la reducción de la

molécula de Nitrógeno atmosférico a NH_4 (Amonio) de esta forma el nitrógeno está más disponible y asimilable para los organismos vivos. (Pérez, 2005:4; Beca, 2000:43).

Las bacterias del género *Azospirillum sp.*, tienen la capacidad de producir auxinas, citoquininas y giberelinas en medios de cultivo. Una de las características fenotípicas usadas como criterios para el reconocimiento de este género, es el color rojo escarlata que toman las colonias al crecer en un medio cultivo NFB (*nitrogen free broth*) adicionando colorante rojo congo (Rivera, 2008:18).

2.2 COLONIZACION DE LA RAIZ POR *Azospirillum sp.*

Azospirillum puede colonizar la parte interna o externa de la raíz. En esta última, las bacterias tienden a formar pequeños agregados aunque se pueden encontrar distribuidas a lo largo de la superficie radical embebidas en la parte mucilaginosa que cubre la raíz (Bashan, y col, 1996:163; Sánchez-Colín, 2000; Hernández, 2003:13).

La asociación de *Azospirillum* con las raíces de las plantas se desarrolla en dos etapas independientes entre sí. La primera consiste en una adsorción rápida, débil y reversible de 1-2 horas, la cual es dependiente de proteínas de la superficie bacteriana del tipo de las adhesinas en conjunto con la participación del flagelo polar. La segunda fase consiste de un anclaje lento pero firme e irreversible. Este proceso empieza después de 8 horas de incubación y después alcanza un máximo de 16 horas de la inoculación, el cual parece ser dependiente de un polisacárido extracelular de *Azospirillum* (Caballero-Mellado, 2005; Krieg y Döbereiner, 1984: 7).

La colonización ocurre principalmente en la zona de elongación de la raíz y de los pelos absorbentes, aunque se desconoce el mecanismo de penetración de *Azospirillum* a los espacios intercelulares, existen algunas teorías al respecto que son:

- Invasión bacteriana vía tejidos corticales, en la zona en donde emergen las

raíces laterales en raíces principales.

- Invasión a través de los pelos radicales lisados y heridas mecánicas ocasionadas durante el crecimiento de la planta.
- Penetración directa a través de lamelas intermedias seguidas de degradación de la pectina una vez que la bacteria logra penetrar por hendiduras de la zona cubierta por la epidermis en donde emerge la raíz (De Bashan, y col, 2007:160).

La colonización de *Azospirillum* en las raíces vegetales permite a la bacteria establecer una asociación permanente con la planta. Esto es importante por varias razones: i) Si las bacterias no se adhieren a las células radicales, las sustancias excretadas por las bacterias se difunden hacia la rizósfera donde son consumidas por otros microorganismos. Si las bacterias se adhieren a la superficie radicular, parte de estas sustancias penetran a los espacios intracelulares de la corteza radicular. ii) Si no se encuentran firmemente adheridas, las bacterias fácilmente se pueden desprender de la raíz por el agua, provocando que mueran en el suelo, ya que se ha demostrado que *Azospirillum* no sobrevive bien en suelos sin plantas. III) Sin la presencia de *Azospirillum*, los sitios disponibles de adhesión en raíces son susceptibles de ser colonizados por otras bacterias no benéficas (De Bashan y col, 2007:166-167).

En síntesis, el mecanismo de colonización radicular de *Azospirillum* varía dependiendo de la cepa bacteriana, especie vegetal, condiciones ambientales (humedad del suelo, temperatura y pH), factores químicos, fisiológicos y nutricionales y otros todavía no identificados.

La interacción entre todas estas variables genera diferencias en grados y patrones de colonización radicular, tamaños poblacionales, y sitios de colonización. Las principales zonas de colonización, en la mayoría de las plantas estudiadas, son las de elongación y zonas de pelos radiculares. La colonización de la superficie apoyada por el anclaje fibrilar, es un aspecto fundamental en la colonización de

Azospirillum. La colonización interna de las raíces se ha demostrado solo en algunas especies vegetales.

2.3 PROMOCION DEL CRECIMIENTO VEGETAL POR *Azospirillum sp.*

No se ha definido el mecanismo principal por medio el cual *Azospirillum* promueve el crecimiento vegetal (Sánchez-Colín, 2000:13), pero se tienen algunos mecanismos de acción que pueden dar como resultado un cambio significativo en algunos parámetros de crecimiento; estos mecanismos incluyen a esta bacteria dentro del grupo de las rizobacterias promotoras del desarrollo vegetal o PGPR por sus siglas en inglés (*Plant Growth Promoting Rizobacteria*) (Canto y col, 2004, Carcaño-Montiel, y col, 2006:493; Gholami y col, 2009:19).

A continuación se describen algunos mecanismos de acción:

Fijación de (N₂) nitrógeno atmosférico, Esta fijación se efectúa gracias a que *Azospirillum sp.* contiene nitrogenasa, enzima responsable de la reducción de N₂ a NH₃ (amoníaco), que permite que sea utilizado por las mismas bacterias y por las plantas (Beca y col, 2000:43). Con el redescubrimiento de *Azospirillum*, se estudió a profundidad esta actividad metabólica, considerándose el principal mecanismo de acción por el que se logra un incremento en la producción vegetal y supresión de enfermedades, seguido de la síntesis de fitohormonas (Holguín y col, 2003:201).

La síntesis de fitohormonas es uno de los principales mecanismos propuestos en la actualidad para explicar la promoción del crecimiento vegetal. Se define como la capacidad de este microorganismo para producir y metabolizar compuestos tales como ácido indol acético; citocininas (Tien y col, 1979: 1016), giberelinas, etileno y auxinas así como de otras moléculas reguladoras del crecimiento vegetal, tales como el ácido abscísico (ABA) (Perrig y col, 2007:1143) y la diamina cadaverina (Cassán y col 2008: 61). Está comprobado que estos compuestos incrementan la velocidad de desarrollo y el rendimiento de las plantas (Camelo y col, 2011:161).

En particular se han estudiado las auxinas, hormonas que están vinculadas a procesos de crecimiento del sistema radical y la formación de nódulos como respuesta a la luz, gravedad (Aguilar-Piedras y col, 2008:30-31), diferenciación de tejidos vasculares, dominancia apical, iniciación de las raíces laterales y adventicias lo que promueve la captación de agua y minerales estimulación de la división celular y promueve en consecuencia el crecimiento y rendimiento de los cultivos (Ross y col, 2000: 548; Pérez, 2005; Lara y col, 2011:188.).

Dubrovsky y col (1994), demostraron que la inoculación con *Azospirillum brasilense* en *Arabidopsis thaliana* incrementaba la longitud de los pelos radicales hasta en 2 veces más, comparado con el control. Estos resultados revelan que las auxinas de origen microbiano y en particular, las producidas por *Azospirillum sp.* pueden tener un interés significativo en la industria agrícola. Estos compuestos producidos en forma continua y a baja concentración en el exterior de raíces o en el interior de la planta, proveen de una dosis hormonal constante que resulta suplementaria y beneficiosa.

La producción de citocininas se ha asociado a un buen número de procesos fisiológicos y celulares, entre los que se detallan la formación y crecimiento de brotes laterales (axilares), es decir, que vencen la dominancia apical, promueven la división celular, la movilización de nutrientes hacia las hojas, ayudan a la germinación de las semillas y el desarrollo de brotes (Di Barbaro y col 2005:82), ayudando a la maduración de los cloroplastos y a la expansión celular en hojas, fomentando el desarrollo de la raíz y a la formación de pelos radicales (Figura 5) (De Bashan y col, 2007: 178; García de Salamone y col, 2001:405; Jordan y Casaretto, 2006: 19).



Figura 5. a) Raíz sin *Azospirillum sp.* escaso crecimiento de raíces secundarias; b) Raíz con *Azospirillum sp.*, desarrollo de raíces secundarias. Okon Y. y Vanderleyden J. (1997)

Las giberelinas constituyen un amplio grupo de compuestos naturales, las más comunes son: GA_1 , GA_3 , GA_4 , GA_7 y GA_9 , estas estimulan el crecimiento del tallo, interrumpen el periodo de latencia de las semillas e inician la floración, también incrementan la velocidad del desarrollo de los frutos (Rademacher, 1994:303; Cassán y col, 2001:66).

La solubilización de minerales y mineralización de materia orgánica se traduce en un aumento de nutrientes disponibles, asegurando la liberación de compuestos que son fácilmente asimilados por las plantas (Díaz y col, 2001:328).

En la producción de sideróforos, el hierro es un elemento esencial para el crecimiento de los organismos, las plantas lo obtienen del suelo y cuando la disposición de nutrientes es limitada, los habitantes de la rizósfera entran en competencia por adquirirlo (O'Sullivan y O'Gara, 1992:667). Esta limitación ayuda a suprimir en algunos casos a microorganismos patógenos, ya que se depende del tipo de planta, del fitopatógeno a eliminar, de la composición del suelo y de la afinidad de sideróforo por el hierro (Sarabia y col, 2010:67). Este tipo de bacterias producen compuestos de bajo peso molecular llamados sideroforos, son compuestos que desempeñan la función de solubilizar específicamente el hierro e incorporarlo al metabolismo celular; químicamente, se consideran compuestos ligantes a hierro que

funcionan de forma general y se unen covalentemente al hierro sin generar cambios en el estado de oxidación (Camelo y col 2011:163).

Bashan y Levanony 1990 citado por López (2007:15), indican que estos mecanismos probablemente se llevan a cabo simultáneamente o de manera secuencial, lo que depende de las condiciones ambientales que predominen.

2.4 EFECTO DE *Azospirillum* sp. EN LAS PLANTAS

Azospirillum es un bacteria que representa a uno de los géneros más efectivos y mejor caracterizados como rizobacteria promotora del crecimiento vegetal, ya que es capaz de influir en el crecimiento y producción de numerosas especies vegetales de importancia agrícola, medicinal y ecológica.

Se han realizado numerosos trabajos experimentales en campo con *Azospirillum*, los resultados han mostrado que del 60% al 70% de todos los experimentos fueron exitosos con un incremento significativo del 5% y 30% en el rendimiento de las plantas. Sin embargo, también se han reportado casos en donde el efecto de *Azospirillum* en el crecimiento de las plantas ha sido indiferente o hasta detrimental. En la actualidad se ha registrado muy poco del comportamiento de plantas inoculadas con *Azospirillum* cultivadas en presencia de suelo (campo o en invernadero), debido a que los estudios se han inclinado más hacia la investigación básica (Esquivel, 2011:9)

Los estudios donde se han puesto más interés son en el efecto que tiene la fijación biológica del nitrógeno en condiciones de microaerobiosis, en donde se ha visto un incremento en la producción de numerosos cultivos (Bashan y Levanov, 1990:592), muestra que estos microorganismos son importantes desde el punto de vista agrícola (Pérez, 2005: 6).

Los cultivos inoculados con bacterias de *Azospirillum* son principalmente de la familia de las gramíneas como: el trigo (Döbereiner y col, 1976:1466; Pérez y Casas, 2005:13), mijo, arroz (Velazco y col, 1999), maíz, sorgo, avena y forrajes como

pastos (Toniutti y Fornasero, 2008:34) y plantas de otros grupos como el algodón y tomate (Bashan y Levanony, 1990:599) e incluso el henequén y cactáceas (Simancas, 2007). Debido a este creciente interés se ha seguido estudiando ampliamente desde el primer reporte de Döbereiner y Day en 1976, con efectos bien identificados como: i) en un incremento en peso seco total, mayor superficie de la hoja, concentración de nitrógeno en follaje y grano, número de mazorcas, número total de espigas y espigas más fértiles; ii) floración y aparición de espigas más temprana; iii) incremento en el número de espigas y granos por espiga; iv) tasas de germinación más altas, v) producción de raíces laterales y pelos radicales favoreciendo la absorción de nutrimentos (Bashan y Holguin, 1994:2120; Uribe y col, 2007:5).

Existen otros factores básicos que contribuyen a la compleja respuesta de las plantas ante la inoculación como el nivel de fertilización con nitrógeno, encontrando rendimientos más altos con un 75% menos de aplicación de fertilizantes nitrogenados (Casan y col, 2008:66); a la variedad de la planta cultivada ya que cada una responde de manera distinta a la inoculación.

La aplicación de un inóculo en altas concentraciones puede afectar el vigor de las plantas, se ha observado, que a una concentración 10^8 - 10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml), se inhibe el desarrollo radicular afectando de manera significativa el rendimiento de los cultivos, por lo que se recomienda una inoculación en semillas, en plántulas, en vegetales y otras plantas de cultivo comerciales una aplicación alrededor de 10^5 - 10^7 (UFC/mL) (Arsac y col, 1990).

Pero con estos datos no es posible garantizar el efecto de la inoculación sobre las plantas, debido a que numerosos trabajos reportados en la literatura agrícola, indican que experimentos de campo con diseños experimentales idénticos, conducidos simultáneamente en condiciones ambientales similares, no han producido los mismos resultados en el rendimiento que se esperaba encontrar (Bashan, 1993:286), a pesar de haber experimentado con diferentes variables del manejo agrotecnológico (maquinaria, control de hierbas y manejo de fertilizante

químicos) .

Por tal motivo, la inoculación con *Azospirillum sp.* está asociada a resultados impredecibles e inconstantes (Kaushik y col, 2002; Saubidet y col, 2002; Abril y col, 2006:2). Estos problemas podrían ser resueltos si se llegan a dilucidar los siguientes factores: mecanismo por medio del cual *Azospirillum* promueve el crecimiento vegetal; colonización radicular de *Azospirillum*; factores de interacción y competencia entre *Azospirillum* con otros microorganismos de la rizósfera y el papel de la planta huésped en estas interacciones. El conocer la participación de cada uno de estos factores en la interacción *Azospirillum*-planta, permitirá el diseño de técnicas de inoculación más efectivas en campo (De Bashan y col, 2007:162).

CAPITULO III

HONGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES (HMA)

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son microorganismos cosmopolitas que forman asociaciones ecológicamente mutualistas que se establecen entre el 80 y 90% de las plantas y un selecto grupo de hongos clasificados en el phylum *Glomeromycota*. (Schüßler y Walker, 2010:19; Aguilera y col, 2008:300).

Los HMA surgieron antes de la colonización del medio terrestre por las plantas durante el Ordovícico, aproximadamente hace 460 millones de años, lo cual indica que la micotrofia se pudo haber desarrollado junto con la evolución vegetal confiriendo a las plantas ventajas adaptativas importantes.

Etimológicamente la palabra micorriza proviene del griego *mykos* (hongo) y del vocablo latino *rhiza* (raíz), cuyo significado es hongo-raíz. Este término fue aplicado por Frank en 1855 para describir un fenómeno común que observó en las raíces de algunos árboles de bosques templados de Norteamérica. Inicialmente la asociación entre hongos del suelo y las raíces de los arboles fueron las únicas que se reconocían como micorrizas; pero en trabajos posteriores, se reporta que existía una gran diversidad de asociaciones de este tipo, no solo en plantas leñosas si no en la mayoría de los vegetales (Aguilera y col, 2008:301-302).

Los términos hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y micorrizas arbusculares (MA) convergen en la misma definición, incluyendo a las estructuras de resistencia y de dispersión llamadas esporas (lo que equivale funcionalmente a la semilla de una planta) y al micelio externo. Se emplea la palabra micorrizógenos, cuando los hongos se encuentran en forma libre, esto es, sin colonizar aún la raíz de alguna planta (López, 2007: 14). Mientras que el término micorriza se emplea cuando se hace referencia a la simbiosis en sí, es decir, a la raíz de una planta colonizada por uno o varios hongos micorrizógenos, que ahora genera una nueva entidad (Padilla y col, 2004:2). Más del 90% de las angiospermas, algunas pteridofitas,

gimnospermas y rizoides de musgos tienen uno o más de estos hongos asociados (micobiontes). Se les conoce también como endomicorrizas debido a que el hongo se desarrolla en el interior de la raíz de la planta hospedera, formando estructuras intracelularmente en forma de un diminuto arbolillo llamado arbúsculo que es el sitio de intercambio entre la planta y el hongo.

A este proceso de intercambio entre la planta y el hongo se le conoce como simbiosis, donde la planta ofrece un beneficio a su huésped a cambio de recibir otro; es decir, hay un beneficio mutuo producto de un intercambio bidireccional “hongo-planta”: la planta suministra al hongo fuentes de carbono procedentes de la fotosíntesis (proceso que el hongo no puede realizar) y le brinda protección (Gianinazzi-Pearson; 2006:1) mientras que el hongo le facilita a la planta la absorción de agua y de nutrimentos principalmente P, N, K, Ca, Mg, Si, Cu, Zn, B y Fe, debido a que la extensión de las hifas extraradicales de la micorriza, van más allá de la zona de agotamiento, lo que ocasiona por un lado, un incremento del área de absorción y por otro la exploración de un volumen mayor de suelo, que en condiciones extremas difícilmente obtendría la raíz por si sola sin ayuda del hongo.

Actualmente se conocen con cierta precisión los beneficios que brindan los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en los ecosistemas y en la agricultura, tales como la formación de suelo, gracias al efecto de las glicoproteínas como la glomalina que actúa como cementante (Morell y col 2009), favoreciendo la agregación de las partículas del suelo (Figura 6) (Borie y col, 2008:10; Singh 2012:119), fertilización del sustrato, estructuración de la comunidad vegetal (interacción planta-planta), producción secundaria como fuente de alimento; esporas consumidas por nemátodos, modificación de contaminantes edáficos (Montaño y col, 2007: 26-29; Rillig, 2004:356).

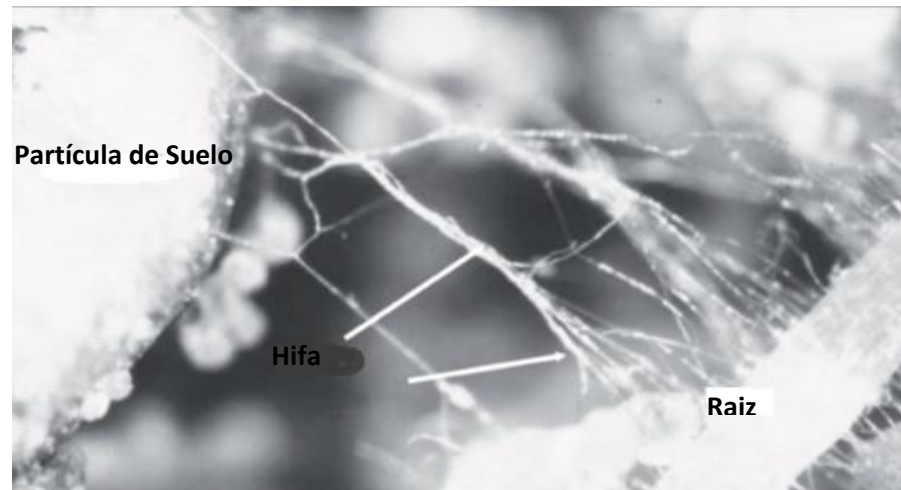


Figura 6. Glomalina actúan como cementante lo que favorece la agregación o formación del suelo (Tomada y modificada Barrer, 2009).

Por su efecto sobre las plantas de interés agrícola o forestal, los HMA se usan como inoculantes de aplicación práctica en la agricultura y en programas de reforestación de los bosques.

Al respecto, se ha documentado que las plantas micorrizadas resisten mejor las condiciones adversas en el suelo, como son la falta de agua, de nutrimentos esenciales como el fósforo (P) y el nitrógeno (N) (los HMA proporcionan hasta un 80% y 25% del P y N requeridos por las plantas), a el ataque de microorganismos patógenos e incluso, pueden proteger a sus hospederos de efectos nocivos producidos por contaminantes tóxicos (Sánchez-Colín, 2003). Sin embargo, si el P no es un elemento limitado en el suelo, la simbiosis puede llegar a ser reducida o inhibida si se encuentra en altos niveles en el suelo (Barrer 2009:125).

3.1 MECANISMOS DE COLONIZACIÓN

Los tejidos de la raíz colonizados por el hongo son los más externos: la epidermis y las células corticales, mientras que los meristemas y los tejidos vasculares son resistentes a la infección micorrízica (Díaz y col, 2008: 36).

La infección o colonización de la raíz por parte de un hongo micorrízico es un

proceso que involucra una secuencia de etapas reguladas por una precisa interacción entre endosimbionte y hospedero. En términos generales las etapas básicas son: a) pre-infección, b) penetración c) colonización intraradical d) desarrollo del micelio externo e) esporulación del hongo y f) re-infección (Figura 7) (Román 2003:10; Rodríguez 2008:12)

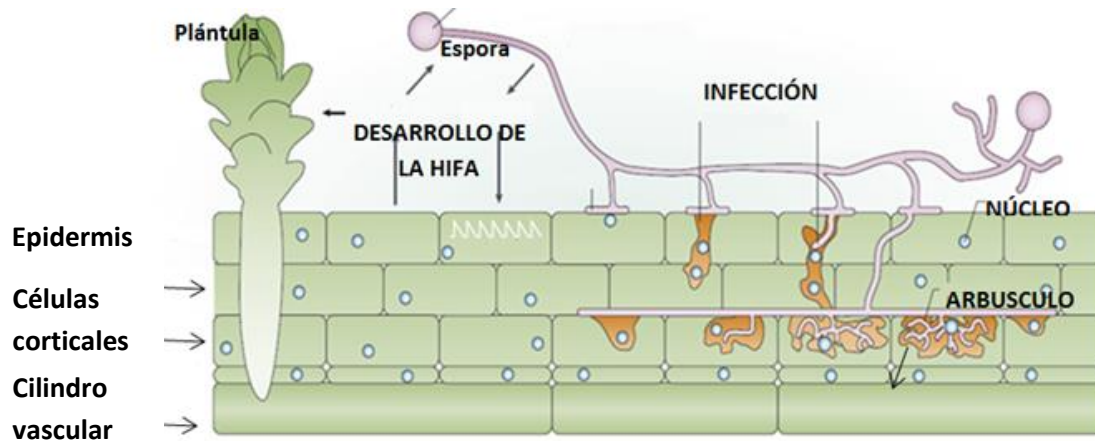


Figura 7. Colonización micorrízica (Imagen tomada y modificada de Parniske M. 2008.)

Las esporas se consideran solo uno de los tipos de propágulos de los hongos micorrízicos arbusculares debido a que las raíces de las plantas se colonizan también por trozos de micelio activo que se ramifica para desarrollar la infección.

La infección se da cuando la espora del hongo germina formando el micelio activo o hifa, al tener contacto con los tejidos externos de la raíz como la célula epidérmica o un pelo radical en donde se desarrollan ramificaciones infectivas cortas (Reyes 2002:6). Posteriormente se produce la penetración de la epidermis o del pelo radical mediante la presión ejercida por la hifa en crecimiento sobre la pared celular. No se sabe si está involucrada la producción de enzimas por el hongo, pero parece probable que ocurra una alta actividad hidrolítica y se ha sugerido también que la entrada de la hifa a la raíz se facilita por la presencia de pectinasas (Aguilera y col, 2008:301).

Una vez que la hifa penetra la raíz, generalmente entre las células epidérmicas, se dispersa intercelularmente a lo largo de la corteza, alcanzando la segunda capa de células corticales. La colonización se vuelve intracelular, cuando la hifa se degrada y la pared de la célula se invagina en la membrana para ramificarse dicotómicamente muchas veces y formar una estructura parecida a un arbusto, denominada arbusculo, dentro de la célula. Este es el sitio donde se lleva a cabo el intercambio de nutrimentos llamado simbiosis (Guzmán-González y Farías-Larios 2005). Otras ramificaciones de las hifas intraradiculares en algunos géneros de hongos endomicorrízicos, forman vesículas intercelulares que parecen ser reservorios de nutrimentos dado que presentan gran cantidad de lípidos.

La vida media de un arbusculo en actividad es muy corta y varía entre dos y quince días, este continuo proceso de degradación de arbusculos a la vez que se forman otros nuevos es benéfico para la planta, un arbusculo en degradación, lleno de nutrimentos puede liberar su contenido a la célula de la raíz y a partir de allí distribuirse a toda la raíz de la planta ayudando a desarrollar diferentes tipos de hifas como las absorbentes que son las encargadas de explorar el suelo para la extracción de nutrimentos y agua más allá de la zona de agotamiento y las hifas fértiles son las que llevan las esporas (Aguilera y col, 2008:303).

La respuesta a la inoculación micorrízica depende de múltiples factores tales como i) la dependencia micorrízica de las plantas, ii) la concentración de P en la solución del suelo, iii) el número de propágulos micorrízicos infectivos y iv) la efectividad de lo HMA para incrementar la absorción de fósforo. Hay otros factores abióticos que afectan la asociación micorrízica como las diferentes prácticas agrícolas con el uso excesivo de fertilizantes fosfóricos y pesticidas que inhiben el establecimiento y la efectividad de la simbiosis micorrízica (Guerra, 2007:194).

En periodos prolongados de lluvia, la excesiva mecanización agrícola, la ausencia de cobertura vegetal y las actividades mineras favorecen la erosión del suelo y en consecuencia, reducen el número de propágulos, la biodiversidad y la actividad de los HMA. (Jaramillo y col, 2004)

3.2 CARACTERISTICAS GENERALES DE *Rhizophagus intraradices*

Rhizophagus intraradices pertenece al orden de los *Glomales* de la familia *Glomeraceae* del genero *Rhizophagus* (Schüßler y Walker 2010), se considera como micorriza abuscular ya que en las células corticales de las raíces, sus hifas forman estructuras que parecen tener forma de arbolitos microscopicos. Además en muchas ocasiones al colonizar la planta intraradicularmente desarrollan estructuras llamadas vesículas donde almacenan sustancias de reserva (Reyes, I. 2011). Su determinación se basa en la descripción de las esporas. A continuación se hace un breve descripción de ellas:

COLOR: desde blanco, crema pálido (0-0-10-0) a amarillo pardo (0-10-40-0), algunas veces con un tinte verde el color es altamente variable (Figura 8).

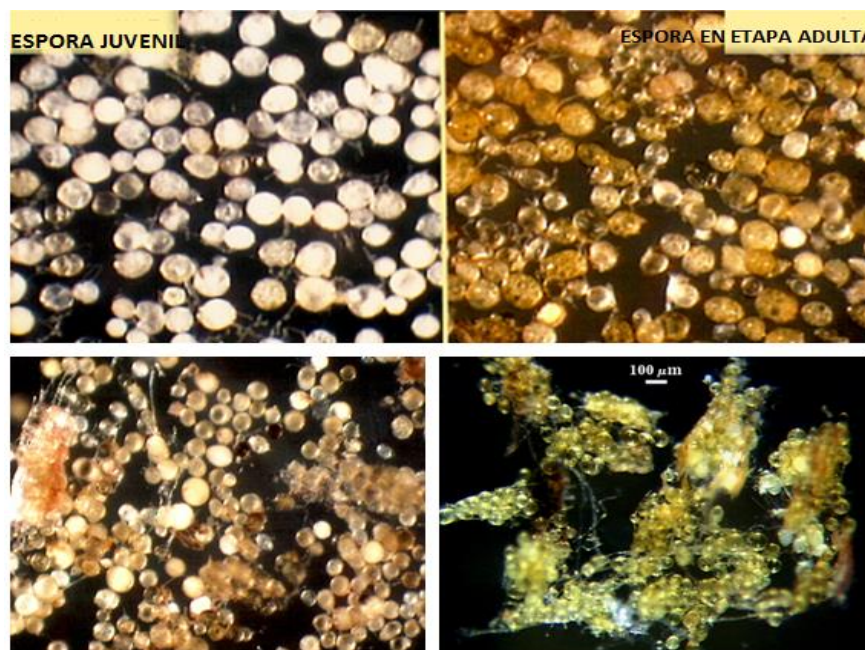


Figura 8. Estructura subcelular de las esporas (Tomada y modificada de INVAM)

FORMA: Globosa, subglobosa, irregular, con muchas esporas elípticas (especialmente las que extraen de las raíces micorrizadas).

DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO: De 40-140 µm, promedio= 93.3 µm.

PARED DE LA ESPORA: Esta constituida por tres paredes (L1,L2,L3), la primera pared está presente solo en esporas juveniles y en la pared de la hifa de sustentación (Figura: 9)

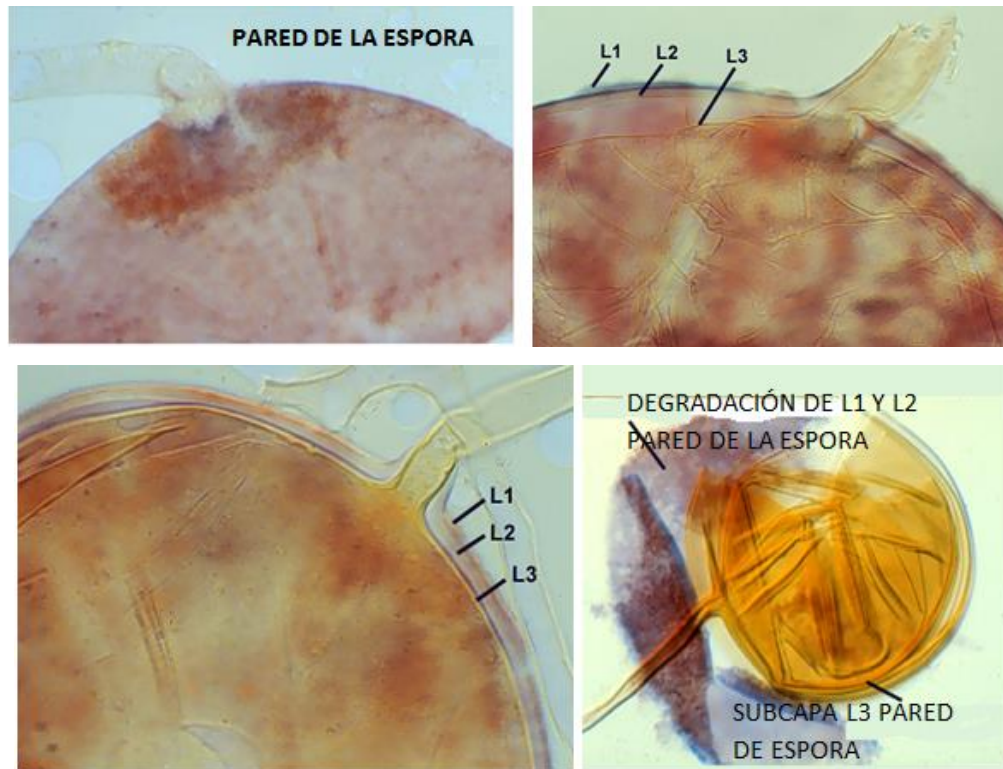


Figura 9. Estructura de las paredes de la espora tomada y modificada de INVAM

L1: Es la capa externa, hialina, mucilaginosa, tiene de 0.6-3.2 μm de espesor, con manchas que van del rosado y rojo al púrpura pálido en presencia de Melzer, cuando estan intactas las esporas juveniles. Por lo general, esta capa se degrada con la edad y se descompone naturalmente. Puede parecer granular por la acción de los microorganismos y acumular algunos detritos (Vázquez y col., 2007).

L2: Las esporas jivenes intactas presentan una capa exterior mucilaginosa adhesiva, hialina, de 1.5-4.9 μm de espesor. Con la edad, esta capa se degrada conjuntamente con L1 y tambien adquiere una apariencia granular. A las esporas maduras les falta a menudo las capas L1 y L2, o se encuentran juntas como parches ásperos.

L3: Esta capa va del amarillo al castaño pálido, la subpared (o lámina) permanece

adherida o se separa al aplicar presión. El grado de separación de las subparedes varía considerablemente entre las esporas y a menudo se ve afectado por la edad, el parasitismo, a la cantidad de presión aplicada después del montaje. En las esporas juveniles las subparedes tienen un grosor de 0.5-1 μm y la capa se espesa con la formación de subparedes adicionales. El espesor varía de 3.2-12 μm en las esporas maduras. Esta capa se forma simultáneamente en la pared de la hifa de sustentación. Este hongo micorrízico fue aislado de un suelo de la provincia de Tarragona, España (Hernández, 2001), se ha asociado con maíz, sorgo, aguacate, papaya, ajo, jitomate, cítricos, cacahuete, maíz, frijol, zanahoria, pastos y otras plantas de interés agrícola y de Biorremediación (Tapia-Goné, 2007). Todos los propágulos son altamente infectivos, por lo tanto el cultivo de ellos y propagación se puede comenzar a partir de cualquiera de las partes deseadas; los inóculos aún sin esporas mantienen un elevado potencial infectivo característica que lo hace la especie más estudiada.

3.3 BENEFICIOS DE LA SIMBIOSIS HONGO-PLANTA

Es ampliamente conocida la multitud de ventajas que tiene una planta micorrizada con respecto a una que no lo esté. Entre sus ventajas se encuentran:

- Rompen la latencia de algunas semillas, producen antibióticos que pueden reducir el efecto de patógenos fúngicos, supresión del efecto de nemátodos parásitos.
- El aporte nutricional se da por absorción, translocación y transferencia de varios elementos desde el suelo hasta la planta hospedera, esto es importante en el caso de elementos inmóviles como el fósforo (P), zinc (Zn) y cobre (Cu) ya que su disponibilidad para la planta es limitada. A su vez la mejora de la nutrición fosforada induce el crecimiento radical, lo que aumenta la capacidad de absorción de agua y de nutrientes del sistema radical y afecta a procesos celulares en raíces. La mayor toma de agua y de nutrientes se presenta en plantas micorrizadas haciendo que las plantas sean más vigorosas y más tolerantes a patógenos (Nogales, 2006).

- Mayor tolerancia a suelos salinos y sequias; se aumenta la longevidad de los pelos radicales, mayor absorción de macro y micronutrientes, mejor tolerancia a tóxicos del suelo y metales pesados, pH adverso, resistencia a altas y bajas temperaturas (López, 2005, Quilambo, 2003).

En la naturaleza el micelio extraradicular de los HMA otorgan una amplia gama de beneficios a las plantas hospederas, ya que las hifas de estas profundizan en el suelo más que los pelos radiculares, aumentando de este modo la zona de absorción. Esta inoculación favorece la supervivencia de las plantas, al incrementar la absorción de agua y nutrientes; en reciprocidad el hongo recibe de la planta hospedera, carbohidratos, sacarosa, glucosa o otros productos de la fotosíntesis, proceso que no puede llevar a cabo el hongo. Estos compuestos son transformados por la micorriza en glucógeno y manitol. La etapa de floración y fructificación la cual esta asociada con grandes requerimientos de fósforo, así como de altas tasas de respiración y fotosíntesis; en este momento es cuando más requiere la simbiosis micorrizica.

La micorriza arbuscular acumula manitol y trehalosa, estas sustancias de reserva se acumulan en forma de lípidos ya que la mitad del peso del micelio lo constituye material lipídico, lo que permite una mayor resistencia al estrés hídrico, reduce la incidencia al ataque de patógenos, por medio de los rizomorfos que son bandas alargadas de hifas paralelas, que forman una maraña que sirve como barrera física contra la entrada de patógenos (Rodríguez, 2002:36).

Estos beneficios son la consecuencia de que las hifas del hongo exploran volúmenes del suelo cientos y miles de veces más que lo que pueden hacer las raíces normalmente. Un centímetro de raíz colonizada puede tener hasta 134 cm de hifas, y en el suelo adyacente pueden tener 55 m de hifas por gramo de suelo. Mientras que en un pelo radical puede poner a disposición de una raicilla, nutrientes y agua que se encuentran hasta 2 mm de la epidermis, las hifas del hongo

micorrízico pueden hacerlo hasta 80 mm; lo que significa que pueden explorar un volumen de suelo 40 veces mayor.

Los hongos micorrízicos arbusculares son utilizados en la biorremediación, ya que transporta con mayor facilidad metales pesados captados por las hifas de la micorriza arbuscular hacia la planta vía micelio, por lo tanto las plantas micorrizadas pueden aumentar la entrada de metales pesados (fitoextracción) e incluso la micorriza arbuscular puede contribuir a la inmovilización de dichos compuestos en el suelo por la producción de abundante micelio extraradical (fito-estabilización)(Scotti y col., 2013). Debido a estos beneficios la simbiosis hongo-planta se considerada como un elemento esencial para promover sanidad y productividad en los cultivos de importancia nutricional y económica como el de *Solanum lycopersicum* L. (jitomate) que a continuación se describe.

CAPITULO IV

ORIGEN Y DOMESTICACIÓN DE *Solanum lycopersicum* L. (JITOMATE)

Durante muchos siglos, el jitomate ha recorrido grandes distancias convirtiéndose en la fruta más popular en todo el continente americano. Es originario de los Andes del Perú, donde apareció de forma silvestre con una fruta redonda de color rojo (Fernández-Ruíz y col 2007). Gradualmente se esparció a lo largo de Suramérica desde donde continuó su viaje hasta América Central. Hace miles de años, lo llamaron “xic-tomatli” en el lenguaje náhuatl (Brouwerr y col, 2006), que era el idioma que hablaba la nación azteca; fue allí donde fue cosechado, cultivado y mejorado produciendo una mayor diversidad de frutos. Por muchos años, el jitomate detuvo su camino en esa área (Silva, 2008; López 2012; Zarate 2007:9).

Con la llegada de los españoles a América, el jitomate formaba parte ya de los pequeños huertos de hortalizas del área mesoamericana, sin que su importancia económica fuera grande. Era una hierba más de la milpa.

Después de la llegada de los españoles este fruto se expandió al viejo continente y de ahí a todo el mundo. El grado de aceptación que tiene en las diversas culturas del mundo se evidencia por el hecho de ser el segundo producto hortícola en el consumo mundial (Villegas 2011:11). En México, el jitomate se consume fresco o industrializado (Figura 10), ya sea en pastas, salsas, purés, jugos.



Figura 10. Jitomate para consumo en fresco.

Existen varias clasificaciones del jitomate, en México ha predominado para su comercialización: su forma, color y tamaño. Entre las variedades destacan principalmente el jitomate “bola”, “saladett” o “guajillo” que son las de mayor producción, sin olvidar algunas como el “cherry” cuya participación es reducida (Ramos; 2007).

4.1 DESCRIPCIÓN DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE *Solanum lycopersicum* L. (JITOMATE)

Planta dicotiledónea perteneciente a la familia de las solanáceas, perenne de porte arbustivo que se cultiva como anual. Se puede desarrollar de forma rastrera, semirrecta o recta. La duración del ciclo es diferente según las variedades pueden ser de crecimiento determinado o indeterminado. En los cultivos de crecimiento determinado, el tallo después de dar un cierto número de inflorescencias, termina su crecimiento en un racimo de flores (Lobera y Romero 2009).

Se considera de crecimiento indeterminado cuando la yema apical o una yema lateral están disponibles a continuar el desarrollo vegetativo en forma indefinida, se manifiesta como plantas perenes (Nuño y col 2007:3). El crecimiento y desarrollo del jitomate comprende cinco etapas, con diferente duración según el tipo, el ambiente, cultivar y la técnica de producción.

Las etapas de crecimiento son:

- i) **Inicial** que comienza con la germinación de la semilla, con duración de 1 a 21 días.
- ii) **Vegetativa** que comprende desarrollo vegetativo que va desde la aparición de las primeras hojas verdaderas hasta los primeros brotes florales con duración de 22 a 49 días.
- iii) **Floración** que va desde la aparición de los primeros botones florales al cuajado (fecundación de frutos) de los primeros frutos, con duración de 51 a 80 días.
- iv) **Reproductiva** que comprende la fructificación con un periodo que comprendido desde el cuajado de estos frutos a fin del crecimiento de estos, con duración de 81 a 110 días (Figura 11), (Mondragon 2007; Pérez y col s/a:11).

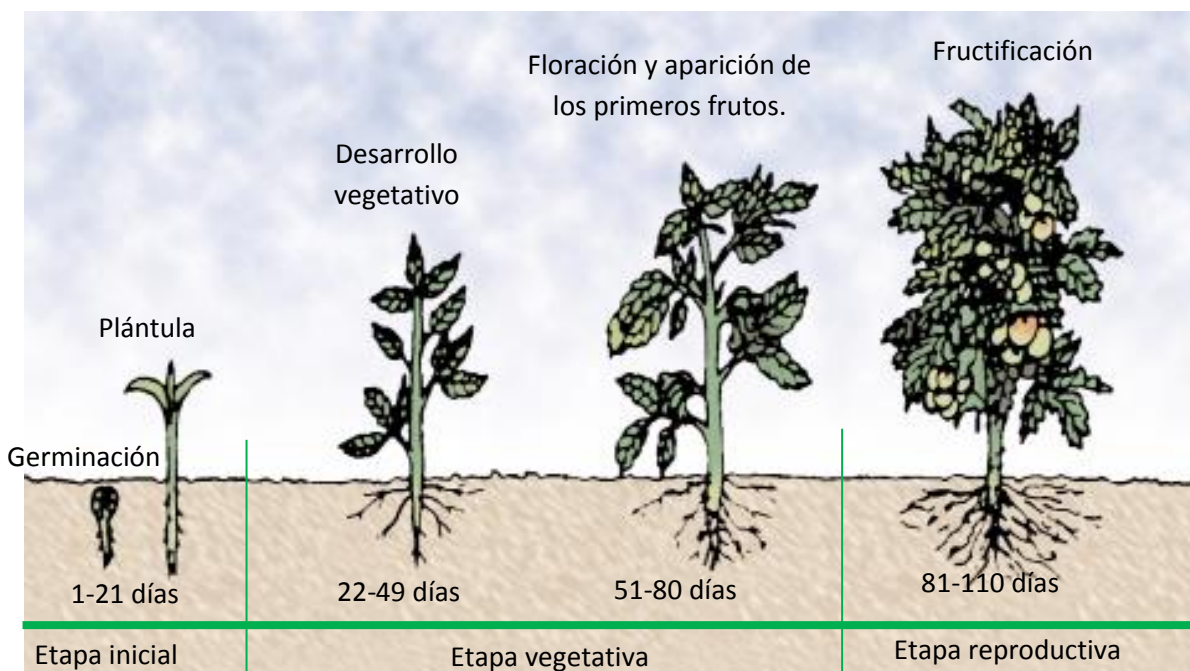


Figura 11. Etapas fenológicas del jitomate. (Tomada y modificada de Pérez y col s/a:12)

La planta se desarrolla bien en un amplio intervalo de latitudes, tipos de suelo, temperaturas y diferentes métodos de cultivo. Es moderadamente tolerante a la

salinidad, sin embargo, se desarrolla mejor en ambientes cálidos, con buena iluminación y drenaje. La exposición prolongada a temperaturas inferiores a 10 °C, la escarcha, una iluminación diurna inferior a las 12 h. Un drenaje deficiente o abonado nitrógeno excesivo dañan el cultivo y en consecuencia el fruto.

4.2 IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE *Solanum lycopersicum* L. (JITOMATE)

El jitomate es el cultivo de mayor importancia económica, socialmente es considerado como la segunda especie hortícola más importante por superficie de siembra y la primera por divisas generadas. Su popularidad se debe al aceptable sabor y disponibilidad del fruto en su amplia gama de ambientes así como su relativa facilidad para ser cultivado (Zarate 2007:10) tanto en el consumo fresco del fruto, como de su industrialización y por proporcionar sabor a la comida insípida.

El tomate es un producto muy importante en la dieta de los mexicanos, debido a sus múltiples propiedades como activador de la secreción gástrica, aumenta la secreción de la saliva; su importancia radica en alto contenido de licopeno, que es el responsable del característico color rojo de los jitomates, posee propiedades antioxidantes, actúan protegiendo a las células humanas del estrés oxidativo, producido por la acción de los radicales libres que son uno de los responsables de las enfermedades cardiovasculares, del cáncer (sobre todo de pulmón, próstata y tracto digestivo) y del envejecimiento, reduce el colesterol, combate infecciones estomacales, fortalece el sistema inmune además es remineralizante y desintoxicante, por ser un diurético natural y reduce el colesterol (López, 2012:1).

También existen evidencias científicas de que previene el síndrome de degeneración muscular, principal causa de la ceguera en la gente mayor de 65 años (Mondragón 2007). Además su cultivo tiene las siguientes ventajas: genera empleo, debido a que requiere mucha mano de obra desde la siembra hasta el empaque; estimula el empleo urbano proporcionando oportunidades de negocios en aspectos de manufactura, venta de maquinaria y equipo; se necesita semilla de calidad; su

exportación va en aumento, lo mismo que los precios pagados a los productores; mejora la nutrición de los consumidores (Zarate, 2007:10).

4.3 SITUACIÓN E IMPORTANCIA DEL *Solanum lycopersicum* (JITOMATE) EN MÉXICO

El cultivo, la cosecha y la comercialización de jitomate genera 72 mil empleos directos y 10.7 millones de empleos indirectos (SAGARPA). La superficie total sembrada de tomates en México ha mostrado una tendencia a decrecer año con año, desde 85,000 hectáreas que se sembraban en 1990, a 75,000 en el 2000, y en el 2011 solo se sembraron 53,780.18 hectáreas.

Esto se debe a problemas de plagas, altos costos de producción, fluctuaciones en precios internacionales, cambio de divisa desfavorable y disponibilidad de recursos hídricos limitada. Pequeños productores dejan de sembrar en campo abierto para producir en agricultura protegida de diversa tecnología. De la superficie total protegida, una gran parte corresponde al cultivo de tomate o jitomate, de los tipos saladette, bola y cereza, los más populares en dicha producción (Info-rural, 2013).

En la República Mexicana, se produce jitomate todo el año. En análisis temporal, durante los primeros meses del año, es cuando se genera el tope de producción nacional, la producción nacional de tomate se encuentra en casi todos los estados del país, pero los más significativos son los del centro y noroeste de México (Figura 12).



Figura 12. Principales estados productores de jitomate

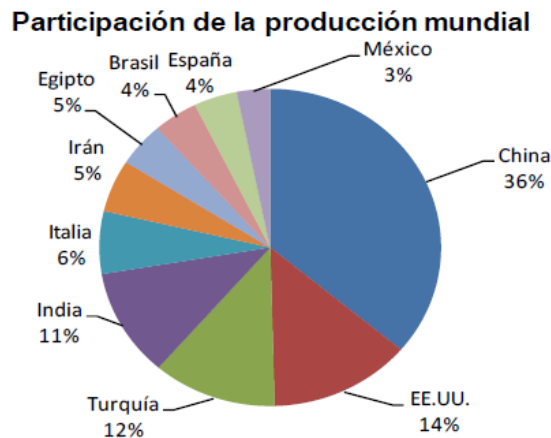
Sinaloa produce 345,011.10 toneladas por año siendo el principal productor de jitomate, principalmente de tipo saladette, por lo que uno de cada tres tomates rojos se produce en Sinaloa (SAGARPA). En segundo lugar está Baja California, con 162,324.92 toneladas, en tercer lugar se encuentra Michoacán con 148,080.92 y para el Distrito Federal la producción estimada fue de 45 toneladas.

Sin embargo, México se convirtió en el primer exportador de tomates del mundo en el 2011, desplazando a Holanda (SAGARPA, 2011) como segundo lugar, nación que durante los últimos años se había consolidado en la supremacía. Tiene su principal mercado en Estados Unidos, Canadá, Reino Unido, España, Alemania, Suiza y Australia. Se trata de un éxito que adquiere un valor especial para el sector primario mexicano, puesto que los tomates son el principal producto agrícola de exportación.

4.4 IMPORTANCIA MUNDIAL

La producción de tomate en el 2008 se distribuyó de la siguiente manera: China fue el principal productor de jitomate en el mundo, con una participación de 36% le sigue Estados Unidos con 14%, Turquía, 12%, India, 11%; mientras que México ocupó el

doceavo lugar, con 3% de participación en la producción mundial. Esta producción se plasma en la Gráfica 1.



Fuente: Organización para la Agricultura y la alimentación (FAO).

Gráfica 1. Producción mundial en el 2008. (Fuente: Secretaría de Fomento a los Agronegocios.2010).

En el 2011 las ventas externas mexicanas de esta hortaliza sumaron 2,038 millones de dólares que corresponden 1182,671 tons, según cifras globales del Banco de México, mientras que de Holanda llegaron a 1,461 millones (El Economista).

MÉTODO:

El trabajo se dividió en tres fases: 1) Fase de Campo y 2) Fase de Laboratorio, las cuales se describen a continuación.

I) FASE EN CAMPO

En esta fase se realizaron las siguientes actividades

LOCALIZACIÓN DEL PREDIO PARA IMPLEMENTACIÓN DEL PROYECTO.

El experimento se llevó a cabo en Xaltocan Xochimilco Distrito Federal, se localiza en el sureste de la capital mexicana, y posee una superficie de 118.13 kilómetros cuadrados (Figura 13). Tiene una población de 415,007 habitantes, de acuerdo con el INEGI en el 2010. Limita con Tláhuac, Milpa Alta y Tlalpan.

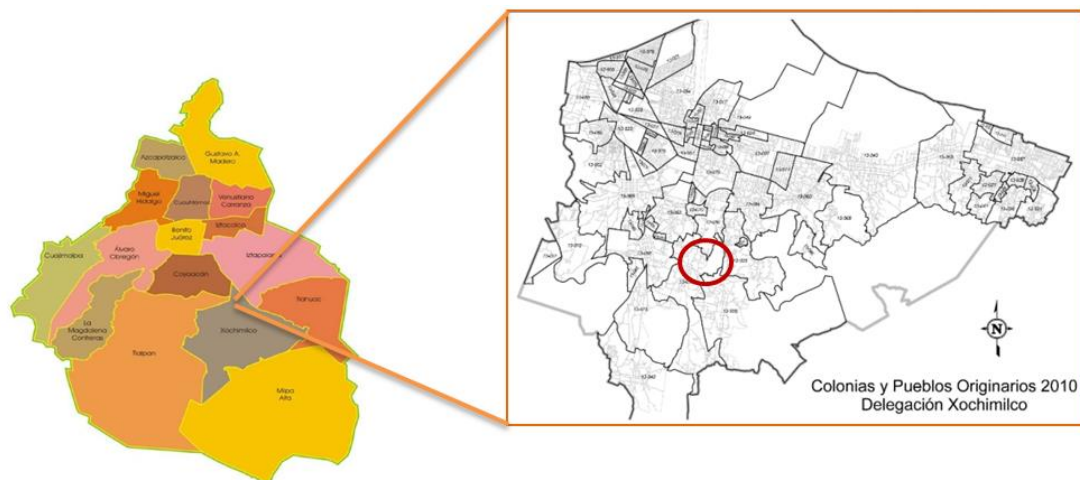


Figura 13. Delegación Xochimilco ubicación del Barrio Xaltocan

MUESTREO DEL SUELO DE LAS CAMAS DE CULTIVO EN EL INVERNADERO

Se obtuvo una muestra compuesta de suelo, tomada en zigzag con 12 submuestras de 30 cm de profundidad (Jackson; 1982), las cuales fueron empaquetadas y etiquetadas para su análisis en laboratorio.

También se tomó una muestra de raíz de plantas y arvenses presentes en el lugar donde se construyó el invernadero estas muestras fueron empaquetadas y etiquetadas para su análisis en el laboratorio. El análisis se aplicó para confirmar la presencia o ausencia de microorganismos en particular de *Azospirillum sp* y de Hongos Micorrízicos Arbusculares.

En el interior del invernadero se delimitaron cuatro camas de cultivo para cada uno de los tratamientos, de 2 m de largo por 0.80 m de ancho dejando un espacio de 0.4 m entre cama y cama (Figura 16, 17).



Figura 14. Instalación del invernadero.

A cada cama de cultivo se agregaron 48 kg de vermicomposta para mejorar la fertilidad del suelo. Se realizó una mezcla con el suelo del invernadero, a 30 cm de profundidad. La adición de la vermicomposta se realizó un mes antes del trasplante de las plántulas de jitomate, para que se incorporaran al suelo del invernadero los nutrimentos presentes en la vermicomposta.



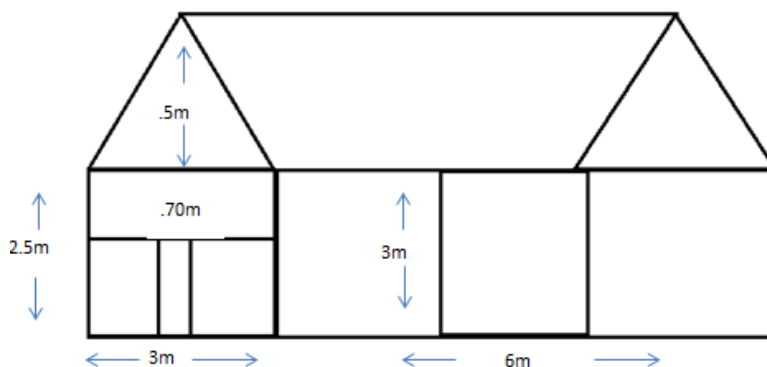
Figura 15. Camas de cultivo.

DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DEL INVERNADERO

El invernadero se realizó, en una superficie de 18 m^2 en total con 6 m de largo por 3 m de ancho y una altura de 3.0 m. Para la estructura del invernadero se utilizaron tiras de madera de 10 cm de grosor, utilizando hule tratado como aislante térmico y como barrera física para plagas que pudieran dañar el cultivo, en la parte superior del lado frontal y parte trasera del invernadero se construyó un triángulo forrado con malla antiafidos que funciona como sistema de aireación para regular la temperatura y humedad del interior del invernadero (Figura 14). La puerta del invernadero fue de 2.5 m por 0.70 m de ancho. Para la construcción del invernadero se quitaron todas las arvenses presentes (Figura 15).



Figura 16. Diagrama para la construcción del invernadero.



DISEÑO EXPERIMENTAL.

Para cada tratamiento se construyó una cama de cultivo¹ rectangular para la siembra de las plántulas inoculadas. El diseño experimental consto de tres tratamientos y un testigo, con doce repeticiones cada uno. El sustrato utilizado para la germinación fue una mezcla de 51.5 g de peat-moss con 37 g de agrolita (Figura 18). A cada cama de cultivo se adicionaron 48 kg de vermicomposta.

Los tratamientos utilizados fueron los siguientes:

Rhizophagus intraradices

Azospirillum sp.

Rhizophagus intraradices + *Azospirillum sp.*

Testigo

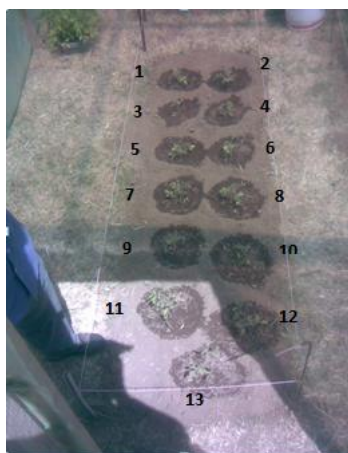


Figura 18. Tratamiento con 12 repeticiones

COLECTA DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *Azospirillum sp.*

Se colectó raíz de plantas de maíz para identificar la presencia de *Azospirillum sp.* Se realizó en una zona de cultivo en la región del municipio de Amecameca Estado

¹ Camas de cultivo espacios, generalmente cuadrados o rectangulares delimitados por cercos de madera, PVC, hormigón. Rellenos de un sustrato donde se siembran especies vegetales.

de México ubicada a 2766 msnm con coordenadas 19° 04.73' latitud norte y 98° 43.15' longitud oeste (Figura 19).



Figura 19. Cultivo de maíz

SIEMBRA DE SEMILLAS Y TRASPLANTE DE PLÁNTULAS DE *Solanum lycopersicum* L.

Las semillas de jitomate previamente inoculadas con biofertilizantes se sembraron en vasos de unicel colocando tres semillas por vaso (Figura 20). El sustrato que se utilizó fue una mezcla de 37 g de peat-moss con 51.5 g agrolita por vaso de unicel, el cual fue previamente esterilizado a 2.5 atmósferas de presión.



Figura 20. Germinación de semillas de jitomate.

Durante 15 días después de la siembra de las semillas para su germinación se regaron las plántulas 2 veces por semana cuidando que no estuvieran muy húmedas, para evitar que la semilla se contamine con hongos patógenos. Después del tiempo que duró la germinación se seleccionaron 13 por cada tratamiento cuidando que

llegaran a una altura de 10 a 15 cm con el mismo número de hojas, para realizar el trasplante en las camas de cultivo; fueron 13 plántulas ya que a una se utilizó para un muestreo destructivo a los 45 días del trasplante, quedando 12 plántulas a las cuales se les realizaron las mediciones correspondientes a lo largo del experimento. La densidad de siembra fueron 6 plántulas por m² con un espacio de 30 cm entre planta y planta.

El suministro de agua a las camas de cultivo se aplicó de 2 a 3 veces por semana, según el requerimiento de la planta, tomando el agua de la red local (Figura 21).



Figura 21. Trasplante y riego de plántulas de jitomate al suelo del invernadero.

EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE *Solanum lycopersicum* L.

Se realizaron mediciones agronómicas semanales como altura de las plantas con ayuda de un flexómetro (Figura 22-24), diámetro del tallo con ayuda de un vernier, número de flores y número de hojas se cuantificaron manualmente; para el rendimiento del fruto se evaluó el peso y volumen del fruto.



Figura 22. Medición de la altura de las plantas.



Figura 23. Conteo de número de hojas y flores



Figura 24 . Cuantificación de frutos y medición del diámetro del tallo.

TUTORADO DE LAS PLANTAS DE JITOMATE

Para el tutorado² de las planta en sus primeras etapas de crecimiento se utilizaron estacones de madera hasta que se alcanzó una altura de 70 cm. Después de ésta altura se utilizó el tutorado fijo vertical sencillo en donde se utilizó solo una línea de alambre que se sujetó en el techo del invernadero (Figura 25).

² El tutorado consiste en guiar verticalmente a las plantas a lo largo de una cuerda o alambre ya que esta no resisten su peso y el de los frutos.



Figura 25. Tutorado con estacaones de madera.

II) TRABAJO EN LABORATORIO

EVALUAR LOS PARÁMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS y BIOLÓGICOS DEL SUELO DEL INVERNADERO

La muestra compuesta de suelo, recolectada en campo se pasó por un tamiz de 2 mm poniendo a secar a temperatura ambiente a la sombra para un secado óptimo. Las determinaciones de los parámetros físicos, químicos y biológicos del suelo se realizaron mediante los siguientes métodos (Tabla 1):

Propiedades Físicas y Químicas	Método	
pH real	Potenciómetro	(Jackson, 1982)
pH potencia	Potenciómetro	(Richards, 1954).
Materia orgánica	Walkley y Blak As-07	NOM-021-SEMARNAT-2000
Textura	Bouyoucos	NOM-021-SEMARNAT-2000
Densidad aparente	De la probeta	(Reyes, 1996)
Densidad real	Picnómetro	(Reyes, 1996)
% Espacio poroso		NOM-021-SEMARNAT-2000
% Humedad		NOM-021-SEMARNAT-2000

Tabla 1. Parámetros físicos, químicos y biológicos del suelo trabajado.

Con respecto a la evaluación de los parámetros biológicos del suelo la evaluación se realizó en las raíces de las plantas arvenses recolectadas en campo, a los 45 días después del trasplante de las plántulas de jitomate. De igual manera en zona radical de la planta para confirmar la presencia o ausencia de hongos micorrízicos arbusculares y *Azospirillum sp.*, utilizando las siguientes técnicas:

CUANTIFICACIÓN DEL NÚMERO DE ESPORAS

De la muestra compuesta de suelo obtenida en campo se identificó la presencia de esporas del hongo micorrizico arbuscular por el método de tamizado y decantación en húmedo (Gendermann y Nicolson 1963 citado por Ferrera, 1993), el cual consiste en pesar 100 g de suelo seco para después colocarlo en vasos de precipitado de 1 L, adicionando agua corriente con agitación vigorosa para después colarlo en diferentes tamices con aperturas de 0.035 mm, 0.125 mm y 0.250 mm. El número de esporas se obtiene al contar la cantidad de estas en el papel filtro con ayuda de un microscopio estereoscópico. El resultado se reporta en número de esporas por 100 g de suelo seco según la siguiente formula:

$$\text{Número de esporas en } 100g \text{ de suelo seco} = \frac{(\text{número de esporas contadas})(g \text{ de suelo seco})}{100g \text{ de suelo húmedo}} * 100$$

EVALUACIÓN DE COLONIZACIÓN RADICAL POR HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES.

Calcular el porcentaje de colonización micorrízica en la raíz, se usó el método de Phillips y Hayman 1970 (citado por Ferrera y col, 1993), que consiste en el clareo, blanqueo, acidificación y tinción con azul de tripano. Posteriormente las raíces se montaron en laminillas para su observación en microscopio (Figura 26, 27). El porcentaje de colonización micorrízica se obtiene mediante las formulas:

$$\text{Porcentaje de colonización total} = \frac{\# \text{ de segmentos colonizados}}{\# \text{ de segmentos totales}} * 100$$

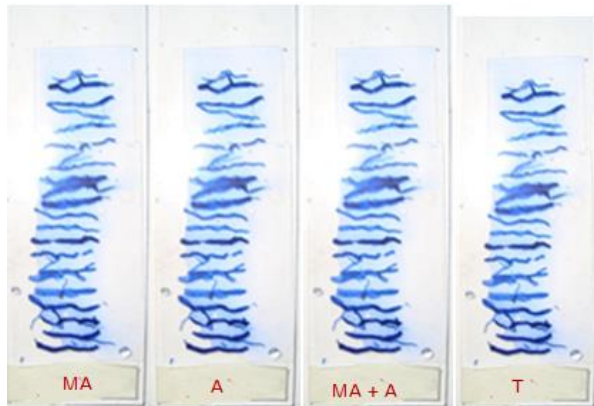


Figura 26. Montaje de raíces teñidas con azul de tripano para su observación.



Figura 27. Observación de raíces en microscopio a 100x

IDENTIFICACIÓN Y MULTIPLICACIÓN DE COLONIAS DE *Azospirillum sp.*

La identificación y propagación de *Azospirillum sp.* se llevó a cabo a través del medio de cultivo NFB semi-sólido (nitrogen free broth) por sus siglas en inglés (Holguin y col 1996:216; Bashan y col 1993: 335).

AISLAMIENTO DE CEPA DE *Azospirillum sp.*

El aislamiento de *Azospirillum sp.* se realizó utilizando el medio de cultivo NFB-rojo congó sólido. Este medio permitió reconocer las colonias de *Azospirillum sp.*, facilitó su aislamiento ya que las colonias se tiñeron de rojo oscuro o escarlata, con características coloniales típicas. Se preparó un total de 250 ml de medio de cultivo

NFB rojo congo el cual se vertió en cajas petri para facilitar la siembra de las bacterias (Figura 29).

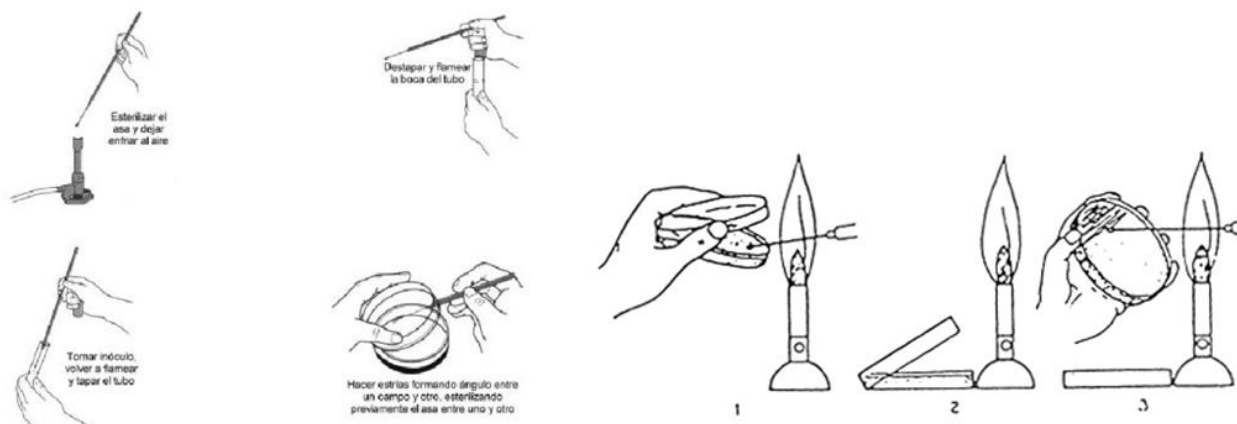


Figura 28. Técnica de estriado en ángulo recto que se utilizó para el aislamiento de *Azospirillum sp.*

CULTIVO DE BACTERIAS

Para realizar la siembra de las raíces de maíz con colonias de *Azospirillum sp.*, se realizó un lavado a las raíces con agua corriente para eliminar todo el suelo restante, posteriormente se cortaron en trozos de 1 a 1.5 cm aproximadamente, los cuales se pusieron en un vaso de precipitado con agua destilada esterilizada para evitar la deshidratación. La siembra se realizó en una campana de esterilización, utilizando tubos de ensayo con una capacidad aproximada de 30 ml, a cada tubo se le adicionaron 10 ml de medio de cultivo (NFB), estos tubos se cubrieron con tapones de gasa previamente esterilizados y se incubaron a 34°C durante 72 horas.

Se consideraron positivos aquellos tubos en los que después de 48 horas de incubación cambiaron de color de verde esmeralda a un azul claro, debido a la alcalinización del medio con una formación de una natilla blanquecina por debajo superficie del medio del cultivo, indicando el crecimiento de poblaciones de *Azospirillum sp.* (Sánchez-Colín, 2000) (Figura 28).

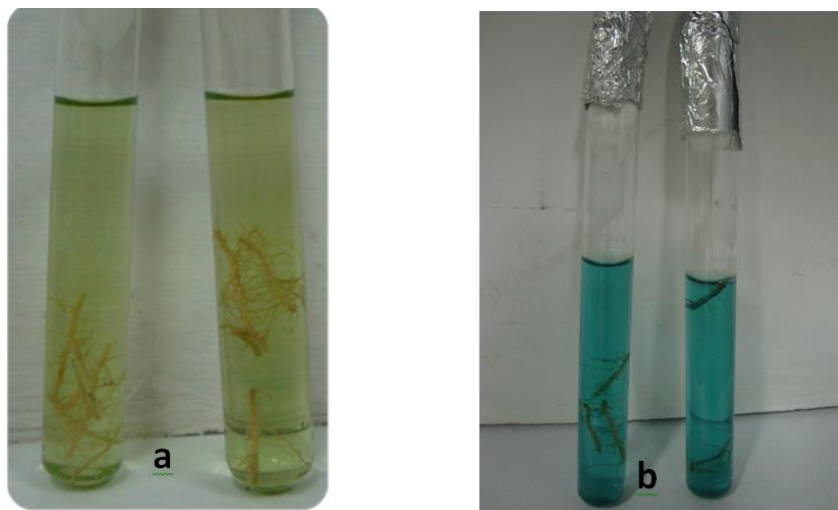


Figura 29. Tubos que indican la presencia de *Azospirillum sp.* con el virre de color. a) siembra de raíces en el medio de cultivo (NFB) color verde esmeralda, b) cambio de color del medio de cultivo a un azul claro indica presencia de *Azospirillum sp.*

GERMINACIÓN E INOCULACIÓN DE SEMILLAS DE *Solanum lycopersicum* L. CON *Azospirillum sp.*, y *Rhizophagus intraradices*.

Se realizó la prueba de viabilidad de las semillas en cajas petri bajo condiciones asépticas, se colocó papel filtro al tamaño de las cajas petri humedeciéndolas con agua destilada y esterilizada, la colocación de las semillas fue al azar, se colocaron a la luz y a la sombra para la evaluación de las condiciones más favorable.

Las semillas de *Solanum lycopersicum* L., se lavaron diez veces con agua estéril para eliminar el fungicida que las cubría para no inhibir la inoculación de los biofertilizantes HMA y de *Azospirillum sp.* Para la inoculación con *Azospirillum sp.* se utilizó goma arábiga para que los microorganismos se adhirieran mejor a las semillas, con una concentración de 10^9 Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/ml) siguiendo la concentración del tubo 1 de la escala de Mc Farland. Para la inoculación con *Rhizophagus intraradices* se agregaron 10 g de inoculo al momento de la siembra en vaso de unisel.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el software estadístico STATGRAPHICS Centurion XVI, con el cual se procedió a realizar un análisis de varianza, posteriormente se realizó una prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95% ($p\text{-value} > 0.05$) para verificar si existían diferencias entre los tratamientos. Posteriormente se utilizó el software estadístico SSPS para realizar un diseño factorial de mediciones repetidas para determinar en qué tiempos existían diferencias entre los tratamientos y los tiempos de medición.

RESULTADOS

Con respecto a las propiedades físicas y químicas del suelo se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 2. Propiedades físicas y químicas del suelo.

TEXTURA FRANCO ARENOSO (USDA)			DENSIDAD REAL	DENSIDAD APARENTE	% ESPACIO POROSO	% HUMEDAD	pH (H ₂ O)	% MATERIA ORGANICA
ARCILLA	LIMO	ARENA						
5.32	6.12	88.56	2.49	1.04	41.76	20.6	7.73	4.17

De acuerdo con la USDA el suelo presenta una clase textural franco arenosa es una textura ideal, debido a que tiene un porcentaje adecuado de partículas que forman al suelo que junto con el valor alto de la materia orgánica para suelos no volcánicos de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000, la densidad aparente es baja y un espacio poroso adecuado para el desarrollo radicular de la plántulas, lo que permite un fácil anclaje de las raíces de *Solanum lycopersicum* L. Cuenta con una buena aireación y drenaje, lo que permitió la circulación de gases, agua y nutrimentos, por lo tanto se puede favorecer el desarrollo de las plantas y microorganismos. El suelo tuvo una porosidad media lo que le confirió al suelo una buena retención de humedad y con ello se evitó que el suelo pierda nutrimentos por escurrimiento.

Sin embargo con el aporte de la vermicomposta se tuvo más nutrimentos disponibles para las plantas, mejorando a su vez la aireación y el drenaje del suelo. El pH fue de 7.73 lo que indica que se tiene un suelo medianamente alcalino (NOM-021-SEMARNAT-2000). Por lo anteriormente expuesto se puede decir que este suelo tiene las características adecuadas para el cultivo de la planta en estudio.

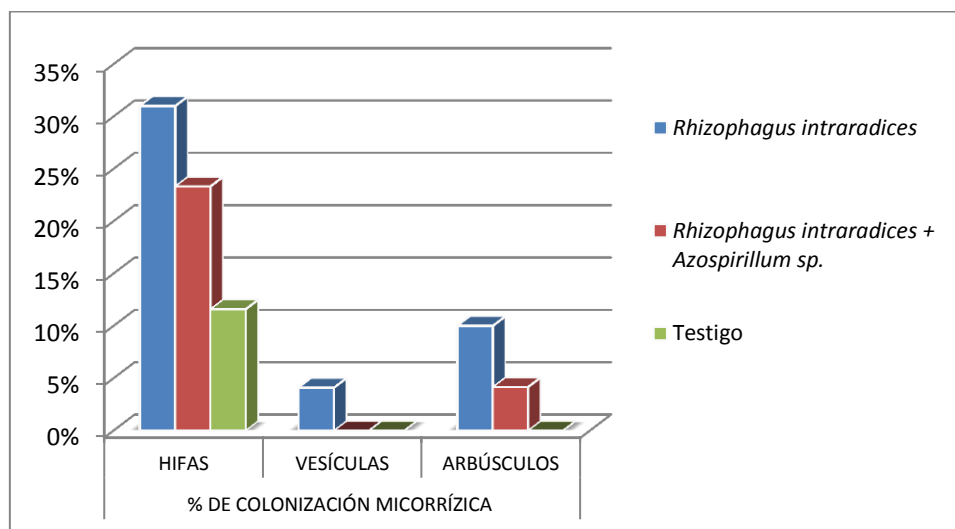
Adicionalmente se cuantificaron las esporas contenidas en 100 g de suelo del invernadero, antes del experimento para ver si existían HMA nativas (Tabla 3). Se encontraron un total de 29 esporas en las mallas a 0.125 y 0.035 mm de apertura, lo que indica la presencia de HMA, aunque el número es bajo comparado con suelos cultivados en donde se podrían encontrar de 250 a 750 esporas por 100 g de suelo. Las fluctuaciones en el número de esporas de HMA se pueden relacionar con factores ambientales, estacionales y del suelo que afectan el proceso de esporulación del hongo, además del ciclo de vida de la planta huésped. Por lo tanto es probable que el tratamiento en donde no se inoculó con este microorganismo pueda presentar HMA al final del experimento.

Tamices mm	Muestra 1	Muestra 2
0.250	---	---
0.125	3	3
0.35	8	15

Tabla 3. Total de esporas en 100g de suelo antes del trasplante.

PORCENTAJE DE COLONIZACION MICORRÍZICA EN PLÁNTULAS DE *Solanum lycopersicum* L. A LOS 45 DÍAS DESPUÉS DE LA SIEMBRA.

En esta evaluación se encontró que para el tratamiento en donde se inoculo solo con *Rhizophagus intraradices* es donde se obtuvo el mayor porcentaje de colonización micorrízica en esta primer etapa, con un 31% de hifas y un 9% de arbusculos seguido de la doble inoculación (*Rhizophagus intraradices* + *Azospirillum* sp.); con un 23% de hifas y 4% de arbusculos. En esta primera evaluación la presencia de arbusculos indica una colonización satisfactoria en las raíces de las plantas (Gráfica 2). También se encontraron solo hifas en el testigo con un 11% a pesar de no haberse inoculado con HMA esto puede deberse a la presencia de hongos micorrízicos nativos. En la figura 30 se presenta una imagen dela hifa extraradical he hifa intraradical de *Rhizophagus intraradices* observadas al microscopio a 100x en la raiz de *Solanum lycopersicum* L.



Gráfica 2. Porcentaje de motorización en plántulas de jitomate a 45 días después del trasplante.

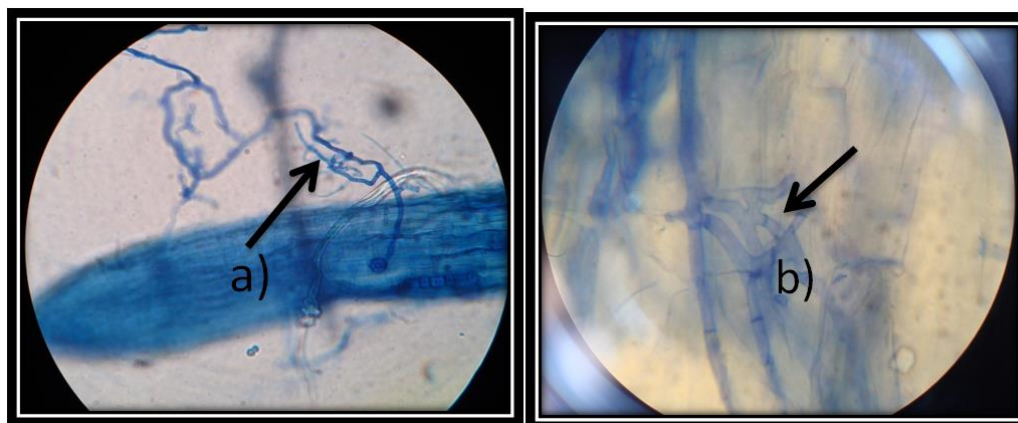
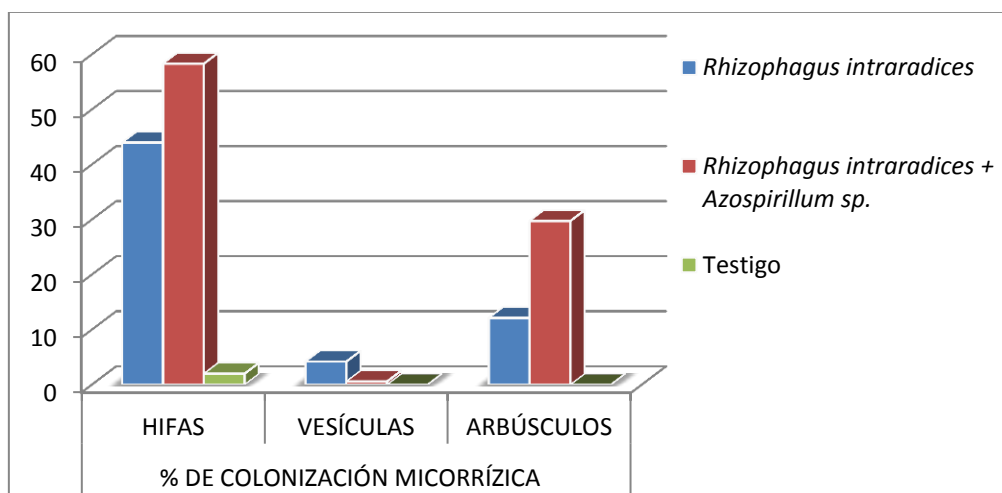


Figura 30. a) Hifa extraradical y b) Hifas intraradical de *Rhizophagus intraradices* observadas a microscopio a 100x en la raíz de *Solanum lycopersicum* L. (Jitomate).

PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN MICORRÍZICA EN PLÁNTULAS DE *Solanum lycopersicum* L. A LOS 137 DÍAS DEL EXPERIMENTO.

En la gráfica 3 se muestra la colonización micorrízica al final del experimento que fue a los 137 de crecimiento, se observa un aumento en el porcentaje de hifas y arbusculos en el tratamiento de la doble inoculación (*Rhizophagus intraradices* +

Azospirillum sp.) con un 58.31% de hifas y 29.75% de arbuscúlos (Figura 31, 32), ya que se ha reportado que la co-inoculación con bacterias promotoras del crecimiento vegetal más HMA estimulan la colonización del sistema radical, en comparación con el tratamiento con (*Rhizophagus intraradices*) en donde se tuvo 43.98% de hifas y 11% de arbuscúlos.



Gráfica 3. Porcentaje de micorrización en plántulas de jitomate al final del experimento.

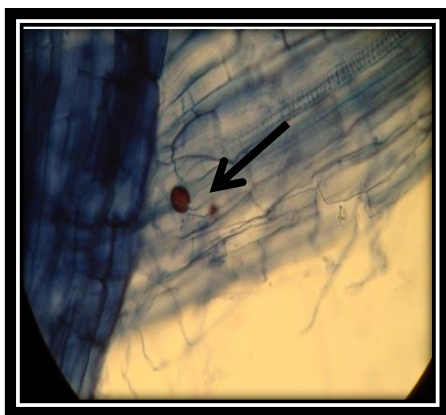


Figura 31. Vesícula del Hongo Micorrizico Arbuscular.

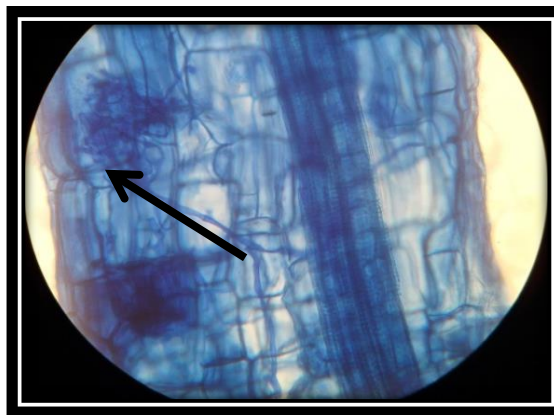


Figura 32. Estructura donde se realiza la simbiosis micorrízica: Arbuscúlos

Con respecto al aislamiento de *Azospirillum sp.*, se realizó exitosamente reconociendo a esta bacteria mediante tres características principales; i) vire e color del medio de cultivo de verde a un azul claro y la aparición de una película

blanquecina de 3 a 5 milímetros de grosor al realizar la siembra de las raíces en medio NFB semisólido (ver Figura 33 y Figura 34); estos resultados son semejantes con los encontrados por Reyes (2011).



Figura 33 Vire de color a un azul claro



Figura 34. Formación de la película blanquecina

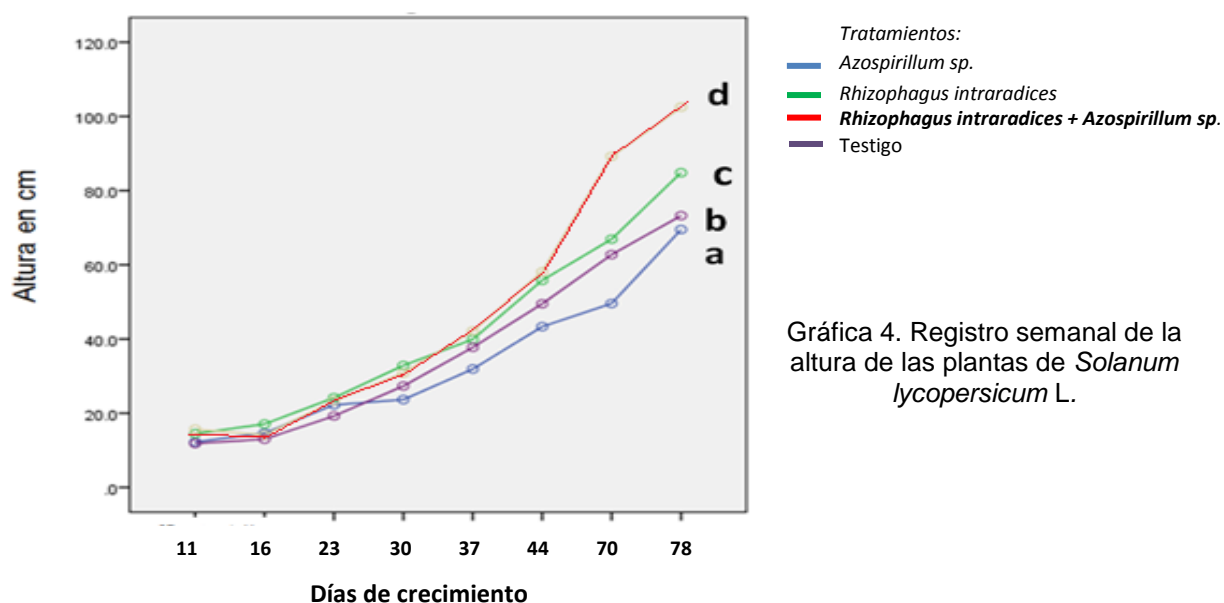
ii) se utilizó la tinción de Gram en las bacterias para poder observar al microscopio el color rosado o rojizo que adquiere la pared celular debido a la gran cantidad de lípidos que la forman (ver Figura 35), iii) se observó su movimiento vibroide causado por su flagelo lo que coincidiendo con lo reportado por García y col (2010). Estas mismas tres características también se observaron a los 45 días después del trasplante de las plántulas de jitomate a las camas de cultivo confirmando así su presencia en el tratamiento.



Figura 35. Observación a 100X del color rosado o rojizo y movimiento de *Azospirillum* sp utilizando la Tinción de Gram.

Con respecto a las variables morfológicas como: altura, número de hojas, diámetro del tallo, número de brotes florales, peso, volumen de raíz y rendimiento del fruto, se les realizó un ANDEVA para ver si existían diferencias entre las medias de los tratamientos, posteriormente se aplicó una prueba de Tukey para ver si alguno de los tratamientos era diferente. De todas las variables morfológicas al aplicar una prueba de Tukey no se presentaron diferencias estadísticas significativas para las variables de estudio, por lo que se procedió a aplicar una técnica estadística de diseño factorial de mediciones repetidas, con el fin de corroborar si existían diferencias entre los tiempos de medición en cada tratamiento.

Para la variable altura no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, sin embargo cuando se aplicó la técnica del diseño factorial de mediciones repetidas se observó que para los tratamientos inoculados con *Rhizophagus intraradices* tuvieron diferencias con respecto a los otros tratamientos a partir del día 30, sin embargo en el tratamiento donde se obtuvo el valor más alto para esta variable fue en el tratamiento con *Rhizophagus intraradices* + *Azospirillum sp.*, ya que se observa un crecimiento acelerado a los 70 días ya que la planta se encontraba en etapa vegetativa donde las demandas de nutrientes son altas para satisfacer las necesidades de las hojas y ramas en crecimiento y expansión (Gráfica 4 y Tabla 4).

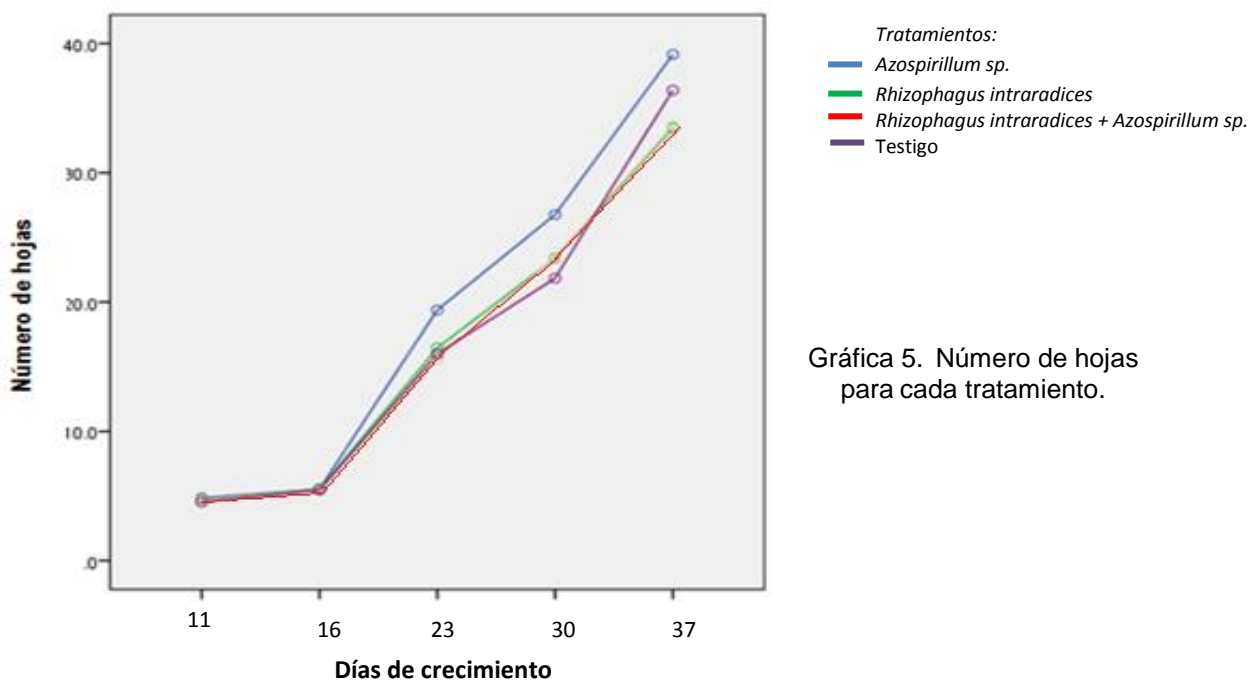


Gráfica 4. Registro semanal de la altura de las plantas de *Solanum lycopersicum* L.

HSD Tukey ^{a,b} Altura				
tratamiento	N	Subconjunto		
		1	2	3
Testigo	12	36.833		
<i>Azospirillum sp.</i>	12	33.395		
<i>Rhizophagus intraradices</i>	12		42.016	
<i>Rhizophagus intraradices + Azospirillum sp</i>	12			46.998
Sig.		.064	1.000	1.000

Tabla 4. Subconjuntos homogéneos

Con respecto a la número de hojas el mejor tratamiento para esta variable fue el que se inoculo con *Azospirillum sp.* (Tabla 5), se observa en la gráfica 5 a partir del día 23 este tratamiento presentó un incremento en el número de hojas debido a que inicia su etapa vegetativa aunado a esto la fijación de nitrógeno por parte de *Azospirillum sp.*, ayuda al crecimiento de las hojas en tamaño y en número, sin embargo solo tuvo efecto hasta el día 37 de crecimiento ya que después empieza su etapa reproductiva en donde los nutrimento ya son utilizados en la formación de los primeros brotes florales y en la aparición de los primeros frutos.

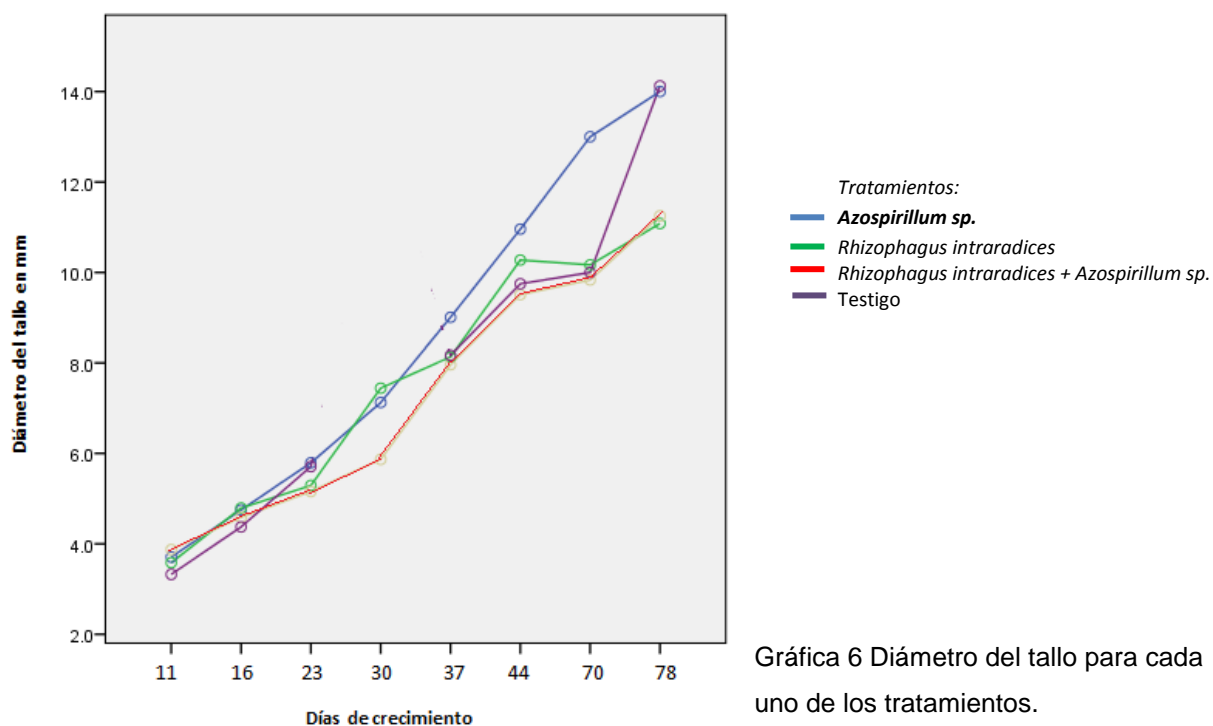


Gráfica 5. Número de hojas para cada tratamiento.

HSD Tukey ^{a,b} Número de hojas		
Tratamiento	N	Subconjunto
		1
Testigo	12	16.846
<i>Rhizophagus intraradices</i> + <i>Azospirillum</i> sp.	12	16.569
<i>Rhizophagus intraradices</i>	12	16.708
<i>Azospirillum</i> sp.	12	19.138
Sig.		.271

Tabla 5. subconjuntos Homogéneos

De igual manera si se empieza a tener una mayor altura, mayor número de hojas, por consecuencia el tallo también se debe desarrollar ya que es la parte de sostenimiento de toda la planta. Para esta variable cuando se aplica la técnica de diseño factorial de mediciones repetidas, se tuvo una diferencia estadística a los 23 días para el tratamiento con *Azospirillum* sp., con respecto a los demás tratamientos (Tabla 6), he incluso en esta fecha su crecimiento es mayor separándose de los demás tratamientos (Gráfica 6).

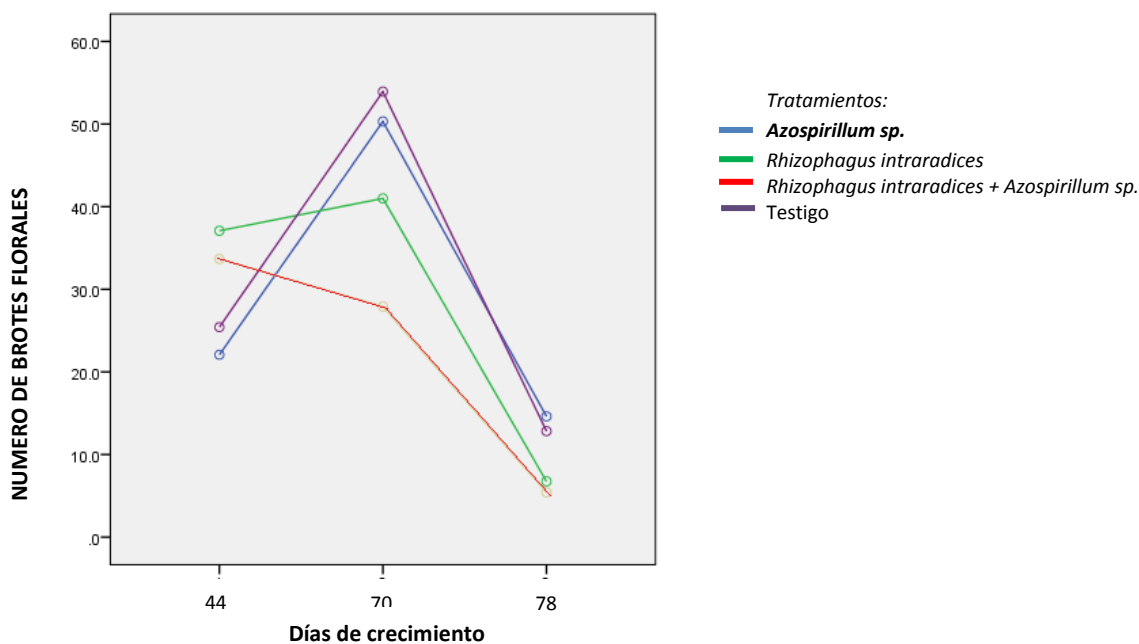


Gráfica 6 Diámetro del tallo para cada uno de los tratamientos.

Diámetro				
HSD Tukey ^{a,b}				
Tratamiento	N	Subconjunto		
		1	2	3
Testigo	12		8.335	8.335
<i>Rhizophagus intraradices</i> + <i>Azospirillum sp.</i>	12	7.254		
<i>Rhizophagus intraradices</i>	12	7.596	7.596	
<i>Azospirillum sp.</i>	12			8.543
Sig.		.694	.098	0.910

Tabla 6. Subconjuntos homogéneos.

Los brotes florales son de suma importancia ya que su aumento o pérdida impactan en el rendimiento del cultivo. En la gráfica 7 se muestra que el mayor número de brotes florales se presentaron a los 70 días en el Testigo solo al inicio ya que no se obtiene un buen rendimiento este tratamiento no presenta diferencia estadística significativa, sin embargo el número de brotes se disminuye a los 80 días probablemente a una mala polinización o a las condiciones ambientales como a altas temperaturas dentro del invernadero.

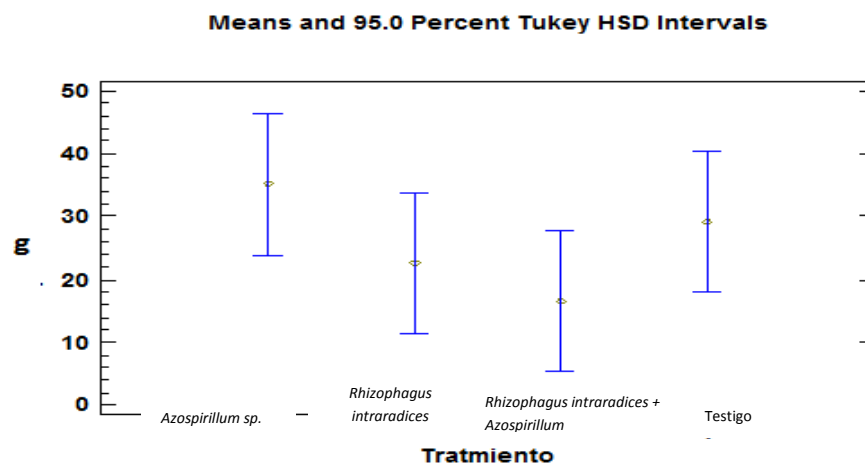


Gráfica 7. Número de brotes florales para cada uno de los tratamientos.

Brotos florales			
HSD Tukey ^{a,b,c}			
tratamiento	N	Subconjunto	
		1	2
Testigo	12		30.722
<i>Rhizophagus intraradices</i> + <i>Azospirillum sp.</i>	12	22.333	
<i>Rhizophagus intraradices</i>	12	28.278	28.278
<i>Azospirillum sp.</i>	12	29.000	29.000
Sig.		.111	.832

Tabla 7. Subconjuntos homogéneos

Para el peso fresco, volumen y longitud de raíz, se realizó un análisis de varianza sin encontrar diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (gráficas 8, 9,10) y tablas (8,9). Sin embargo el valor más alto se observa en el tratamiento con *Azospirillum sp* ya que se ha descrito que esta bacteria está vinculada al desarrollo del sistema radical tanto de raíces laterales como adventicias, lo que favorece la captación de agua y nutrimentos, promoviendo el crecimiento del cultivo tanto de la parte aérea como de la raíz (Figura 36), los valores más bajos se obtuvieron en los tratamientos inoculados con micorriza arbuscular.

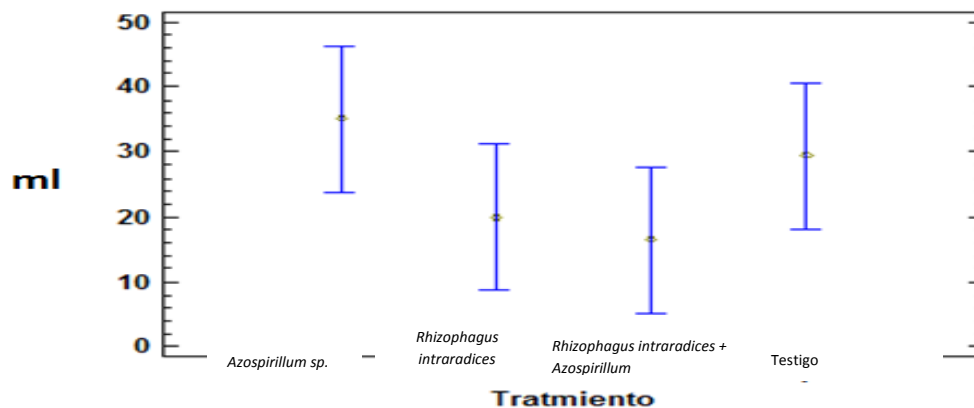
Gráfica 8 Peso promedio del cultivo de *Solanum lycopersicum* L.

Method: 95.0 percent Tukey HSD

Tratamiento	Count	Mean	Homogeneous Groups
<i>Rhizophagus intraradices</i> + <i>Azospirillum sp.</i>	12	16.5425	X
<i>Rhizophagus intraradices</i>	12	22.4975	X
Testigo	12	29.18	X
<i>Azospirillum sp.</i>	12	35.0658	X

Tabla 8. Homogeneidad de los grupos entre los tratamientos

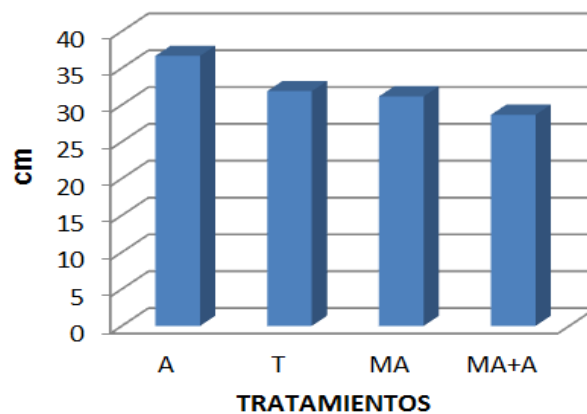
Means and 95.0 Percent Tukey HSD Intervals

Gráfica 9. Volumen promedio del cultivo de *Solanum lycopersicum* L.

Method: 95.0 percent Tukey HSD

Tratamiento	Count	Mean	Homogeneous Groups
<i>Rhizophagus intraradices</i> + <i>Azospirillum sp.</i>	12	16.5	X
<i>Rhizophagus intraradices</i>	12	20.0	X
Testigo	12	29.4167	X
<i>Azospirillum sp.</i>	12	35.0833	X

Tabla 9. Homogeneidad entre los tratamientos



Gráfica 10. Longitud de raíz de plántulas de *Solanum lycopersicum* L.



Figura 36. Longitud de raíz de los diferentes tratamientos

RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE JITOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

Todas las investigaciones que se realizan a cultivos agrícolas son para mantener o aumentar el rendimiento por hectárea con la finalidad de sustentar la demanda alimenticia. El cultivo de jitomate no es la excepción, se han realizado varios trabajos de investigación pero son básicos, solo se enfocan al cultivo en maceta sin llegar a la fructificación, en todas estas investigaciones se utilizan fertilizantes químicos, sin embargo son pocos los trabajos en donde se utilizan biofertilizantes y abonos orgánicos como aporte nutrimental a nivel de suelo en invernadero, en esta

investigación se consideraron todas etapas fenológicas incluyendo desde la selección de semilla con el mejor porcentaje de germinación hasta la evaluación del rendimiento.

Por lo tanto para la evaluación del rendimiento en este cultivo se realizaron cuatro cosechas manualmente conforme maduraban los frutos. Los frutos se recolectaron en el término del rayado (40% o más de la superficie cubierta por color anaranjado) hacia maduros (100% rojos) (Figura 37,38).



Figura 37. Recolecta de frutos en el termino del rayado a) recolecta de forma individual, b) recolecta en racimo.

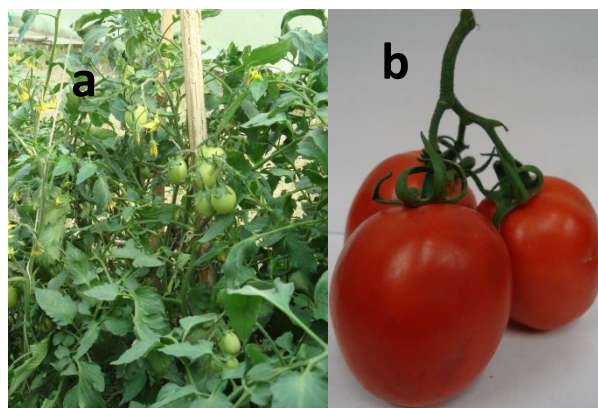
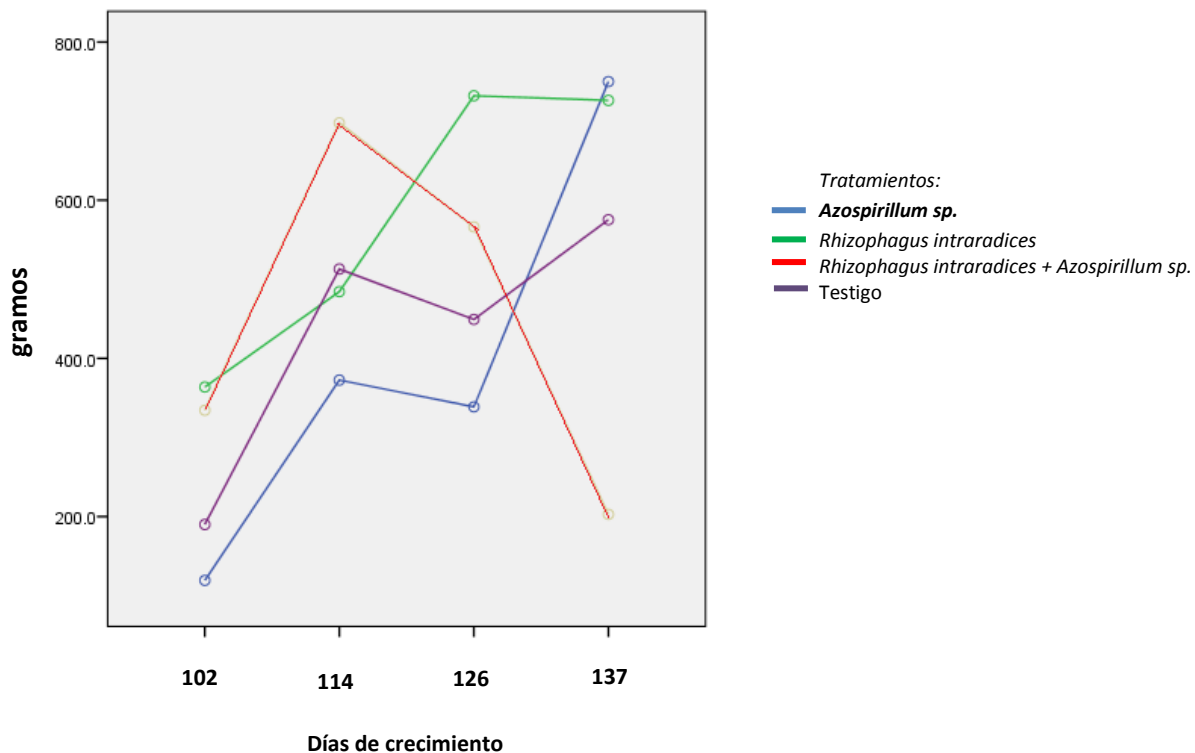


Figura 38. a) Jitomate en crecimiento de color verde b) jitomate maduro color rojo.

Para la evaluación del rendimiento se presenta la tabla 10 donde se observa que el mejor tratamiento para esta variable fueron los tratamientos inoculados con micorriza arbuscular *Rhizophagus intraradices* y *Rhizophagus intraradices* + *Azospirillum sp.*,

seguidos del testigo y el tratamiento con el rendimiento más bajo es el inoculado con *Azospirillum sp*; siendo el tratamiento con *Rhizophagus intraradices* donde se obtuvo el mayor rendimiento con 124.72 Ton ha⁻¹, aunque no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

En la gráfica (11), se observa para el tratamiento con *Rhizophagus intraradices* un aumento en el rendimiento de la cosecha uno a la tres excepto en la cosecha 4 sin embargo no se encontraron diferencias estadísticas significativas, para el tratamiento con la doble inoculación (*Rhizophagus intraradices* + *Azospirillum sp*.) se observa un incremento en la cosecha número dos debido muy probablemente a una maduración acelerada de los frutos, teniendo diferencia únicamente la cosecha número dos con respecto a la uno, para el tratamiento con *Azospirillum sp* se observa un mayor rendimiento en la cosecha cuatro y solo se tuvo diferencia con respecto a la cosecha número uno y en el testigo no se encontraron diferencias entre cada cosecha realizada (Figura 39).



Gráfica 11. Rendimiento de jitomate por cosecha

Peso del fruto		
HSD Tukey ^{a,b,c}		
tratamiento	N	Subconjunto
		1
Testigo	7	432.977
<i>Azospirillum sp.</i>	7	395.408
<i>Rhizophagus intraradices</i> + <i>Azospirillum sp.</i>	5	444.367
<i>Rhizophagus intraradices</i>	9	560.780
Sig.		0.415

Tabla 10. Comparación de medias entre tratamientos



Figura 39. Rendimiento del cultivo obtenido

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Con base en los resultados obtenidos en este trabajo de investigación se considera que las propiedades físicas y químicas del suelo del invernadero son buenas debido a que se tiene una buena retención de humedad, un pH donde la mayoría de los nutrimentos están disponibles para las plantas aparte se presenta una buena aireación y drenaje lo que permiten un fácil movimiento de gases, agua y nutrimentos.

Adicionalmente el aporte de vermicomposta se tiene reportado que contribuye al incremento de nutrientes y al mejoramiento de estas propiedades físicas y químicas por lo tanto estas condiciones son adecuadas para el desarrollo de *Solanum lycopersicum* L. (jitomate) así como para el establecimiento, crecimiento y acción de los microorganismos en este caso de *Azospirillum sp.* y *Rhizophagus intraradices*.

Se confirman una exitosa inoculación de *Azospirillum sp* y del *Rhizophagus intraradices*, mediante la colonización y la presencia de hifas y arbusculos en la raíz de las plantas a los 45 días después del trasplante a las camas de cultivo. Es importante mencionar que la inoculación con biofertilizantes desde la germinación de las semillas favoreció el establecimiento de estos microorganismos ya que si se realiza la inoculación cuando las plantas ya están sembradas en campo o en camas de cultivo es muy difícil que la HMA y *Azospirillum sp* colonicen exitosamente la raíz.

En esta primera evaluación destaco el tratamiento con *Rhizophagus intraradices* con un 31% de hifas y 9% de arbusculos seguido de la doble inoculación (*Rhizophagus intraradices* + *Azospirillum sp.*) con 23% hifas y 4% de arbusculos.

Los valores obtenidos en el tratamiento con *Rhizophagus intraradices* son más altos en comparación con la doble inoculación debido a que no se compite con otros microorganismos por el establecimiento en la raíz lo que no sucede en la doble inoculación ya que compiten dos microorganismos por su establecimiento en las raíces de las plantas de *Lycopersicum esculentum*. La presencia de hifas en el testigo se deba posiblemente a la colonización por hongos micorrizógenos nativos ya que se encontraron esporas en este suelo y la colonización radical puede producirse a partir de los siguientes propagulos infectivos presentes en el suelo como: esporas, micelio de HMA y raicillas de plantas colonizadas o al aporte de vermicomposta que podría contener microorganismos ya que esta no fue esterilizada.

En los resultados al final del experimento (137 días) se observa un incremento del 58.31% de hifas y 29% de arbusculos para el tratamiento de la doble inoculación, este aumento se puede atribuir a la interacción con *Azospirillum sp* lo que concuerda

con lo reportado por Simancas en 2007 quien menciona que cuando se inocula HMA con bacterias promotoras del crecimiento vegetal como *Azospirillum sp.*, se incrementan los niveles de colonización micorrízica y los efectos aditivos o sinérgicos sobre el crecimiento de las plantas. Con respecto al testigo se puede decir que hubo una disminución del porcentaje de colonización de hifas debido probablemente al escaso número de propágulos; existen investigaciones que refieren que nemátodos micofagos, habitantes comunes de la zona rizosférica, reducen el potencial del hongo micorrizico arbuscular ya que se alimentan de la hifa radical.

En general el porcentaje de colonización micorrízica es buena ya que Tapia-Goné y colaboradores en el 2010 mencionan que se pueden encontrar hongos micorrízicos que sean altamente infectivos que establecen abundante colonización micorrízica (80-90%) y no necesariamente indican mayores efectos y por el contrario se pueden encontrar hongos micorrízicos que colonicen la raíz en una menor proporción 15-40% o menos y muestren excelentes efectos en la nutrición y crecimiento de las plantas.

Con respecto a las variables morfológicas los tratamientos en donde se inoculo con *Rhizophagus intraradices* fue en donde se encontraron las plantas más altas debido a la captación de agua y nutrimentos por las hifas del hongo sin embargo la altura se incrementó con la co-inoculación ya que este tratamiento fue el mejor para la variable altura con diferencia estadística con los demás tratamientos. Para el tratamiento de la doble inoculación se tiene un crecimiento acelerado a partir del 2 de Junio ya que las plantas se encontraban en etapa vegetativa etapa donde las demandas nutricionales son más elevadas. Estos resultados coinciden con los encontrados por Díaz-Franco y col, 2008 y Esquivel, 2011 quienes indican que la co-inoculación favorece el crecimiento de las plantas de jitomate en etapa vegetativa, también mencionan que las plantas pueden incrementar las probabilidades de sobrevivencia en campo, lo cual representa una ventaja muy importante para el agricultor ya que no se tendrá mortandad de plantas.

Para las variables morfológicas peso de raíz, volumen de raíz, número de hojas y diámetro del tallo el mejor tratamiento fue el inoculado solo *Azospirillum sp.*, pero solo se obtuvieron diferencia estadística en el diámetro del tallo respecto a la doble inoculación. No se ha definido el mecanismo principal por medio el cual *Azospirillum sp.* promueve el crecimiento vegetal, pero Aguilar-Piedras y col en el 2008 mencionan que el crecimiento de la raíz puede estar relacionado con algún mecanismo de acción principalmente con la síntesis de fitohormonas, vinculadas a procesos de crecimiento mediante la iniciación de raíces laterales y adventicias lo que promueve la captación de agua y nutrimentos promoviendo en consecuencia el incremento en el número de hojas y el diámetro del tallo, sin embargo Bashan y

Levanony en 1990 indican que estos mecanismos probablemente se llevan a cabo simultáneamente o de manera secuencial.

Para la variable brotes florales existe un decremento puede deberse a diferentes causas por ejemplo por un proceso natural que tiene que ver con la diferenciación floral y la polinización o como por factores de temperatura y humedad. En este caso no se llevó a cabo una adecuada polinización debido a las condiciones del invernadero que no permitió la interacción con insectos quienes son los principales polinizadores naturales ni tampoco se tuvo contacto con el viento debido al hule que se utilizó como aislante en el invernadero, el experimento se realizó en invernadero para evitar que se plague el cultivo con insectos patógenos, evitar riegos constantes ya que no hay pérdida de agua por evaporación y tener un mejor control de las temperaturas principalmente por la noche ya que por la noche la temperatura tiende a descender y el cultivo puede llegar a helarse. Para favorecer la polinización y cuaje de los frutos se recomienda la polinización manual mediante la utilización de bombas de aire y mover diariamente los tutores de las plantas para mover el polen de las flores.

En cuanto al rendimiento el mejor tratamiento para esta variable fue el inoculado con micorriza arbuscular (*Rhizophagus intraradices*) obteniendo $124.72 \text{ Ton ha}^{-1}$ aunque no se encontraron diferencias estadísticas significativas con respecto a los demás tratamientos. El rendimiento obtenido en este trabajo de investigación fue mayor comparado con el rendimiento a cielo abierto que es de 40 Ton ha^{-1} pero menor al rendimiento obtenido en invernadero con 160 Ton ha^{-1} en donde se aplicaron agroquímicos en ambos caso, cabe destacar que este cultivo es completamente orgánico y aunque hubo una disminución del 22% esta disminución entra dentro de los parámetros reportados por De la Cruz-Lázaro en 2009 y Stanhill en 1990 quienes mencionan que en la agricultura orgánica disminuye en promedio de 10 a 30% que en la agricultura convencional sin embargo esta disminución podría ser compensada con las características que cuenta este producto de ser un producto orgánico con un sabor intenso, olor agradable, color rojo vivo, con brillo natural y una durabilidad en anaquel sin refrigeración de 15 días en promedio cualidades que le dan un valor agregado con calidad suprema y con alto valor económico en comparación al producto convencional.

CONCLUSIONES

- El tratamiento que tuvo el mejor efecto en el rendimiento *Solanum lycopersicum* L. fue con *Rhizophagus intraradices* y para el desarrollo el mejor tratamiento fue con *Azospirillum* excepto para la variable altura, siendo el mejor tratamiento para esta variable la doble inoculación.
- Realizar el cultivo en suelo en condiciones de invernadero permitió generar las condiciones adecuadas para el crecimiento de *Solanum lycopersicum* L. y una buena obtención de rendimiento.
- El suelo del invernadero cuenta con las condiciones necesarias para el crecimiento del cultivo.
- Se confirma el establecimiento y colonización de *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum sp* a los 45 y 137 días después del trasplante.
- El rendimiento disminuyó en un 22% esta pérdida puede ser compensada con las características que cuenta este producto; que se puede considerar como un producto orgánico con buenas características organolépticas y una durabilidad en anaquel sin refrigeración de 15 días en promedio cualidades que le dan un valor agregado con calidad suprema y con alto valor económico en comparación al producto convencional.

RECOMENDACIONES

Para mejorar el rendimiento se recomienda la poda a un solo tallo eliminando aquellas partes que no tienen incidencia con la cosecha como tallos secundarios, hojas y frutos pequeños que pueden consumir nutrimentos necesarios para lograr frutos de mayor tamaño y calidad. Es importante mejorar la polinización pues se evita el aborto floral ya que el número brotes florales es directamente proporcional al rendimiento, la polinización se puede realizar ya sea de forma manual o mecánica también es necesario contar con un manejo fitosanitario orgánico para posteriormente realizar una valoración de la calidad nutrimental del fruto.

LITERATURA CITADA

Abril, A; Biasutti, C; Maich, R; Dubbini, L; Noé, L; 2006; "Inoculación con *Azospirillum* spp., en la región semiárida-central de Argentina: factores que afectan la colonización rizosférica", *Cl. Suelo*, Vol. 24, N°1, pp 1-9.

Aguilera L; Olalde, V; Arriaga, R; Contreras, R; 2008, "Micorrizas Arbusculares". *Ciencia Ergo Sum*, Universidad Autónoma del Estado de México Toluca, México. Vol. 14, N°3, pp 300-306.

Aguirre-Medina, J. F; Irizar-Garza, M.B; Durán-Prado, A; Grajeda-Cabrera, O.A; Peña-del Río, M.A; Loredó-Osti, C; Gutiérrez-Baeza, A; 2009, *Los biofertilizantes microbianos: alternativa para la agricultura en México*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Rosario Izapa, Tuxtla Chico, Chiapas, México, pp 80.

Aguirre-Medina, J.F.; Moroyoqui-Ovilla, D.M.; Mendoza-López, A.; Cadena-Iñiguez, J., Avendaño-Arraztae, C.H.; Aguirre-Cadena, J.F.; 2011, "Hongo endomicorrízico y bacteria fijadora de nitrógeno inoculadas a *Coffea arabica* en vivero". *Agronomía Mesoamericana*, Vol.22, N° 1, pp 71-80.

Aguilar-Piedras, J.J; Xiki-Vásquez, Ma.L; García-García, Silvia; Beca, B.E; 2008, "Producción del ácido indol-3-acético en *Azospirillum*" *Revista Latinoamericana de Microbiología*, Vol. 50, N°1, pp 29-37.

Arsac, J.F; Lamothe, C; Mulard, D; Fages, J; 1990, "Growth enhancement of maize (*Zea mays* L) through *Azospirillum lipoferum* inoculation: effect of plant genotype and bacterial concentration", *Agronomie*, N°10, pp 640-654.

Arshad, M; Frankenberger, W.T; 1991; "Plant growth-regulating substances in the rhizosphere: Microbial production and functions". *Advances in Agronomy*. N° 62, pp 45-151.

Arshad, M; Frankenberger, W.T; 1998, "Microbial production of plant hormones", *Plant and soil* N° 133, pp 1-8.

Barrer, S; 2009, "El uso de hongos Micorrízicos Arbusculares como una alternativa para la agricultura" *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, Vol. 7, N°1, pp 123-132.

Bashan Y; 1993, "Potential use of *Azospirillum* as biofertilizer", *Turrialba*, Vol. 43, N°4, pp 286-291.

Bashan, Y.; Levanony, H; 1990, "Current Status of *Azospirillum* inoculation

technology: *Azospirillum* as a Challenge for Agriculture”, *Can. J. Microbiol.* N° 36, pp 591- 598.

Bashan, Y; Holguin, G; Lifshitz, R; 1993, Isolation and Characterization of Plant Growth-Promoting, Rhizobacteria. en Glick, B.R; Thompson, J.E; *Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*, pp. 331-345.

Bashan, Y; Holguin, G; 1994, “Root-to-Root Travel of the Beneficial Bacterium *Azospirillum brasilense*”, *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 60, N°6, pp 2120-2131.

Bashan, Y; Holguin, G; Ferrera-Cerrato, R; 1996, “Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos / *Azospirillum*”, *Terra*, Vol. 14, N°2, pp159-194.

Bashan, Y; Puente, M. E; Rodriguez-Mendoza, M.N; Toledo, G; Holguin, G; Ferrera-Cerrato, R; Pedrin, S; 1995, “Survival of *Azospirillum brasilense* in the bulk soil and rhizosphere of 23 soil types”, *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 16, N°5, pp 1938-1945.

Bashan, Y; Holguin, G; 1997, “*Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996)”. *Can. J. Microbiol*, N°43, pp 103-121.

Beca, B.E; Soto, L; Pardo, Ma. P.A; 2000, “Fijación Biológica de nitrógeno. Elementos”, Vol. 38, N°7, pp 43-49.

Borie, F; Rubio, R; Morales, A; Castillo, C; 2008, “Relación entre densidad de hifas de hongos micorrizógenos arbusculares y producción de glomalina con la característica física y química de suelos bajo cero labranza” *Revista Chilena de Historia Natural*, N°73, pp 749-756.

Bouyoucos G.S; 1963, “Directions for making mechanical analysis of soils by hydrometer method”, *Soil Sci*, EUA, Vol. 4, pp 225-228.

Bowen, G.D. y Rovira, A.D. 1999. “The Rhizosphere and its management to improve plant growth”. *Advances in agronomy*. N°66, pp 1-102.

Brouwerr, C; Harris, C; Elliott, M; 2006, *El tomate sus datos e historia*, Texas Cooperative Extension.

Caballero-Mellado, J. (2005). El género *Azospirillum*. <http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios/Cap10/>, página ingresada el 31 de Septiembre del 2009.

Camelo, M; Vera, S.P; Bonilla, R.R; 2011, “Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal”, *Revista Corpoica-Ciencia y*

Tecnología Agropecuaria, Vol. 12, N°2, pp 159-166.

Canto, J.C; Medina, S; Morales, D; 2004, "Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp. En plantas de chile habanero (*Capsicum chinese* JACQUIN)" *Yucatán México. Tropical and Subtropical Agroecosystems*. Vol. 4, N°1, pp 21-27.

Carcaño-Montiel, M.G; Ferrera-Cerrato, R; Pérez-Moreno, J; Molina-Galán, J.D; Bashan, Y; 2006," Actividad nitrogenasa, producción de fitohormonas, sideroforos y antibiosis en cepas de *Azospirillum* y *Klebsiella* aisladas de maíz y teocintle", *Terra Latinoamericana*, N° 24, pp 493-502.

Cassán, F.D; Lucangelli, C.D; Bottini, R; Piccoli, P; 2001, "Azospirillum spp. Metabolize [2H₂]gibberellin A20 to [2H₂]gibberellin A1 in vivo in dy Rice Mutant Seedlings" *Plant and Cell Physiology*. , Vol. 42, N°7, pp 763 - 767, 2001.

Cassán, F; Sgroy, V; Perrig, D; Masciarelli, O; Luna, V; 2008, "Producción de fitohormonas por *Azospirillum* sp: Aspectos fisiológicos y tecnológicos de la promoción del crecimiento vegetal, en Cassán, F.F; García de Salamone, I; *Azospirillum* sp": Cell physiology, plant interations and agronomic research in Argentina, Asociación Argentina de Microbiología, Buenos Aires, Argentina. p. 61-86.

Chapin, F.S; Matson, P.A; Mooney, H.A; 2002, *Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology*. Springer-Verlag, New York. USA. 436 pp.

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*. Granada, Ed, Universidad de Granada. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Departamento de Microbiología.

De Bashan, L.E; Holguin, G; Glick, B.R; Bashan, Y; 2007, *Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales*. En: Microbiología agrícola: hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, planta-microorganismo. (Eds.) Ferrera-Cerrato, R., y Alarcón, A. Capítulo 8. Editorial Trillas, México. pp. 160-224.

De la Cruz-Lazaro; Estrada-Botello; Robledo-Torres; Osorio-Osorio; Márquez-Hernández; Sánchez-Hernández; 2009, "Producción de tomate en invernadero con composta y vermicomposta como sustrato", *Universidad y Ciencia*, Trópico Húmedo, Vol. 25, N°1, pp 59-67.

Díaz, P; Ferrera-Cerrato, R; Almaraz, J.J; Alcántar, G; 2001, "Inoculación de Bacterias Promotoras de Crecimiento en Lechuga", *Terra*, Vol19, N°4, pp 327-335.

Díaz Arturo; Garza, I; Pecina, V; Montes, M; 2008, "Respuesta del sorgo a micorriza arbuscular y *Azospirillum* en estrés hídrico", *Revista Fitotecnia Mexicana*, Vol. 31,

N°1, pp. 35-42.

Díaz-Franco, A; Garza, I; Pecina, V; Montes, N; 2008, “Respuesta del sorgo a micorriza arbuscular y *Azospirillum* en estrés hídrico”, *Revista Fitotecnia Mexicana*, Vol. 31, N°1, pp 35-42.

Di Barbaro, G., Pernasetti, S., Stegmayer, A., 2005, “Evaluación del efecto de *Azospirillum brasilensis* en la germinación y emergencia del pimiento pimentonero (*Capsicum annum* L.VAR. Trompa de elefante)”. *Revista del CIZAS*, Vol. 6, N°1, pp74-85.

Di Barbaro, G; Pernasetti, S; Jorratti M; 2009, “¿Qué son y qué rol juegan los microorganismos en el ambiente y la fertilidad del suelo?” *Revista de Divulgación Técnica Agrícola y Agroindustrial*, N°3, pp 1-7.

Döbereiner J; Marriell, I.E; Nery, M; 1976, “Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck”. *Can. J. Microbiol.* Vol22 N°10, pp 1464-1473.

Domínguez, I.; 2006, *Producción y Calidad de Jitomate Inoculado con tres Biofertilizantes a Base de Azospirillum brasilense*. México. Tesis Licenciatura (Químico de Alimentos)-UNAM, Facultad de Química, pp 58.

Eckert, B; Weber, O. B; Kirchhof, G; Halbritter, A; Stoffels, M; Hartmann, A; 2001, “*Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*”. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. N°51 pp 17–26.

Esquivel, R; 2011, *El papel de Azospirillum y hongos micorrízicos arbusculares en la producción de jitomate y su mecanismo de acción*. Tesis de Doctorado en Ciencias, Instituto de Ecología, UNAM, 180 pags.

Fernández-Ruiz, V; Cámara, M; Quintela, J.C; 2007, “Ingredientes bioactivos de tomate: el licopeno”, *Nutr. Clin. Hosp*, Vol. 26, N°3, pp 166-170.

Ferrera, Ma del Carmen G, Rodríguez A; 1993 *Agromicrobiología*. México. Ed Trillas.

Ferreras, L; Toresani, S; Bonel, B; Fernandez, E; Bacigaluppo, S; Faggioli, V; Beltran, C; 2009, “Parámetros Químicos y Biológicos como indicadores de calidad del suelo en diferentes manejos”, *Cl. Suelo*, Argentina, Vol, 27, N°1, pp103-114.

García de Salamone, R.K; Hynes, K; Nelson, L.M; 2001, “Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants”, *Can. J. Microbiol.* N°47, pp 404-411.

García, F; Muñoz, H; Carreño, C; Mendoza, G; 2010; “Caracterización de cepas

nativas de *Azospirillum* spp. y su efecto en el desarrollo de *Oryza sativa* L. (arroz) en Lambayeque”, *Scientia Agropecuaria*, N°1 107-116.

García-Olivares, J.G; Moreno-Medina, V.R; Rodríguez-Luna, I.C; Mendoza-Herrera, A; Mayek-Pérez, N; 2006, “Biofertilización con *Azospirillum* brasilense en sorgo, en el norte de México”, *Agricultura Técnica en México*. Vol. 32, N°2, pp 135-141.

Gerdemann, J.W; Nicolson, T.H; 1963, “Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting”. *Trans. Brit. Mycol. Soc*, Vol. 46, pp 235-244.

Gholami, A; Shahsavani, S; Nezarat, S; 2009, “The effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling Growth and Yield Maize”, *World Academy of Science, Engineering and Technology*. N°49, pp 19-24.

Gianinazzi-Pearson, V; Maldonado-Mendoza, I; López- Mayer, M; Weidmann, S; Harrison, M.J; 2006, “Arbuscular-Mycorrhiza”, *Medicago truncatula* handbook, pp 19

Guerra, B.E; 2007, “Micorriza arbuscular. Recurso microbiológico en la agricultura sostenible” *Tecnología en marcha*, Vol. 21, N°1, pp 191-2001.

Guzmán-González, S. y Farías-Larios, J; 2005; “Biología y regulación molecular de la micorriza arbuscular”, *Avances e Investigación Agropecuaria*, Vol. 9, N°2, pp 17-31.

Hernández, W; 2003, *Aislamiento e identificación de cepas de Azospirillum y evaluación de su capacidad para suplir las necesidades de nitrógeno en plantas de Oryza sativa (arroz)*. Informe de práctica de especialidad presentado para otra el grado de Bachiller en Ingeniería en Biotecnología, Escuela de Bióloga, Instituto Tecnológico de Costa Rica.

Hernández, M.I; Chailloux, M; 2001, “ La nutrición mineral y la biofertilización en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill)” Instituto de investigaciones Horticolas “Liliana Dimitrova”, La Habana Cuba, *Temas de Ciencia y Tecnología*. Vol.5, N°13, pp 11-27.

Hernández C.A; 2001, *Efecto del Hongo Micorriza (Glomus intraradices Schenk y Smith) en el crecimiento del portainjerto Mexícola (Persea americana Mili) cultivado bajo cinco tratamientos de fertilización*. Teis de Licenciatura, Universidad Católica de Valparaíso, Quota Chile, 95 pag.

Holguín G; Bashan, Y; Ferrera-Cerrato, R; 1996, “Interacciones entre plantas y microorganismos beneficios: procedimiento para aislamiento y caracterización de Hongos Micorrízicos y Rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas”, *Terra*,

Vol 14, N° 2, pp 211-227.

Holguín, G; Bashan, Y; Puente, E; Carrillo, A; Bethlenfalvay, G; Rojas, A; Vázquez, P; Toledo, Gerardo; Jiménez, M.B; Glick, B.R; González, L; Lebsky, V; Moreno, M; Hernández, J.P; 2003, "Promoción del crecimiento en plantas por bacterias de la rizosfera", *Agricultura Técnica de México*, Vol29, N°2, pp 201-211.

Ibarra, D; Ruiz, J.A; Gonzáles, D.R; Flores, G; 2008, "Clasificación espacial de la textura de los suelos agrícolas de Zapopan Jalisco", *Avances en la investigación científica en el CUCBA*. 37-47 pag.

INEGI: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/> (página consultada el 24-04.2013)

Info-rural: <http://www.inforural.com.mx/spip.php?article104177> (página consultada el 22 de abril del 2013)

INVAM:

<http://invam.caf.wvu.edu/fungi/taxonomy/Glomaceae/Glomus/intraradices/intrarad.htm> página consultada el 10 de Junio 2013

Jackson M.L; 1982, *Análisis Químico de Suelos*. 4ª edición. Ed, Omega. Barcelona. P29-66.

Jaramillo, S.P; Silva, J.M; Osorio, N.W; 2004, "Potencial simbiótico y efectividad de hongos micorrizo arbusculares de tres suelos sometidos a diferentes usos", *Revista Facultad Nacional de Agronomía*. Colombia. Vol. 57, N°1.

Jordan, M; Casaretto, J; 2006, *Hormonas y reguladores del crecimiento: Auxinas, Giberelinas y Citocininas*, En Squeo, F.A. y Cardemil, L. (Edts), *Fisiología Vegetal*, La Serena Chile, pp 1-19.

Kaushik, R; Saxena, A; Tilak, K; 2002, "Can *Azospirillum* strains capable of growing at a sub-optimal temperature perform better in field-grown-wheat rhizosphere". *Biology and Fertility of Science*, Vol35, N°2, pp 92-95.

Krieg, N; Döbereiner, J; 1984, Genus *Azospirillum* Tarrand, Krieg and Döbereiner 1979. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 1. Editado por Noel Krieg y John Holt. Williams & Wilkins. Baltimore, USA. (pp. 94-104).

Lavrinenko, K; Chernousava, E; Gridneva, E; Dubinina, G; Akimov, V; Kuever, J; Lysenko, A; Grabovich, M; 2010, "*Azospirillum thiophilum* sp. nov., a diazotrophic bacterium isolated from a sulfide spring", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. N°60, pp 2832-2837.

Lara C.L.; Villalba, M.; Oviedo, E.; 2007, "Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos". Córdoba, Colombia. *Rev. Colomb. Biotecnol.* Vol. IX No. 2, p6-14.

Lara, C.L; Oviedo, L.E; Betancur, C.A; 2011, "Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indolacético para mejorar los pastos", *Zootecnia Tropical*, Vol29, N°2, pp 187-194.

Lin, S.Y; Shen, F.T; Young, L.S; Zhu, Z.L; Chen, W.M; Young, C.C; 2011, "Azospirillum formosense sp. nov., a novel diazotrophic bacterium isolated from agricultural soil", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.

Lin, S.Y; Young, C. C; Hupfer, H; Siering, C; Arun, A. B; Chen, W.M; Lai, W.A; Shen, F.T; Rekha, P. D; Yassin, A. F; 2009, "Azospirillum picis sp. nov., isolated from discarded tar" *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. N°59, pp 761-766.

Linderman, R.G; 1992, *Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions*. pp 45-70. In: G.J. Bethlenfalvay and R.G. Linderman (eds.). *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. Special Publication 54. American Society of agronomy. Madison, WI.

Lobera, A.N; Romero C.E; 2009, *Estudio comparativo de la calidad de jitomate (Lycopersicon esculentum Mill) variedad saladette cultivado en hidroponía y suelo*. Tesis de Licenciatura, F.E.S. Cuautitlán, UNAM, 113 pag.

López, L.H; 2007, *Efecto de la Biofertilización con Azospirillum sobre la Calidad y Producción de Jitomate*. Tesis Licenciatura (Químico de Alimentos)-UNAM, Facultad de Química, pp 105.

López, A; 2005, *Efecto de las Micorrizas Arbusculares y su aplicación de fosforo en Vicia faba (HABA) a nivel invernadero*. Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

López, L.M. 2012. "Actualidad de la agrocadena del cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*)", Segundo Congreso Nacional del Cultivo de Tomate, México, pp3

Mehnaz, S; Weselowski, B; Lazarovits, G; 2007a, "Azospirillum canadense sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from corn rhizosphere". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. N°57, pp 620–624.

----- 2007b, "Azospirillum zeae sp. nov., a

diazotrophic bacterium isolated from rhizosphere soil of *Zea mays*". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. N°57, pp 2805-2809.

Mondragon, L; 2007, *Producción de jitomate en invernadero*. Gobierno del Estado de México. Programa Editorial compromiso, pp 50.

Montaño, N.M; Camargo-Ricalde, S.L; García-Sánchez, R; Monroy, A; 2007, *Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos (Arbuscular mycorrhizae in arid and semiarid ecosystems)*. Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, Mundi-Prensa SA de CV, UAM Iztapalapa, FES Zaragoza, UNAM. Distrito Federal, México. 460 pp.

Morell, F; Hernández. A; Borges. Y; Marentes, F. L; 2009, "La actividad de los hongos arbusculares en la estructura del suelo", *Cultivos Tropicales*, Vol. 30, N°4, pp 25-31.

Nogales, B; 2005. La microbiología del suelo en el área de la biología molecular: descubrimiento de la punta del iceberg. *Ecosistemas* . España. Vol. 4, N°2, pp41-51.

Nogales, A.M; 2006, *Estudio de la interaccion entre el hongo formador de micorrizas arbusculares Glomus intraradices Schenck y Smith y el hongo patogenop Armillaria mellea (vahl:fr) P. Kuhn en vid*. Tesis de Doctorado, Universidad de Barcelona, 210 pag.

NORMA OFICIAL MEXICANA (NOM) NOM-021-SEMARNAT-2000, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudio, Muestreo y Análisis. 85p.

Nuño, R; Ponce, J.F; Hernández, C; Machain, G.M; 2007, *Manual de producción de tomate rojo bajo condiciones de invernadero para el valle de Mexicali, Baja California*. Fundación Produce, Gobierno del Estado de Baja California, pp-28.

Ocampo, O; Jiménez, R; Salas, M.E; Mena, H.G; Virgen, G; Flores, A; Olalde, V; 2001, *Uso de Microorganismos Rizosféricos en Solanáceas*, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Irapuato, Depto, Biotecnología y Bioquímica.

Ojeda D; Ojeda, E; 1996, *Suelos cultivados de la República Mexicana, contenido medio de nutrimentos minerales aprovechables*. Universidad Autónoma Chapingo, México.

Okon Y; Vanderleyden, J; 1997, " Root-associated *Azospirillum* species can stimulate plants", *ASM News* Vol. 63, N°7, pp 366-370.

Olalde V; Aguilera, L.I; 1998, "Microorganismos y Biodiversidad", *Terra*, Vol. 16, N°3,

pp289-294.

O'Sullivan D.J; O'Gara, F; 1992, "Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens", *Microbiological reviews*, Vol. 56, N°4, pp 662-676.

Padilla, J; Patricia, S; Benjumea, S; Mauricio, J; Vega, O; Walter, N; 2004, "Potencial simbiótico y efectividad de hongos micorrizico arbusculares de tres suelos sometidos a diferentes usos" *Revista Facultad Nacional de Agronomía. Colombia*. Vol. 57, N°1, pp 1-12.

Parniske, M; 2008, "Arbuscular Mycorrhiza: the mother of plant root endosymbiosis" *Nature Reviews: Microbiology*, Vol. 6, pp 763-775.

Pedraza, R.O; Díaz, J.C; 2000, "Azospirillum amazonense: su presencia en el área cañera de la provincia de Tucumán". *Revista Argentina de Microbiología*, N°32 pp199-201.

Peng, G; Wang, H; Zhang, G; Hou, W; Liu, Y; Wang, E; Tan, Z; 2006, "Azospirillum melinis sp. nov., a group of diazotrophs isolated from tropical molasses grass". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. N°56 pp 1263-1271.

Pérez L.M; 2005, *Variabilidad genética de cepas nativas de Azospirillum brasilense mediante análisis tipo PCR-RFLP del DNA 16S Ribosomal*. Tesis de Maestría. Centro de Biotecnología Genómica, IPN, Reinosá Tamaulipas, México, 84pag.

Pérez, J; Casas, M; 2005, "Estudio de la Interacción planta-Azospirillum en el cultivo caña de azúcar (*Saccharum* sp.)". *Cultivos Tropicales*, Vol. 26, N°4, pp 13-19.

Pérez, J., Hurtado, G., Aparicio, V., Argueta, Q., Larín M. *s/a*, *Guía técnica: Cultivo de Tomate*. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal, El Salvador, 48 pag.

Pérez, J; 2013, *Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares en un gradiente altitudinal en el parque nacional Izta-Popo*, Tesis de Licenciatura, F.E.S. Zaragoza U.N.A.M. México, 57 pag.

Perrig, D; Boiero, M.L; Masciarelli, O.A; Ruiz, O.A; Cassán, F.D; Luna, M.V; 2007. "Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation", *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 75, N°5, pp 1143-1150.

Quilambo, O.A; 2003, "The vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis", *African Journal of Biotechnology*, Vol. 2, N°12, pp 539-546.

Rademacher, W; 1994, *Gibberellin formation in microorganisms*. N°15, pp 303-314.

Ramos O; 2007, *Evaluación económica de la producción y comercialización de jitomate saladette (Lycopersicum esculentum Mill) de invernadero en el municipio de Oaxaca de Juárez, Oaxaca*. Huajuapán de León, Oaxaca. . p 129. Publicada en Reyes, J,I. 1996. Fundamentos Teorico-practicos de Temas Selectos de la Ciencia del Suelo. Parte1. 1ªedición. Ed, Omega. P55-113.

Reyes, I; 2011, *La micorriza arbuscular (MA) centro de la rizosfera: comunidad microbiológica dinámica del suelo*. Depto. De Biología, División de CBS. UAM-Istapalapa. Contactos 81, 17-23pag.

Reyes, I; 2002, "Asociaciones biológicas en el suelo: la micorriza arbuscular (MA)", *Contactos*, N°44, pp 5-15.

Reyes, A; 2011, *Aislamiento e identificación de cepas de Azospirillum sp., y evaluación de su capacidad para suplir necesidades de nitrógeno en el cultivo de maíz (zea mays) L. semihidroponico con dos sustratos diferentes bajo invernadero*. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agropecuario. Universidad Politécnica Salesiana. Quito, Ecuador.

Reyes, I; Valery, A; 2007, "Efecto de la fertilidad del suelo sobre la microbiota y la promoción del crecimiento del maíz (*Zea mays* L.) con *Azotobacter* spp". *Bioagro*, Vol.19, N° 3, pp 117-126.

Rillig. M.C; 2004, "Arbuscular micorrhizae, glomalin, and suelo aggregation". *Canadian Journal of soil science*, pp 355-363.

Rivera, D.M; 2008, *Optimización de un medio de cultivo para la preduccion de un inoculate con base en Azospirillum brasilense c16*. Universidad Francisco de Paula Santande, Tesis de Ingeniero de Produccion Biotecnologica, Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente, pp 1-92.

Richards, L.A; 1954," Diagnosis and Improvement of Saline and Alkaline soils". US Salinity laboratory staff, USDA Agricultura handbook, USA, # 60, 160pag.

Rodríguez F; 2008, *Efecto de la interacción hongos micorrízicos arbusculares-Sistemina-Tomate (Solanum lycopersicum L. variedad Amalia) sobre proteínas de defensa y respuesta a patógenos*. Tesis de Doctorado, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Universidad Agraria de la Habana , 134 pag.

Rodríguez, G; 2002, *Inducción del enraizamiento en Agave salmiana Otto con Agrobacterium rhizogenes y colonización de raíces*. Tesis de Doctorado, Universidad de Colima, 114 pag.

Roesch, L.F., Camargo, F.A., Bento, F.M. y Triplett, E.W 2008. "Biodiversity of diazotrophic bacteria within the soil, root and stem of field-grown maize". *Plant Soil*, 302:91-104.

Román, F; 2003, *Concentración de reguladores del desarrollo vegetal inducida por hongos endomicorrízicos en dos cultivares de chile (Capsicum annum L.)*. Tesis de Doctorado, Área Biotecnología, Universidad de Colima, 121 pag.

Ross, J; O'Neill, D; Smith, J; Kerckhoffs; Elliot, R; 2000, "Evidence that auxin promotes the gibberellin A1 biosynthesis in pea", *The Plant Journal*, Vol. 21, N°6, pp 547-552.

SAGARPA. 2011. Estimación de las exportaciones agroalimentarias e nivel entidad federativa. Secretaria de fomento a los negocios, Gobierno Federal.

SAGARPA

<http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/infografias/Paginas/Tomate.aspx> página consultada el 22 de abril del 2013

Samaniego-Gaxiola, J.A.; Chew-Madinaveitia, Y.; 2007, "*Diversidad de géneros de hongos del suelo en tres campos con diferente condición agrícola en La Laguna*", México. Revista Mexicana de Biodiversidad. 78:383-390.

Sáenz, D. A. 2006. *Efecto de un incendio forestal sobre grupos funcionales bacterianos edáficos en una plantación de Eucaliptus cinerea*. Tesis de Microbiólogo Industrial, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.

Sánchez-Colín, MJ; 2000, *Respuesta del Maíz a la Inoculación con Azospirillum y colonización con Micorrizas Arbusculares in situ, en un Andisol Encalado del Estado de México*. Tesis de Maestría (Maestría en Ciencias (Biología))-UNAM, Facultad de Ciencias.

Sánchez-Colín, M.J; 2003, "Estudio de micorrizas arbusculares en especies cultivadas y silvestres en andisoles del estado de México", *Agricultura Técnica en México*, Vol. 29, N°1, pp 69-79.

Sánchez, J., 2007, Fertilidad del suelo y nutrición mineral de plantas (Conceptos Básicos). Fertitec S.A.

Sarabia, M; Madrigal, R; Martínez, M; Carreón, Y; 2010, Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones, *Biológicas*, Vol. 12, N° 1: 65-71.

Saubidet, M; Fatta, N; Barneix, A; 2002, "The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants", *Plant and Soil* Vol. 245, N°2, pp 215-222.

Saura, G., Fernandez, R. y Hidalgo, J.C. 2003. "Fijador de nitrógeno *Azospirillum* sp", *Publi Agro*. El Salvador. pp:17.

Scotti, A; Godeas, A; Silvani, V; Pedernera, M; Urrutia, I; Foscolo, M; 2013, Biorremediation: symbiosis *Helianthus annuus-Glomus intraradices* in the uptake of heavy metals in contaminated soils. ICB, *UNCUYO*, 3pag.

Schüßler, A; Walker, C; 2010, "The *Glomeromycota*. A species list with new families and new genera" *Effectively Published*. Gloucester, England, pp1-17.

Simancas, J.E; 2007, *Influencia de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) y de Azospirillum brasilense y de su Interacción sobre el Desarrollo de Plántulas de Maguey (Agave salmiana var.salmiana en Condiciones de Invernadero*. México, 2007, Tesis Licenciatura (Biologo)-UNAM, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, pp 84.

Singh, P.K; 2012, "Role of glomalin related soil protein produced by Arbuscular Mycorrhizal fungi: a review", *Agricultural Science Research Journal*, Vol. 2, N°3, pp 119-125.

Sly, L. I; Stackebrandt, E; 1999, "Description of *Skermanella parooensis* gen. nov., sp. nov. to accommodate *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *Parooensis* following the transfer of *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *largomobilis* to the genus *Azospirillum*". *International Journal of Systematic Bacteriology* N°49 pp 541-544.

Stanhill, G; 1990, "The comparative productivity of organic agriculture", *Agriculture, Ecosystems and Environment*, Vol. 30, pp 1-26.

Tarrand, J.J.; Krieg, N.R.; Döbereiner, J.; 1978, "A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. Nov", *Canadian Journal of Microbiology* Vol. 24, N°8, pp 967-980.

Tapia-Goné, J; Ferrer-Cerrato, R; Valera-Fregoso, L; Rodríguez, J.C; Lara, J; Soria, J.C; Cuellar, H; Tiscareño, M.A; Cisneros, R; 2007, *Caracterización e identificación*

morfologica de hongos formadores de micorriza arbuscular, en cinco suelos del estado de San Luis Potosí, México. Revista Mexicana de Micología 26:1-7 pag.

Tapia-Gone, J; Ferrera-Cerrato, R; Varela-Fragoso, L; Rodriguez-Ortiz, J; Soria-Colunga, J; Tiscareño-Iracheta M; Loredó-Osti, C; Alcalá-Jáuregui; Villar-Morales, C; 2010. "Infectividad y efectividad de hongos micorrizicos arbusculares nativos de suelos salinos en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*)", *Revista Mexicana de Micología* Vol. 31, pp 69-74.

Tien, T.M; Gaskins, M.H; Hubbell; D.H; 1979, "Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.)", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 37, N°5, pp 1016-1024.

Toniutti M.A; Fornasero, L.V; 2008, "Efecto de la inoculación de *Azospirillum brasilense* sobre el crecimiento y desarrollo de *Setaria lachnea* (Nees) Kunth", *FAVE-Ciencias Agrarias*. Vol. 7, N°1-2, pp 33-41.

Uribe, V; Petit, J; Dzib, E.R; 2007, "Respuesta del cultivo de maíz a la aplicación de biofertilizantes en el sistema rosa, tumba y quema en suelos Alfisol (Chac-Lu'UM, Nomenclatura Maya), en Yucatán" México. *Agricultura andina*, N° 13, pp 3-18.

Velazco, A; Castro, R; Nápoles, M.C; 1999, "*Azospirillum* sp., diazótrofo predominante en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) en la provincia de Pinar del Rio", *Cultivos Tropicales*, Vol20, N°3, pp 5-9.

Villegas, J; 2011; *Propuesta de un huerto familiar automatizado para la siembra de jitomate Hidroponico en Iztapalapa*. Tesis de Ingeniero Mecatrónico, facultad de Ingeniería, UNAM, 65 pag.

Whitman, W.B; Wiebe, W.J; 1999, "Un Inventario Planetario de los Microbios", *Mundo Científico*, 1999, N°200, pp16-19.

Xie, C. H; Yokota, A; 2005, "*Azospirillum oryzae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from the roots of the rice plant *Oryza sativa*", *International Journal of Evolutionary Microbiology*. N°55, pp 1435–1438.

Young, C. C; Hupfer, H; Siering, C; Ho, M.J; Arun, A. B;. Lai, W.A; Rekha, P. D; Shen, F.T; Hung, M.H; Chen W.M; Yassin, A. F; 2008, "*Azospirillum rugosum* sp. nov., isolated from oil-contaminated soil", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, N° 58 pp 959–963.

Zarate, B.H; 2007, *Producción de tomate (Lycopersicon esculentum MILL.) hidropónico con sustratos, bajo invernadero*. Tesis de Maestría, Centro

Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional- Unidad Oaxaca, IPN, 159 pag.