

Saltillo, Coahuila a 21 de diciembre de 2016

**Coordinación de Posgrado**

**Presente**

Por este conducto nos permitimos informar a esta coordinación que, el documento de tesis preparado por **CLAUDIA DEL CARMEN NÚÑEZ GÓMEZ** titulado **"Efecto de la biofertilización con *Azotobacter chroococcum* en el crecimiento y rendimiento de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.) cultivados en condiciones de invernadero"** el cual fue presentado el día **19 de diciembre de 2016**, ha sido modificado de acuerdo a las observaciones, comentarios y sugerencias, realizadas por el Comité Evaluador asignado. Por tal motivo, avalamos que el documento adjunto corresponde a la versión final del documento de tesis.

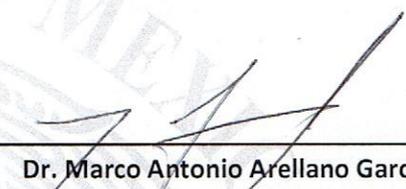
Atentamente,

**SINODALES**



---

**Dr. Ricardo Hugo Lira Saldívar**  
Presidente



---

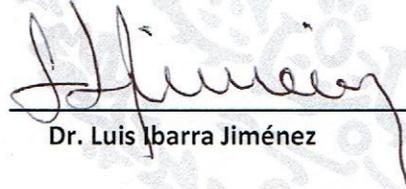
**Dr. Marco Antonio Arellano García**  
Secretario



---

**M.C. Jairo Vazquez Lee**  
Vocal

**Vo. Bo. del ASESORES**



---

**Dr. Luis Ibarra Jiménez**



---

**Dr. Antonio Cárdenas Flores**

## TESIS CON CARACTER ABIERTO

PROGRAMA: MAESTRÍA EN CIENCIAS EN AGROPLASTICULTURA

---

AUTOR: CLAUDIA DEL CARMEN NÚÑEZ GÓMEZ FIRMA

TITULO: Efecto de la biofertilización con Azotobacter chroococcum en el crecimiento y rendimiento de tomate (Solanum lycopersicum L.) y pepino (Cucumis sativus L.) cultivados en condiciones de invernadero

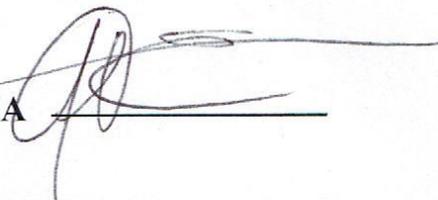
ASESORES: Dr. Luis Ibarra Jiménez

FIRMA



Dr. Antonio Cárdenas Flores

FIRMA



El Centro de Investigación en Química Aplicada clasifica el presente documento de tesis como ABIERTO.

Un documento clasificado como Abierto se expone en los estantes del Centro de Información para su consulta. Dicho documento no puede ser copiado en ninguna modalidad sin autorización por escrito del Titular del Centro de Información o del Director General del CIQA.

Saltillo, Coahuila, a 19 de Diciembre de 2016



Sello de la Institución

Dr. Oliverio Santiago Rodríguez Fernández  
Director General del CIQA

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA**



**PROGRAMA DE POSGRADO EN AGROPLASTICULTURA**

**Efecto de la biofertilización con *Azotobacter chroococcum* en el crecimiento y rendimiento de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.) cultivados en condiciones de invernadero**

**TESIS**

**Presentada por:**

**CLAUDIA DEL CARMEN NÚÑEZ GÓMEZ**

**Para obtener el grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS EN AGROPLASTICULTURA**

**Saltillo, Coahuila, México**

**Diciembre de 2016**

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA**  
**Programa de Maestría en Ciencias en Agroplasticultura**

**TESIS**

**Efecto de la biofertilización con *Azotobacter chroococcum* en el crecimiento y rendimiento de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.) cultivados en condiciones de invernadero**

*Presentada por:*

**CLAUDIA DEL CARMEN NÚÑEZ GÓMEZ**

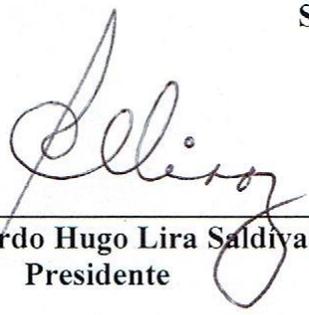
*Para obtener el grado de:*

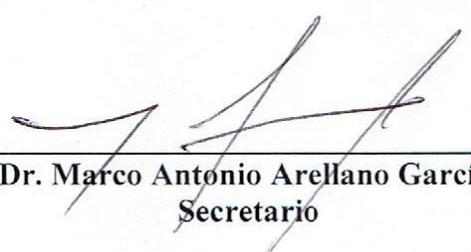
**Maestro en Ciencias en Agroplasticultura**

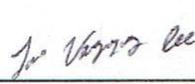
*Asesorada por:*

**Dr. Luis Ibarra Jiménez**  
**Dr. Antonio Cárdenas Flores**

**SINODALES**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Ricardo Hugo Lira Saldívar**  
Presidente

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Marco Antonio Arellano García**  
Secretario

  
\_\_\_\_\_  
**M.C. Jairo Vazquez Lee**  
Vocal

## DECLARACIÓN

Declaro que la información contenida en la Parte Experimental así como en la Parte de Resultados y Discusiones de este documento y que forman parte de las actividades de investigación y desarrollo realizadas durante el período que se me asignó para llevar a cabo mi trabajo de tesis, será propiedad del Centro de Investigación en Química Aplicada.

Saltillo, Coahuila a 19 de diciembre de 2016

  
CLAUDIA DEL CARMEN NUÑEZ GÓMEZ

Nombre y Firma

## **AGRACEDIMIENTOS**

Agradezco al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para poder realizar esta maestría, también agradezco al Centro de Investigación en Química aplicada (CIQA), en especial al programa de plásticos en la agricultura por las herramientas brindadas durante mi estancia en esta institución y por el apoyo brindado en la realización de esta investigación.

También quiero agradecer el financiamiento del proyecto 219493 de la convocatoria CO011-CDTI13-01. Modalidad: CDTI-España, CONACYT de la empresa LIDAG S. A. de C. V.

Agradezco a mis asesores de tesis, el Dr. Luis Ibarra Jiménez y Dr. Antonio Cárdenas Flores, por todo su apoyo durante la realización de este trabajo, por el tiempo dedicado a resolver mis dudas y por sus sugerencias para la adecuada realización de este documento.

Al consejo de sinodales Dr. Ricardo Hugo Lira Saldivar, Dr. Marco Antonio Arellano García y al M.C. Jairo Vázquez Lee por sus observaciones y sugerencias para la adecuada redacción de este documento.

Al M.C. Eduardo Treviño y al M.C. Federico Cerda por su apoyo en la instalación del sistema de riego y en diversas actividades para la realización de este experimento, Al M.C. Adolfo Baylon por su apoyo en la evaluación de las variables fotosintéticas y al M.C. Gorgonio López Tolentino por su apoyo en diversas actividades.

A los trabajadores de campo de este centro de investigación que me brindaron su apoyo, gracias.

A mi esposo Lorenzo Antonio por su apoyo en las labores del cultivo y a mis compañeras y amigas, Blanca, Mariana y Celene por su apoyo en el trasplante y siembra de los cultivos, gracias.

Finalmente quiero agradecer a la coordinación de posgrado por todo el apoyo brindado para mi adecuada formación durante mi estancia en CIQA, agradezco también a todos los profesores que dieron su mayor esfuerzo por transmitirnos su conocimiento.

## **DEDICATORIA**

**A tí mi Guerrero I. A. Z. N.**, por enseñarme a no rendirme y luchar hasta el último momento, por cada mirada llena de ternura que me regalaste y que nunca olvidaré.

### **A mi madre Carmela**

Por su apoyo incondicional, por ser mi mayor ejemplo de superación y de lucha constante, por todas sus enseñanzas, por confiar en mí en todo momento, por ser una gran madre, por su amor infinito e incondicional.

### **A mis hermanos**

**Dominga de Jesús, José Ramón y Luis Armando**, por todo su amor y apoyo incondicional, por todos los momentos que hemos compartido juntos, por creer en mí.

### **A mis sobrinos**

**Evelyn Citlally, Raymundo de Jesús, Ximena Jazmín, José Sebastián y Dulce Mayte**, por todo su amor, por alegrar mis días con su existencia, por ser mi mayor motivación en la vida, los amo.

**A mi esposo Lorenzo Antonio**, por compartir su vida con migo, por motivarme cada día a ser mejor, por sostenerme en mis momentos de mayor fragilidad, por todo su apoyo.

**A Juany De la Rosa**, por enseñarme el valor de la amistad, por todo su apoyo y sus palabras de aliento en momentos difíciles.

**A mis Suegros**, por confiar en mí y aceptarme en su familia.

**A mis amigos y compañeros** que siempre tuvieron una palabra de motivación para mí.

## ÍNDICE GENERAL

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>I.1</b>	<b>Fertilización química en la agricultura</b> .....	1
<b>I.2</b>	<b>Fertilización nitrogenada</b> .....	2
<b>I.3</b>	<b>La fertilización biológica en la agricultura</b> .....	2
<b>I.4</b>	<b>Rizósfera</b> .....	3
<b>I.5</b>	<b>El concepto de biofertilizante</b> .....	3
<b>I.6</b>	<b>Clasificación de los biofertilizantes</b> .....	4
<b>I.7</b>	<b>El género <i>Azotobacter</i></b> .....	5
<b>I.7.1</b>	<b>Fijación biológica de nitrógeno por <i>Azotobacter</i></b> .....	5
<b>I.7.2</b>	<b><i>Azotobacter</i> como promotora del crecimiento vegetal</b> .....	6
<b>I.8</b>	<b>Aplicación de <i>Azotobacter</i> en cultivos de importancia agrícola</b> .....	7
<b>I.9</b>	<b><i>Azotobacter</i> en el cultivo de tomate</b> .....	8
<b>I.10</b>	<b><i>Azotobacter</i> en el cultivo de pepino</b> .....	8
<b>I.11</b>	<b>Agricultura protegida</b> .....	9
<b>I.11.1</b>	<b>La agricultura protegida en México</b> .....	10
<b>I.11.2</b>	<b>Invernadero como ambiente protegido y controlado</b> .....	10
<b>I.12</b>	<b>El cultivo de tomate</b> .....	11
<b>I.12.1</b>	<b>Importancia del cultivo</b> .....	12
<b>I.12.2</b>	<b>Exigencias edafoclimáticas del cultivo</b> .....	12
<b>I.12.3</b>	<b>Requerimientos nutricionales del cultivo</b> .....	13
<b>I.13</b>	<b>El cultivo de pepino</b> .....	13
<b>I.13.1</b>	<b>Importancia del cultivo</b> .....	14
<b>I.13.2</b>	<b>Exigencias edafoclimáticas del cultivo</b> .....	14
<b>I.13.3</b>	<b>Requerimientos nutricionales del cultivo</b> .....	15
<b>II.</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	16
<b>III.</b>	<b>HIPÓTESIS</b> .....	17
<b>IV.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	17
<b>IV.1</b>	<b>Objetivo general</b> .....	17
<b>IV.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	17
<b>V.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	18
<b>V.1</b>	<b>Descripción del sitio experimental</b> .....	18

<b>V.1.1</b>	<b>Características del suelo dentro de los invernaderos antes de ser cultivados</b> .....	18
<b>V.2</b>	<b>Material biológico</b> .....	18
<b>V.3</b>	<b>Producción de plántulas de tomate</b> .....	19
<b>V.4</b>	<b>Preparación del terreno</b> .....	19
<b>V.5</b>	<b>Trasplante de tomate y siembra de pepino</b> .....	19
<b>V.6</b>	<b>Riego y fertilización</b> .....	20
<b>V.7</b>	<b>Manejo de los cultivos</b> .....	20
<b>V.7.1</b>	<b>Control fitosanitario</b> .....	20
<b>V.7.2</b>	<b>Tutorado</b> .....	21
<b>V.7.3</b>	<b>Podas</b> .....	21
<b>V.7.4</b>	<b>Cosecha</b> .....	21
<b>V.8</b>	<b>Diseño experimental</b> .....	22
<b>V.8.1</b>	<b>Tratamientos evaluados</b> .....	22
<b>V.9</b>	<b>VARIABLES EVALUADAS</b> .....	22
<b>V.9.1</b>	<b>VARIABLES FISIOLÓGICAS</b> .....	22
<b>V.9.2</b>	<b>VARIABLES DE CRECIMIENTO</b> .....	23
<b>V.9.3</b>	<b>RENDIMIENTO</b> .....	23
<b>V.9.4</b>	<b>ANÁLISIS FOLIAR EN EL CULTIVO DE TOMATE</b> .....	24
<b>V.10</b>	<b>ANÁLISIS REPRESENTATIVOS</b> .....	24
<b>V.10.1</b>	<b>ANÁLISIS DE SUELO</b> .....	24
<b>V.10.2</b>	<b>ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE SUELO</b> .....	25
<b>VI. RESULTADOS</b> .....		26
<b>VI.1</b>	<b>Efecto de la biofertilización con <i>Azotobacter chroococcum.</i>, en algunas variables fisiológicas y de crecimiento en el cultivo de tomate.</b> .....	26
<b>VI.1.1</b>	<b>Índice relativo de clorofila</b> .....	26
<b>VI.1.2</b>	<b>Fotosíntesis</b> .....	26
<b>VI.1.3</b>	<b>Conductancia estomática</b> .....	27
<b>VI.1.4</b>	<b>Transpiración</b> .....	27
<b>VI.1.5</b>	<b>Altura</b> .....	28
<b>VI.1.6</b>	<b>Área foliar</b> .....	28
<b>VI.1.7</b>	<b>Biomasa seca total</b> .....	29
<b>VI.1.8</b>	<b>Contenido de nutrientes en el follaje de tomate</b> .....	29
<b>VI.1.9</b>	<b>Rendimiento del cultivo de tomate</b> .....	31

VI.2	Características iniciales y finales del suelo donde se cultivó el tomate.....	31
VI.3	Poblaciones de microorganismos en el suelo del cultivo de tomate .....	32
VI.4	Efecto de la biofertilización con <i>Azotobacter chroococcum</i> ., en algunas variables fisiológicas y de crecimiento en el cultivo de pepino. ....	33
VI.4.1	Índice relativo de clorofila.....	33
VI.4.2	Fotosíntesis.....	33
VI.4.3	Conductancia estomática.....	34
VI.4.4	Transpiración .....	34
VI.4.5	Altura .....	35
VI.4.6	Área foliar.....	35
VI.4.7	Biomasa seca total .....	36
VI.4.8	Rendimiento.....	37
VI.5	Características iniciales y finales del suelo donde se cultivó el pepino.....	37
VI.6	Poblaciones de microorganismos en el suelo del cultivo de pepino.....	39
VII.	DISCUSIÓN.....	40
VII.1	Efecto de la biofertilización con <i>Azotobacter chroococcum</i> , en combinación con fertilizantes químicos en el crecimiento y rendimiento de tomate ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.) cultivados en condiciones de invernadero.....	40
VII.2	Efecto de la biofertilización con <i>Azotobacter chroococcum</i> , en combinación con fertilizantes químicos en el crecimiento y rendimiento de pepino ( <i>Cucumis sativus</i> L.) cultivados en condiciones de invernadero. ....	46
VIII.	CONCLUSIÓN.....	52
IX.	RECOMENDACIONES.....	52
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	53
XI.	LISTA DE ABREVIATURAS Y UNIDADES.....	66

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Tratamientos evaluados en el cultivo de tomate y pepino en invernadero.....	22
<b>Cuadro 2.</b> Índice relativo de clorofila y tasa fotosintética de plantas de tomate fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con <i>Azotobacter chroococcum</i> . ....	26
<b>Cuadro 3.</b> Conductancia estomática y transpiración de plantas de tomate fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con <i>Azotobacter chroococcum</i> . ....	27
<b>Cuadro 4.</b> Altura y área foliar de plantas de tomate fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con <i>Azotobacter chroococcum</i> . ....	28
<b>Cuadro 5.</b> Biomasa seca total de plantas de tomate fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con <i>Azotobacter chroococcum</i> . ....	29
<b>Cuadro 6.</b> Contenido de macro y micronutriente en hojas de tomate fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con <i>Azotobacter chroococcum</i> . ....	30
<b>Cuadro 7.</b> Rendimiento de plantas de tomate fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con <i>Azotobacter chroococcum</i> .....	31
<b>Cuadro 8 .</b> Características del suelo dentro del invernadero antes de ser cultivado con tomate .....	32
<b>Cuadro 9.</b> Características del suelo dentro del invernadero después de ser tratado con diferentes tratamientos y cultivado con tomate. ....	32
<b>Cuadro 10.</b> Población inicial de <i>Azotobacter</i> antes de establecer el cultivo de tomate y conteo final obtenido con cada uno de los tratamientos.....	33
<b>Cuadro 11.</b> Índice relativo de clorofila y tasa fotosintética de plantas de pepino fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con <i>Azotobacter chroococcum</i> . ....	34
<b>Cuadro 12</b> Conductancia estomática y transpiración de plantas de tomate fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con <i>Azotobacter chroococcum</i> .....	35
<b>Cuadro 13.</b> Altura y área foliar de plantas de pepino fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con <i>Azotobacter chroococcum</i> . ....	36
<b>Cuadro 14.</b> Biomasa seca total de plantas de pepino fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con <i>Azotobacter chroococcum</i> .....	37
<b>Cuadro 15.</b> Rendimiento de plantas de pepino fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con <i>Azotobacter chroococcum</i> .....	37

**Cuadro 16.** Características del suelo dentro del invernadero antes de ser cultivado con pepino .....38

**Cuadro 17.** Características del suelo dentro del invernadero después de ser tratado con diferentes tratamientos y cultivado con pepino. ....38

**Cuadro 18.** Población inicial de *Azotobacter* antes de establecer el cultivo de pepino y conteo final obtenido con cada uno de los tratamientos.....39

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Preparación del terreno, elaboración de las camas, instalación de cintas de riego y acolchado plástico.....	19
<b>Figura 2.</b> Síntomas y daños causados por fitopatógenos en el cultivo de tomate y pepino A y B) <i>Alternaria solani</i> . C) <i>Leveillula taurica</i> . D y E) Nematodos. F) <i>Pseudoperonospora cubensis</i> . .....	21
<b>Figura 3.</b> A) Frutos cosechados de pepino B) Frutos de tomate cosechados .....	21
<b>Figura 4.</b> A) Medición de clorofila (SPAD, equipo Minolta- 502) y B) medición de fotosíntesis, transpiración y conductancia estomática (IRGA LI-6400 Licor Inc.) .....	23
<b>Figura 5.</b> A) Medición de área foliar (LI-COR modelo LI-3100A). B) peso de muestras secas (Balanza digital) .....	23
<b>Figura 6.</b> Cosecha y evaluación del rendimiento de tomate A) y pepino B).....	24
<b>Figura 7.</b> Proceso de preparación de muestras foliares para determinar el contenido de nutrientes en tomate.....	24

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de la biofertilización a base de *Azotobacter chroococcum* en el crecimiento y rendimiento de un cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.) bajo condiciones de invernadero. Los experimentos se llevaron a cabo en dos invernaderos del campo experimental perteneciente al Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), localizado en el ejido de San Antonio de Encinas, Ramos Arizpe, Coahuila, México ubicado en las coordenadas 25° 39' 14" N, 101° 06' 46.5" O, a una altitud de 1190 msnm. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones, en el cultivo de tomate consistió en fertilización 100%N (224-60-360 kg ha<sup>-1</sup> de N-P-K), 75%N (168-60-360 kg ha<sup>-1</sup> de N-P-K) y 50%N (112-60-360 kg ha<sup>-1</sup> de N-P-K), estas dos últimas con y sin inoculación de *Azotobacter chroococcum*, en el pepino los tratamientos fueron; 100%N (283-93-355 kg ha<sup>-1</sup> de N-P-K), 75%N (212-60-360 kg ha<sup>-1</sup> de N-P-K) con y sin inoculación de *A. chroococcum* y 50%N (141.5-60-360 kg ha<sup>-1</sup> de N-P-K), con y sin inoculación de la misma bacteria. Se evaluó el índice relativo de clorofila (Unidades SPAD), fotosíntesis ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), conductancia estomática ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) transpiración ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), altura (cm), área foliar (cm<sup>2</sup>), biomasa seca total (g), contenido de nutrientes en hojas de tomate y rendimiento (kg/planta). En el cultivo de tomate las plantas tratadas con los diferentes tratamientos se comportaron de manera similar ya que no se encontraron diferencias estadísticas en ninguna de las variables evaluadas, mientras que en el cultivo de pepino únicamente se encontraron diferencias significativas a los 49 días después de la siembra en la fotosíntesis y biomasa seca total con valores más altos en las plantas tratadas con 50%N+BF y 75%N respectivamente, a los 35 días después de la siembra también se presentaron diferencias significativas en la conductancia estomática donde las plantas tratadas con 100%N presentaron valores mayores. Los resultados obtenidos en este trabajo permiten concluir que bajo las condiciones en que se realizó este experimento no se encontraron efectos de *Azotobacter* en el crecimiento y rendimiento del cultivo de tomate y pepino.

**Palabras clave:** Biofertilización, *Azotobacter*, fertilización química, tomate, pepino.

# I. INTRODUCCIÓN

## I.1 Fertilización química en la agricultura

“Desde que el ser humano comenzó a explotar los cultivos hasta los años cuarenta, estos eran crecidos sin la ayuda de agroquímicos” (Aguado-Santacruz *et al.*, 2012), sin embargo, en 1940 surge en Estados Unidos un modelo de producción, llamado Revolución Verde, basado en la agricultura intensiva que tiene la finalidad de aumentar los rendimientos de los cultivos (monocultivos) utilizando insumos agrícolas como: fertilizantes químicos, plaguicidas y herbicidas (SAGARPA-COFRUPO-UNAM, 2013), sustentada con la idea de combatir el hambre en el mundo, sin embargo, inmediatamente se notaron las consecuencias de los cambios con la paulatina pero abrumadora marginación de los pequeños campesinos al no poder adquirir los insumos necesarios para la nueva producción agrícola, lo cual, trajo como resultado el crecimiento de campesinos sin tierras, aunado al desplazamiento de los granos básicos por los más rentables donde la secuela fue la masiva importación de alimentos a fin de cubrir la insuficiencia alimentaria que se presentó (Pichardo, 2006).

Actualmente los fertilizantes sintéticos son componentes fundamentales de la agricultura moderna porque proporcionan nutrientes esenciales para las plantas (Adesemoye *et al.*, 2009). No obstante, el uso excesivo de estos, perjudican el adecuado desarrollo de las plantas, lo cual, deprime los rendimientos agrícolas (Almaguer, 2013). Además, su aplicación continua e indiscriminada conlleva a la degradación de la calidad del suelo por salinidad (“ensalitramiento”) y a un incremento infructuoso en los costos de producción (Cárdenas-Navarro *et al.*, 2004).

Debido a lo anterior, se está dando mayor importancia al uso de alternativas que permitan recuperar los suelos, de tal forma que se logre una producción óptima sin deterioro del medio, (Acuña, 2003), por lo cual, la utilización de microorganismos benéficos ha sido considerada como un elemento importante en la agricultura, en la actualidad existen productos comerciales conocidos como biofertilizantes, o más propiamente llamados bioinoculantes, inoculantes microbianos o inoculantes (Aguado-Santacruz, 2012).

## **I.2 Fertilización nitrogenada**

Durante los últimos 50 años, los volúmenes de consumo mundial de fertilizantes para la producción de cultivos han aumentado de manera dramática (Pelletier *et al.*, 2011). De particular relevancia los fertilizantes nitrogenados de alta solubilidad como: sulfato de amonio, nitrato de potasio y nitrato de calcio, los cuales tienen como materia prima al amoníaco, el cual es producido industrialmente por la reacción de Haber-Bosch, misma que implica un elevado consumo de gas metano a través de la combustión y alta generación de CO<sub>2</sub> (Galloway *et al.*, 2013).

No hay dudas de que la fertilización mineral nitrogenada incrementa los rendimientos agrícolas, hecho que ha sido demostrado en numerosas investigaciones a través de los años (Almaguer, 2013). Sin embargo, su utilización implica riesgos de contaminación ambiental por la lixiviación hacia las aguas subterráneas cuando se combina con malas prácticas de riego (Cárdenas-Navarro *et al.*, 2004), como lo demuestra Almaguer (2013), que al aplicar fertilizantes químicos nitrogenados en un cultivo de maíz, el contenido de nitrato en las aguas lixiviadas se incrementó considerablemente con el aumento de los niveles de nitrógeno aplicados, llegando a alcanzar valores superiores o cercanos al límite permisible por la OMS para el consumo humano o animal que es de 10 mg L<sup>-1</sup>.

La idea generalizada de asociar directamente el aumento del rendimiento con el aumento en los aportes de nitrógeno, ha provocado que los productores lo utilicen indiscriminadamente, obviando las consecuencias negativas que puede acarrear esta actividad, ya que además de los efectos nocivos que tiene la aplicación de altas dosis de este elemento sobre los cultivos también constituyen un riesgo potencial para la salud humana y animal por la contaminación ambiental que puede ocasionar (Cárdenas-Navarro *et al.*, 2004; Almaguer, 2013).

## **I.3 La fertilización biológica en la agricultura**

La importancia de los microorganismos en la naturaleza y en la agricultura es cada día más evidente. Cuando los agricultores tienen la necesidad de adoptar medidas conservacionistas, los microorganismos tienen una función fundamental (Grageda-Cabrera *et al.*, 2012).

La utilización de microorganismos ha sido considerada como elemento importante en la agricultura, mediante el entendimiento de su actividad en las propiedades del suelo y en la

planta misma. Es tal la repercusión que han tenido estos microorganismos que ya existe en el mercado productos denominados biofertilizantes cuyos beneficios no solo se enfocan al crecimiento vegetal, sino que también pueden ser elementos importantes en la estabilidad de los agroecosistemas y del ambiente (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 2000), ya que los microorganismos benéficos utilizados como biofertilizantes tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, descomponer desechos y residuos orgánicos, desintoxicar el suelo de pesticidas, suprimir enfermedades de plantas y patógenos del suelo, incrementar el reciclaje de nutrientes y producir componentes bioactivos como: vitaminas, hormonas, y enzimas que estimulan el crecimiento de las plantas (Higa y Parr, 2013).

Las tecnologías de biofertilización o fertilización biológica son tecnologías limpias apropiadas dentro de los esquemas de certificación nacional e internacional, por que ofrecen soluciones a problemas de deficiencia de nutrientes en el suelo, contribuyen con la disminución de los costos de producción, son compatibles con la protección del ambiente y representan una importante alternativa para la sustitución parcial o total de los fertilizantes minerales (Ramírez y CORPOICA, 2008; Grageda-Cabrera *et al.*, 2012).

#### **I.4 Rizósfera**

La rizósfera comprende la región del suelo ocupada por las raíces de las plantas, donde crece una comunidad microbiológica diversa y dinámica, cuya actividad se vincula con distintos procesos relacionados con el agua, nutrición mineral, intercambio de cationes y producción de exudados entre muchos otros que la hacen diferente del resto del suelo en sus propiedades físicas, químicas y biológicas (Reyes, 2011).

#### **I.5 El concepto de biofertilizante**

El término "biofertilizante" ha sido definido de diferentes maneras durante los últimos 20 años, que deriva de la mejora de la comprensión de las relaciones que se producen entre los microorganismos de la rizósfera y la planta (Malusá y Vassilev, 2014).

Actualmente, se conocen también como bioinoculantes, inoculantes microbianos o inoculantes del suelo, los cuales se definen como: sustancias que contienen microorganismos vivos o latentes (bacterias u hongos) (Aguado-Santacruz, 2012) que, cuando se aplican a las semillas, superficies de plantas o en el suelo, coloniza la rizósfera o el interior de la planta (endófitos) y

promueve el crecimiento mediante el aumento de la oferta o disponibilidad de nutrientes primarios para la planta huésped (Vessey, 2003; Shankar, 2013), o bien insumos formulados con uno o varios microorganismos (Acuña, 2003) debidamente seleccionados, que al ser aplicados al suelo o a la planta son capaces de, aportar a los cultivos nitrógeno fijado de la atmósfera, fósforo transformado a partir del que está fijado en el suelo y sustancias fisiológicamente activas que, al interactuar con la planta, ocasionan una mayor activación del metabolismo (Burdman *et al.*, 2000; Bauer, 2001, citado en López *et al.*, 2008).

## **I.6 Clasificación de los biofertilizantes**

Los biofertilizantes pueden ser clasificados en 4 grupos de acuerdo al mecanismo (s) empleado para promover el crecimiento de las plantas (Acuña, 2003 y Kannaiyan, 2002).

- Fijadores de nitrógeno

Microorganismos que tienen la capacidad de transformar el N atmosférico a amonio y suministrarlo a los cultivos, como: *Azotobacter sp.*, *Azospirillum sp.* y *Rhizobium sp.*

- Solubilizadores de fósforo

Microorganismos que transforman el fósforo en forma orgánica a inorgánica, insoluble o soluble, mediado por microorganismos como *Bacillus sp.*, *Pseudomona sp.*, *Penicillium sp.* y *Aspergillus sp.*

- Captadores de fósforo

Microorganismos, que tienen la capacidad de aumentar el área de captación y absorción de nutrientes, principalmente fósforo, a través de las raíces como: hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA), por ejemplo: *Rhizophagus sp.*, *Endogone sp.*, *Gigaspora sp.*, *Acualospora sp.* y *Scutellispora sp.*

- Promotores de crecimiento

Estos son microorganismos que, durante su actividad metabólica son capaces de producir y liberar sustancias reguladoras de crecimiento para las plantas. Dentro de éstos los más

conocidos son: *Pseudomonas* sp., *Agrobacterium* sp., *Bradyrhizobium* sp., *Azotobacter* sp., *Azospirillum* sp., *Streptomyces* sp. y *Xanthomonas* sp.

## **I.7 El género *Azotobacter***

Dentro de la clasificación de los microorganismos utilizados como biofertilizantes, *Azotobacter* representa el principal grupo de bacterias fijadoras de nitrógeno (Sartaj *et al.*, 2013) pero también se encuentra dentro de las promotoras de crecimiento vegetal. *Azotobacter* es un género de bacterias heterótrofas, aerobias de vida libre, encontradas predominantemente en los suelos (Kizilkaya, 2009) principalmente en aquéllos que son neutros o alcalinos (Sartaj *et al.*, 2013).

Las bacterias fijadoras de nitrógeno (diazótrofas) fueron las primeras en producirse comercialmente con fines de biofertilización, pero posteriormente las bacterias diazótrofas asimbióticas cobraron mayor importancia en la agricultura, de este grupo la más utilizada como biofertilizante corresponde al género *Azotobacter* conformada por siete especies 1) *A. chroococcum*, 2) *A. vinelandii*, 3) *A. beijerinckii*, 4) *A. tropicalis*, 5) *A. armeniacus*, 6) *A. nigricans* y 7) *A. salinestrus* (Jiménez, 2007; NCBI, 2016).

*Azotobacter* se ha utilizado en diversos estudios para la inoculación de plantas debido a su rápido crecimiento y alto nivel de fijación de nitrógeno, sin embargo, se desconoce el modo exacto por el cual la bacteria aumenta el crecimiento de las plantas, aunque se han propuesto tres mecanismos posibles:

- a) Fijación de nitrógeno; disponibilidad de nitrógeno combinado para la planta
- b) Producción de sustancias similares a las fitohormonas que alteran el crecimiento y la morfología de la planta
- c) Reducción de nitrato, lo que aumenta la acumulación de nitrógeno en plantas inoculadas (Sartaj *et al.*, 2013)

### **I.7.1 Fijación biológica de nitrógeno por *Azotobacter***

El nitrógeno (N) es un elemento necesario en la composición de proteínas, ácidos nucleicos y otros componentes celulares, siendo así una molécula esencial para el crecimiento de todos los organismos. En la atmósfera el N ocupa aproximadamente el 80%, existiendo en la forma  $N\equiv N$ ; sin embargo, el  $N_2$  debido al triple enlace entre los dos átomos de nitrógeno,

que hace a la molécula casi inerte, no puede ser aprovechado por la mayoría de los organismos, sino sólo por un pequeño grupo de microorganismos altamente especializados, que cuentan con la presencia del sistema enzimático nitrogenasa, que les permite la reducción del nitrógeno molecular ( $N\equiv N$ ) atmosférico hasta la forma asimilable  $NH_4^+$  (Mayz-Figueroa, 2004).

Una de las propiedades principales de *Azotobacter* es la capacidad que tiene para fijar el nitrógeno atmosférico en condiciones aeróbicas (Becking, 2006; Maier y Moshiri, 2000). En vida libre, fijan al menos 10 mg de N por gramo de carbohidrato consumido (Holt, 2000).

La capacidad de *Azotobacter* para fijar nitrógeno ha sido demostrada en diversos estudios (Escobar *et al.*, 2011; León y Rojas, 2015; Lara *et al.*, 2007).

### **I.7.2 *Azotobacter* como promotora del crecimiento vegetal**

Las rizobacterias promotoras del crecimiento de plantas (PGPR, por sus siglas en inglés) son bacterias que colonizan la raíz de las plantas aportándoles diversos beneficios (Kloepper, 1989; Lugtenberg y Kamilova, 2009).

*Azotobacter* ha sido empleada en diversos ensayos por su capacidad para fijar nitrógeno, sin embargo, este género bacteriano ha demostrado ser capaz de promover el crecimiento de plantas por diversos mecanismos, por lo tanto se incluye dentro de las PGPR.

Los resultados obtenidos por Nieto y Frankerberger (1989) en su experimento sugieren que *Azotobacter chroococcum* tiene el potencial para influir en el crecimiento de plantas si las condiciones ambientales dentro de la rizósfera son favorables.

Aunque el mecanismo por el cual las PGPR promueven el crecimiento de las plantas no está aun totalmente establecido, Sartaj (2013) menciona que *Azotobacter* es un género de bacterias capaz de sintetizar auxinas, citoquininas, y sustancias similares a las giberelinas, estas son, sustancias hormonales que se originan a partir de la superficie de la rizósfera o raíz, y son las que afectan principalmente el crecimiento de las plantas. Siendo el ácido indolacético (AIA) la principal auxina secretada por *Azotobacter* (Lara *et al.*, 2011; Obando *et al.*, 2010; AHMAD *et al.*, 2005; Ahmad *et al.*, 2008).

El potencial de *Azotobacter* como PGPR se ha demostrado en diversos cultivos como el maíz (León y Rojas 2015; Rojas -Tapia *et al.*, 2012), garbanzo (Sánchez-Yáñez *et al.*, 2014a), cilantro (Carillo *et al.*, 2015) y calabacita (Refai *et al.*, 2010).

### **I.8 Aplicación de *Azotobacter* en cultivos de importancia agrícola**

Existen numerosos ensayos en diferentes cultivos que demuestran los efectos positivos de *Azotobacter*, por ejemplo: Sánchez-Yáñez (2014b) al evaluar el efecto de la inoculación de *Azotobacter* y dosis reducidas de fertilizante nitrogenado en el cultivo de maíz, reportan un mayor porcentaje de germinación de las semillas, altura de la planta, peso fresco, biomasa seca y longitud radical respecto al testigo sin inocular y a la fertilización 100% química. Por su parte Kisilkaya (2008) al aplicar cepas nativas de *A. chroococcum* en un cultivo de trigo bajo invernadero y campo abierto, obtuvo mayor rendimiento y mayor concentración de nitrógeno respecto al control, por lo cual, recomienda el uso de cepas nativas de *Azotobacter* como biofertilizante. Reyes y Valery (2007) al aplicar dos cepas de *Azotobacter* (MF1b y MF5) en combinación con tratamientos químicos en un cultivo de maíz, encontraron que la cepa MF1b tuvo un efecto benéfico, incrementando significativamente el peso seco, estos autores concluyen que esta cepa de *Azotobacter* representa un potencial para su uso en la agricultura sostenible.

La aplicación de una cepa de *Azotobacter nigricans* en un cultivo de *Stevia rebaudiana* incrementó la biomasa y el contenido de sólidos solubles totales (indicadores de rendimiento y calidad) de las plantas inoculadas respecto a las no inoculadas, por lo cual, se sugiere que puede ser considerado como una buena alternativa para mejorar las condiciones nutricionales y mantener una producción orgánica sostenible (Borda-Molina *et al.*, 2009). González *et al.* (2003) al evaluar 4 cepas nativas de *Azotobacter* y una mezcla de estas en un cultivo de lechuga en sistema organopónico, obtuvieron un incremento significativo en el porcentaje de materia seca y contenido de NPK, respecto al testigo sin inocular, el mayor efecto positivo se encontró con la cepa nativa FS-2 de *A. chroococcum*, por lo cual fue seleccionada por estos autores como bioestimuladora del crecimiento y del rendimiento del cultivo evaluado. En otro experimento en cultivo de lechuga se logró incrementar la altura de la planta, diámetro foliar y peso de la planta al aplicar diferentes cepas de *Azotobacter*, sobresaliendo las cepas “c1”, “c2” y “c5” (Vélez y Orellana, 2010).

### **I.9 *Azotobacter* en el cultivo de tomate**

La aplicación de cuatro cepas nativas de *Azotobacter* en un cultivo de tomate bajo sistema organopónico produjo mayor contenido de sólidos solubles totales y vitamina C respecto al testigo sin inocular (Gonzales *et al.*, 2003).

En otro experimento al evaluar la respuesta de *Azotobacter* como biofertilizante en comparación con fertilizantes inorgánicos en la germinación y el crecimiento de la planta de tomate, se encontró que *Azotobacter* provocó un mayor porcentaje de germinación, altura de la planta, número, longitud y ancho de las hojas respecto al testigo absoluto y a las plantas tratadas con fertilizantes químicos (Mahato *et al.*, 2009).

Escobar *et al.* (2011) lograron disminuir los días a floración y aumentaron la altura de la planta, biomasa seca total y el volumen radicular al aplicar una cepa de *Azotobacter* complementada con fertilizantes químicos respecto al testigo absoluto y a las plantas tratadas únicamente con fertilización química.

Pulido *et al.* (2003) reportan que mediante la aplicación de una cepa de *Azotobacter chroococcum*, lograron en el cultivo de tomate, posturas de calidad en cuanto a altura, equivalentes a las obtenidas con fertilización química. Mediante la inoculación de una cepa de *Azotobacter* Ibiene *et al.* (2012) también obtuvieron incrementos en la altura de la planta, grosor del tallo y longitud de los entrenudos respecto al testigo.

### **I.10 *Azotobacter* en el cultivo de pepino**

En un experimento realizado por Kurdish *et al.* (2008) se encontró que una cepa de *Azotobacter vinelandii* estimuló la germinación de semillas de pepino y el desarrollo de las plántulas. En otro experimento se demostró que *Azotobacter chroococcum* tiene efectos positivos al ser utilizada como biofertilizante ya que, logro aumentar el número y tamaño de frutos, el contenido de N, P, K, así como el rendimiento del cultivo de pepino respecto al testigo (Saeed *et al.*, 2015).

De la misma manera al inocular las simillas de pepino con *Azotobacter chroococcum* en otra investigación, se logró incrementar el peso seco y fresco de las raíces, peso total de la planta, longitud de la planta, número de hojas, brotes, porcentaje de nitrógeno en brotes y raíz, así como el rendimiento respecto al testigo sin inocular, por lo cual se sugiere que el uso de A.

*chroococcum* como biofertilizante es importante en el rendimiento de dicho cultivo (Salhia, 2010).

González *et al.* (2003) al aplicar 4 cepas de *Azotobacter* en el cultivo de pepino, reportan mayor porcentaje de materia seca, contenido de N, P, K y mayor rendimiento respecto al testigo, por lo cual seleccionaron específicamente la cepa FS-2 como bioestimuladora del crecimiento y rendimiento de dicho cultivo.

### **I.11 Agricultura protegida**

En un mundo cada vez más poblado, con menor superficie disponible para la agricultura, con suelos degradados, escasez de agua, contaminación, y en un entorno de fuertes alteraciones climáticas (FIRA, 2010), el uso de técnicas y estructuras más eficientes para proteger a los cultivos se ha convertido en una verdadera necesidad por la exigencia de productos de excelente calidad, en cualquier época del año, sin daños por agentes climáticos, plagas ni enfermedades. Debido a lo anterior los agricultores requieren de una alta productividad para satisfacer la demanda y exigencias de los mercados, lo que implica el uso de una serie de tecnologías que se enmarcan dentro del concepto de agricultura protegida (Santos *et al.*, 2010).

La agricultura protegida se refiere a cualquier estructura con diversas cubiertas transparentes o semitransparentes (Santos *et al.*, 2010).

Bajo este sistema especializado es posible llevar a cabo el control del medio edafoclimático modificando sus condiciones (suelo, temperatura, radiación solar, viento, humedad, entre otros) (Santos *et al.*, 2010; SAGARPA, 2012; Jensen y Malter, 1995). La modificación del entorno natural no solo permite la producción de cultivos, también permite prolongar el periodo de recolección, alterar los ciclos convencionales, aumentar los rendimientos, mejorar su calidad, estabilizar las producciones y disponer de productos cuando la producción al aire libre se encuentre limitada (Castilla, 2007). Por lo tanto el objetivo de la agricultura protegida es obtener productos en cualquier temporada y con excelente calidad para poder obtener un precio más alto en el mercado (hortalizas, frutas, flores, ornamentales y plantas de vivero) (Santos *et al.*, 2010; Castilla, 2007).

### **I.11.1 La agricultura protegida en México**

En México, como en otros países, se viene realizando fuertes inversiones para la instalación y operación de estructuras con el fin de practicar algún tipo de agricultura protegida (AP), llámese invernaderos, macrotúneles, malla anti-insectos o casa sombra (FIRA, 2010). En México existen muchas regiones con condiciones naturales idóneas para el establecimiento de invernaderos, debido a ello la agricultura protegida se ha desarrollado en forma acelerada, ya que permite obtener productos de calidad tanto para mercado nacional como de exportación. De esta forma, el empleo de invernaderos y la agricultura protegida están contribuyendo ampliamente en la producción de alimentos y en el desarrollo de varias zonas agrícolas de México (Juárez *et al.*, 2011).

En el país existen alrededor de 20 mil hectáreas bajo agricultura protegida, de las cuales aproximadamente 12 mil son de invernadero y las otras 8 mil corresponden a malla sombra y macro túnel principalmente.

El 50% de la superficie con agricultura protegida se concentra en cuatro estados: Sinaloa (22%), Baja California (14%), Baja California Sur (12%) y Jalisco (10%), los principales cultivos que se producen bajo este sistema son: el jitomate (70%), pimiento (16%) y pepino (10%) (SAGARPA, 2012).

### **I.11.2 Invernadero como ambiente protegido y controlado**

En los últimos años, se han desarrollado diferentes tipos de estructuras para la protección de los cultivos, dichas estructuras plantean alternativas diferentes para generar condiciones ambientales óptimas necesarias para cada especie y en concordancia con los factores climáticos de cada región (Juárez *et al.*, 2011).

A causa de la gran competencia por el mercado de exportación debido a las exigencias de calidad de los productos hortícolas y la acentuada disminución del agua de riego en el noroeste de México, el uso de invernaderos es una opción que ha tomado fuerza. Esta forma de producción responde a las nuevas exigencias y permite al horticultor producir con más consistencia, mejor calidad, mayor rendimiento unitario, un período más amplio de cosecha y sobre todo mayor eficiencia económica en el uso del agua. La implementación de la producción hortícola en invernadero disminuye el riesgo de la producción, aumenta la rentabilidad del sector productivo; además, genera fuente de empleo, disminuye la

contaminación ambiental y daños a la salud (Grijalva y Robles, 2003: citado en Grijalva, *et al.*, 2008).

De manera general un invernadero es una construcción agrícola con una cubierta translúcida que permite obtener las condiciones climáticas necesarias para el adecuado crecimiento y desarrollo de los cultivos. Dentro de las estructuras más utilizadas para la protección de cultivos, los invernaderos permiten un control más eficiente de los factores ambientales. La finalidad de los invernaderos es proteger a los cultivos de factores extremos y elementos que puedan afectar su desarrollo como son, altas y bajas temperaturas, granizadas, vientos, lluvias torrenciales, cantidad y calidad de energía luminosa, plagas y enfermedades, dichos factores pueden ser modificados y controlados eficientemente según el diseño, equipamiento y manejo apropiado de cada invernadero, tomando en cuenta las condiciones climáticas locales y las necesidades edafoclimáticas de cada cultivo (Juárez *et al.*, 2011).

A diferencia de las demás protecciones los invernaderos poseen mayor solidez y son suficientemente altos (4 m) y anchos lo cual permite una mejor protección y desarrollo del cultivo, por lo que se puede llegar a establecer especies de alturas diversas, incluso árboles (Santos *et al.*, 2010), aunque generalmente son utilizados para la producción de tomate, pepino, pimentón, melón, flores y otros (Jaramillo *et al.*, 2007).

Debido a la importancia socioeconómica del tomate y pepino a nivel mundial, son cultivos, que se han adoptado como modelos de estudio, especialmente para su producción en ambientes protegidos, siendo la búsqueda de nuevas alternativas de fertilización uno de los principales motivos de estudio de éstos por su alta demanda de nutrientes, de especial relevancia el nitrógeno.

### **I.12 El cultivo de tomate**

El jitomate (tomate rojo) *Solanum lycopersicum* L. pertenece a la familia de las solanáceas, es originario de América del sur especialmente Perú y las Islas Galápagos, también de Bolivia Chile, México y Ecuador, aunque México es considerado el principal centro de domesticación (Mondragón, 2005).

### **I.12.1 Importancia del cultivo**

A nivel mundial el tomate se considera la hortaliza más importante ocupando el primer lugar tanto en superficie como en volumen de producción, alcanzando en el año 2011 una superficie de 4.7 millones de hectáreas, con una producción de 159 millones de toneladas, donde: China, India, Estados Unidos, Turquía, Egipto, Irán, e Italia son los países con mayor producción, siendo México el onceavo productor mundial con una superficie de 85, 000 ha y un volumen de producción de 2,436000 ton (ODEPA, 2013).

El tomate es de las hortalizas más consumidas por su alto contenido en vitaminas y minerales y la versatilidad tanto en el consumo fresco del fruto, como de manera industrial, por su alto contenido en licopeno que es el responsable del color rojo de los jitomates y por poseer propiedades antioxidantes, actuar protegiendo a las células del cáncer (pulmón, próstata, y tracto digestivo) y del envejecimiento (Mondragón, 2005).

### **I.12.2 Exigencias edafoclimáticas del cultivo**

La temperatura óptima para la germinación de las semillas esta entre 16 a 29°C, para el crecimiento vegetativo entre 21° y 24 °C y en la floración las temperaturas mínimas no deben ser menores de 12°C y las máximas no deben pasar los 25°C, para el amarre de frutos necesita de 13° a 18°C por la noche y de 19 a 24 durante el día. La temperatura media mensual ideal para este cultivo, debe estar comprendido entre 16° y 27°C (Haifa, 2014; Serrano, 1996). La humedad relativa óptima requerida está comprendido entre 50 y 60 por ciento, por encima de estas cifras está expuesto a la infección de enfermedades fungosas y a que la fecundación de las flores no se realicen con normalidad (Serrano,1996).

En cuanto a la luz el cultivo es más exigente en la intensidad de la luz en las etapas de crecimiento, floración e inicio de fructificación, mientras que en maduración las exigencias son menos. (Mondragón, 2005). Puede crecer en diferentes tipos de suelo, aunque los más indicados son los suelos sueltos, fértiles, bien aireados y con buen drenaje interno y capacidad de retener humedad, de texturas francas a franco arcillosas, con contenidos de materia orgánica por encima del 5%, y buen contenido de nutrientes. El pH del suelo debe oscilar entre 5,8 a 6,8 para garantizar la máxima disponibilidad de nutrientes (Rodríguez, *et al.*, 2001; Jaramillo *et al.*, 2007).

### **I.12.3 Requerimientos nutricionales del cultivo**

El tomate es considerado como un gran consumidor de nutrientes ya que requiere una alta disponibilidad de macronutrientes como N, P, K, Ca, Mg, S, y micronutrientes como Fe, Mn, Cu, B, Zn, de los macronutrientes necesarios para el crecimiento de las plantas solamente el nitrógeno, fósforo y potasio se consideran nutrientes primarios ya que se requieren en grandes cantidades (Jaramillo *et al.*, 2007; FAO e IFA, 2002; Garza y Molina, 2008).

El nitrógeno es el nutriente que más afecta el crecimiento y la producción del tomate ya que es fundamental para la síntesis de aminoácidos, formación de clorofila, proteínas, alcaloides, enzimas, ácidos nucleicos y orgánicos esenciales en el crecimiento, desarrollo y rendimiento del cultivo. Este elemento promueve la formación de flores, frutos y regula la maduración de la planta, por lo cual se requiere un adecuado nivel de este nutriente (Jaramillo *et al.*, 2007 ; Mondragón, 2005).

La disponibilidad de nutrientes del suelo estará en función de sus propiedades físicas, química y biológicas tales como el pH, C.E. contenido de materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico, humedad etc. Mientras que la extracción de estos por la planta dependerá de las condiciones de desarrollo del cultivo (suelo, clima y técnicas de cultivo), la variedad sembrada y el rendimiento agrícola, por lo tanto el programa de fertilización estará sujeto a los resultados del análisis de suelo, agua y análisis foliar en cada etapa de desarrollo, desde el trasplante hasta el final de la cosecha (Jaramillo *et al.*, 2007; Haifa, 2014).

### **I.13 El cultivo de pepino**

Es originario de las regiones tropicales del sur de Asia, cultivado hace 3,000 años en el noreste de la India, posteriormente fue trasladado a otras partes del mundo, especialmente en América (CENTA, 2003).

El pepino es una planta herbácea, anual de porte rastrero y con zarcillos, pertenece a la familia de las cucurbitáceas, su nombre científico es *Cucumis sativus* L., tipo fanerógama ya que se reproducen por medio de semillas. Hasta la década de los setenta todas las variedades eran monoicas, es decir: plantas con flores masculinas y flores femeninas en la misma planta, a

partir de entonces comenzaron a comercializarse plantas con flores femeninas exclusivamente, en general, productoras de frutos partenocárpicos (FDA, 1992; Reche, 2011)

### **I.13.1 Importancia del cultivo**

México es el octavo mayor productor de pepino a nivel mundial (FAOSTAT, 2012). El cultivo es muy importante ya que tiene un elevado índice de consumo, pues sirve de alimento tanto en fresco como industrializado. El cultivo de esta hortaliza es estable en cuanto a superficie cultivada (entre los 7000-8000 ha), pero la producción y exportación aumentan (Zamudio y Felix, 2014). En México es la tercer hortaliza más cultivada después del tomate y del pimiento ocupando un 10% del total de la superficie cultivada (20,000 has) bajo agricultura protegida (SAGARPA, 2012).

### **I.13.2 Exigencias edafoclimáticas del cultivo**

La temperatura óptima para el desarrollo del pepino está comprendida entre 25° y 30° C. Por debajo de 12 °C el desarrollo vegetativo se detiene; la máxima no es conveniente que pase de 40°C. En el momento de la floración y desarrollo de frutos las temperaturas óptimas están comprendidas entre 18° y 22°C (Serrano, 1996). El pepino es muy exigente de alta humedad del aire y del suelo, principalmente durante la germinación y la emergencia de las plántulas, altas temperaturas y la baja humedad relativa aumentan el amargor de los frutos de pepino independientemente del origen genético (FDA, 1992). Al inicio de floración requiere de una humedad de 65 a 90%, en floración de 50 a 80% y en fructificación de 50 a 65 %. El intervalo óptimo de humedad relativa puede situarse en 50-90 % dependiendo de la temperatura, a 25°C requiere de 65 a 80% y a 32°C de un 90%. (Zamudio y Felix, 2014).

Es una planta exigente en luminosidad ya que a mayor cantidad de radiación solar mayor es la producción. Se puede cultivar en una amplia gama de suelos, aunque los ideales para su buen desarrollo son, suelos francos con abundante materia orgánica (más de 3.5%), que contengan una profundidad efectiva mayor de 60 cm para facilitar la retención de agua y el crecimiento del sistema radicular, se debe evitar suelos demasiado arcillosos, el cultivo se adapta muy bien a un rango de pH de 5.5 y 6.8, soportando hasta 7.5, se debe evitar sembrar en suelos ácidos con pH menores de 5.5, es una planta mediamamente tolerante a la salinidad (CENTA, 2003; Zamudio y Felix, 2014).

### **I.13.3 Requerimientos nutricionales del cultivo**

El pepino es un cultivo muy exigente en cuanto a balance nutricional debido a su débil desarrollo radicular y al rápido crecimiento y desarrollo de la planta, por lo cual es necesario realizar aplicaciones frecuentes de fertilizantes. En el pepino el fósforo juega un papel importante sobre la formación de raíces y el tamaño de las flores. El calcio es un elemento determinante en la calidad y favorece una mejor defensa de las plantas frente a enfermedades, mientras que los micro elementos van a incidir notoriamente en el color de la fruta, su calidad y la resistencia de la planta, principalmente el hierro y manganeso (FDA, 1992; Arias, 2007; Zamudio y Felix, 2014).

Este cultivo requiere de altas dosis de fósforo, potasio y nitrógeno, siendo este último fundamental en la composición de diversas biomoléculas. Es importante cuidar el balance de nutrientes, así como las relaciones entre el N:K, el K:Ca y el Ca:Mg para evitar antagonismos y poder controlar el desarrollo de las plantas y su resistencia a los factores ambientales o enfermedades, por lo que una nutrición bien balanceada permitirá tener un desarrollo adecuado de la planta y un óptimo rendimiento del cultivo (CENTA, 2003; Arias, 2007).

Actualmente el aporte de nutrientes pueden realizarse en función de las extracciones del cultivo que dependa del ambiente en que éste se desarrolla (tipo de suelo, condiciones climáticas, calidad del agua de riego) o con base a una solución nutritiva “ideal” a la que se ajustarán los aportes previo análisis de agua. Este último método se emplea en cultivos hidropónicos, y para poder usarlos en suelo o en enarenado, es necesario la colocación de sondas de succión para poder determinar la composición de la solución del suelo a partir de análisis de macro y micronutrientes, C.E. y pH (Zamudio y Felix, 2014).

## II. JUSTIFICACIÓN

Durante los últimos años, se ha aumentado el consumo de fertilizantes para la producción de cultivos a pesar de que su uso excesivo a lo largo del tiempo ha provocado problemas de fertilidad en el suelo al mismo tiempo que han generado un impacto negativo en el medio ambiente, ocasionando daños en la salud humana y animal, especialmente los fertilizantes nitrogenados para los cuales se necesita un elevado consumo de energía para su elaboración, misma que produce una elevada generación de contaminantes.

Por lo cual surge la necesidad de implementar nuevas técnicas de producción que permitan disminuir el uso de estos fertilizantes químicos sin comprometer el rendimiento de los cultivos. A lo largo del tiempo se han venido realizando numerosos estudios mediante la aplicación de diversos microorganismos benéficos conocidos como biofertilizantes, entre los cuales se indican que el uso de estos, además de poder igualar los rendimientos obtenidos con fertilización química sintética también representan una alternativa para mitigar la contaminación e incrementar la fertilidad del suelo (Álvarez-Hernández *et al.*, 2011, Carvajal y Mera, 2010; Chirinos *et al.*, 2006).

La efectividad de los BF ha sido demostrada en diversas investigaciones, sin embargo, en el noreste del país bajo condiciones de agricultura protegida (AP) son pocos los estudios realizados. Por lo anterior se propone el uso de *Azotobacter chroococcum* en un cultivo de tomate y pepino bajo este sistema como una opción para reducir el uso de los fertilizantes nitrogenados sin comprometer el rendimiento, la salud y la economía de los productores y consumidores.

### **III. HIPÓTESIS**

Es posible disminuir la fertilización con nitrógeno inorgánico, mediante la aplicación de un biofertilizante constituido por *Azotobacter chroococcum*, sin afectar el crecimiento y rendimiento del cultivo de tomate y pepino cultivados bajo condiciones de invernadero.

### **IV. OBJETIVOS**

#### **IV.1 Objetivo general**

Determinar si un BF a base de la bacteria *Azotobacter chroococcum*, es capaz de reemplazar parcialmente el uso de fertilizantes sintéticos con N, sin afectar el crecimiento y rendimiento de tomate y pepino.

#### **IV.2 Objetivos específicos**

- ✓ Contrastar el efecto sobre el crecimiento, rendimiento y algunas variables fisiológicas, de la fertilización química convencional al 100% de N y subdosis de 75 y 50% N, en comparación con las fertilizaciones a 75 y 50% de N suplementadas con *Azotobacter chroococcum*, en tomate y pepino, en condiciones de invernadero
- ✓ Determinar la población de bacterias fijadoras de nitrógeno y el contenido de nutrientes en el suelo cultivado con pepino y tomate antes del inicio del cultivo y al final de la cosecha.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### V.1 Descripción del sitio experimental

Los experimentos, se llevaron a cabo durante el periodo de mayo-octubre de 2015 en dos invernaderos del campo experimental perteneciente al Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), ubicado en el ejido de San Antonio de Encinas, Ramos Arizpe, Coahuila, en las coordenadas 25° 39' 14" N, 101° 06' 46.5" O, a una altitud de 1190 msnm.

#### V.1.1 Características del suelo dentro de los invernaderos antes de ser cultivados

El suelo dentro del invernadero antes de ser cultivado (9 días antes) con tomate, contaba con 51, 31 y 18% de arena, limo y arcilla respectivamente con textura franca, contenía 22.2 mg kg<sup>-1</sup> de nitratos (N-NO<sub>3</sub>), 11.5 mg kg<sup>-1</sup> de P y 107 mg kg<sup>-1</sup> de K disponible, la materia orgánica presente era de 0.89 %, con pH de 8.4, conductividad eléctrica (C.E.) de 3.27 dS/m, con un 11.67 % de carbonatos (CO<sub>3</sub>) totales (Cuadro 8).

El suelo en el invernadero donde se estableció el cultivo de pepino contaba con 49, 35 y 16% de arena, limo y arcilla respectivamente, con textura franca, antes del cultivo (9 días antes) contenía 22.2 mg kg<sup>-1</sup> de nitratos (N-NO<sub>3</sub>), 11.5 mg kg<sup>-1</sup> de P y 125 mg kg<sup>-1</sup> de K disponible, la materia orgánica presente era de 0.92 %, un pH de 8.5 y conductividad eléctrica ( C.E. ) de 2.43 dS/m, con 10.43% de carbonatos (CO<sub>3</sub>) totales (Cuadro 16).

A pesar que ambos invernaderos se encontraban en el mismo campo experimental los suelos se analizaron por separado ya que el suelo donde se cultivó el pepino anteriormente había sido cultivado con tomate, lo cual pudo haber provocado modificaciones en sus propiedades.

### V.2 Material biológico

Para este experimento se utilizaron semillas de pepino (*Cucumis sativus* L.), ginóico/partenocárpico, Híbrido Dasher II (Seminis, México), con 99% de pureza y 98% de germinación; y de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) var. Corazón (Hazera, México), la cual es una variedad de tipo saladette con 91% de germinación.

Se utilizó una cepa de *Azotobacter chroococcum* (1x10<sup>9</sup> UFC g<sup>-1</sup>) en presentación granulada sólida, procedente del cepario de la empresa Laboratorio de Investigaciones y Diagnósticos Agropecuarios, LIDAG, S.A de C.V.

### V.3 Producción de plántulas de tomate

Se procedió a la siembra el 12 de abril de 2015 en charolas de poliestireno expandido de 200 cavidades, usando como sustrato turba previamente humedecida, posteriormente las charolas se estuvieron cubriéndose con un plástico negro hasta la emergencia de la primera semilla (14 de abril de 2015), el riego se realizó de manera manual cuando fue necesario para las plantas y a partir de que éstas mostraron las dos primeras hojas verdaderas se aplicó la solución nutritiva de Hoagland y Arnon (Robredo *et al.*,2000) para lograr un crecimiento inicial vigoroso.

### V.4 Preparación del terreno

Se realizó una previa limpieza dentro de ambos invernaderos para eliminar malezas, un paso de arado y posteriormente rastra para eliminar los terrones y facilitar el acolchado del suelo, después se realizaron cinco camas de manera manual en cada invernadero, las cuales tenían 0.8 m de ancho, 0.3 m de altura, 20 m de largo y una distancia de 1.8 metros entre centros de camas, se colocaron 2 cintas de riego por goteo (Toro-Aquatrax, gasto  $1.06 \text{ L h}^{-1}$  a 8 PSI por gotero) a lo largo de cada cama, con 20 cm de separación entre emisores, enseguida se colocó el acolchado (polietileno coextruído blanco/negro, de 1.20 m de ancho y 30  $\mu\text{m}$  de espesor), con una cara de exposición de 0.8 m.



**Figura 1.** Preparación del terreno, elaboración de las camas, instalación de cintas de riego y acolchado plástico.

### V.5 Trasplante de tomate y siembra de pepino

El trasplante se realizó a los cuarenta días después de la siembra (dds) (21 de mayo de 2015), previo al trasplante se realizó un riego abundante para generar un buen ambiente de humedad en el suelo para el adecuado establecimiento del cultivo de tomate y la germinación del pepino. La siembra del pepino se realizó de manera directa el 2 de junio de 2015

depositando dos semillas en cada orificio, después de la emergencia cuando éstas tenían dos hojas verdaderas bien desarrolladas se aclaró dejando una sola planta. En ambos cultivos el arreglo en campo fue a tresbolillo dejando una distancia de 0.4 m entre plantas e hileras.

## **V.6 Riego y fertilización**

Durante el ciclo de los cultivos se llevó un programa de fertirriego, utilizando una dosis de fertilización: 224-60-360 Kg ha<sup>-1</sup> de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O para el cultivo de tomate y 283-93-355-Kg ha<sup>-1</sup> de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O para el cultivo de pepino, así como subdosis de 75 y 50% de nitrógeno con y sin biofertilización, correspondientes a los tratamientos que se describen más adelante.

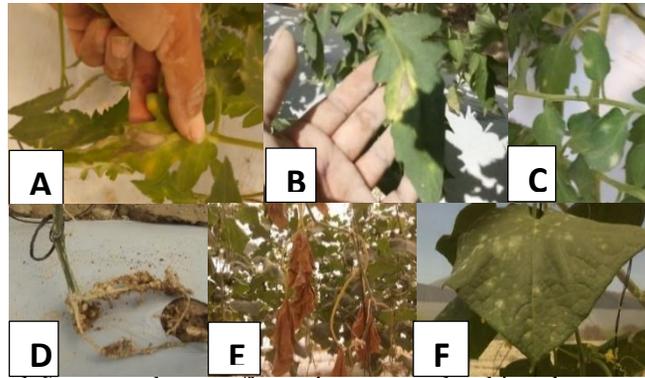
Se realizaron tres aplicaciones de un biofertilizante a base de *Azotobacter chroococcum* a los 27, 37 y 47 días después del trasplante (ddt) del tomate y a los 15, 25 y 35 días después de la siembra del pepino, para lo cual se diluyeron 100 gramos del biofertilizante (1x10<sup>9</sup> UFC g<sup>-1</sup>) en 100 L de agua para obtener una concentración de 1x10<sup>6</sup> UFC mL<sup>-1</sup>, estos 100 L de solución bacteriana fueron aplicadas a 88 plantas (1136 mL / plantas) a través del sistema de riego por goteo. El suministro de agua se realizó en base a tensiómetros (25 cm profundidad), generalmente cuando estos marcaban 30 centibares.

## **V.7 Manejo de los cultivos**

### **V.7.1 Control fitosanitario**

Se realizaron monitoreos de plagas y enfermedades durante todo el ciclo de cada cultivo. El cultivo de tomate, únicamente resultó afectado por tizón temprano (*Alternaria solani*) y cenicilla polvorienta (*Leveillula taurica*). Mientras que en el pepino al inicio de ciclo registró la presencia de trips (*Frankliniella* sp.) y araña roja (*Tetranychus urticae*) a mitad del ciclo, observándose también daños por nematodos, en cuanto a enfermedades se presentó únicamente mildiu (*Pseudoperonospora cubensis*).

Para la prevención y control de estas, se utilizaron los siguientes productos: BSK-100®, FullKover® HF, Abamixxin®, TripzOut, Rally®40 WP, Captan® 50 PH, Prozycar® 50 % PH, Proplant® 720, Ridomil Gold® 480, Mancozeb 80 WP, Amistar® 50 WG y CuSO<sub>4</sub>, para su aplicación se utilizó una mochila aspersora con capacidad de 16 L.



**Figura 2.** Síntomas y daños causados por fitopatógenos en el cultivo de tomate y pepino A y B) *Alternaria solani*. C) *Leveillula taurica*. D y E) Nematodos. F) *Pseudoperonospora cubensis*.

### V.7.2 Tutorado

Las plantas de tomate y pepino fueron guiadas a un solo tallo por un sistema de tutorado cenital, para lo cual se enrollaron 15 metros de rafia de polietileno en ganchos de alambre galvanizado.

### V.7.3 Podas

Se realizaron podas constantes de yemas laterales (chupones) para conducir las plantas a un tallo. En el caso del tomate se realizó la poda del primer racimo floral para homogenizar el crecimiento, también se eliminaron hojas viejas para mejorar la ventilación e iluminación y prevenir la incidencia de plagas y enfermedades. En ocasiones se realizaron podas de frutos pequeños para homogenizar el tamaño y calidad del fruto (únicamente en tomate). Dos semanas antes de finalizar el ciclo del cultivo de tomate se realizó la poda del tallo en la parte terminal.

### V.7.4 Cosecha

La cosecha se realizó de manera manual en ambos cultivos cuando el fruto alcanzó la madurez comercial, posteriormente se pesaron en una báscula de reloj.



**Figura 3.** A) Frutos cosechados de pepino B) Frutos de tomate cosechados

## V.8 Diseño experimental

El experimento se llevó a cabo bajo un diseño de bloques completos al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones. El análisis de varianza (ANVA) y la comparación de medias (Tukey,  $P \leq 0.5$ ) se realizó con el paquete estadístico Infostat versión 2015.

### V.8.1 Tratamientos evaluados

Para la aplicación de los tratamientos se tomó como referencia de 100% la dosis de 224-60-360 kg ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O en el cultivo de tomate y 283-93-355 kg ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O en el cultivo de pepino, se hicieron reducciones de un 25 y 50% únicamente del nitrógeno en ambos cultivos como se muestra en el Cuadro 1, la fertilización se aplicó de manera fraccionada en las diferentes etapas del cultivo a través del sistema de riego por goteo.

**Cuadro 1.** Tratamientos evaluados en el cultivo de tomate y pepino en invernadero

Cultivo	Tratamiento	Fertilización (kg ha <sup>-1</sup> )			<i>Azotobacter sp.</i>
		N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	
Tomate	1) 100%N	224	60	360	---
	2) 75%N + BF	168	60	360	1x10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>
	3) 75% N	168	60	360	---
	4) 50% N + BF	112	60	360	1x10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>
	5) 50% N	112	60	360	---
Pepino	1) 100%N	283	93	355	---
	2) 75%N + BF	212	93	355	1x10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>
	3) 75% N	212	93	355	---
	4) 50% N + BF	141.5	93	355	1x10 <sup>6</sup> UFC mL <sup>-1</sup>
	5) 50% N	141.5	93	355	---

La dosis de biofertilizante (BF) fue de 1136 mL por planta de suspensión bacteriana a 1x10<sup>6</sup> UFC mL<sup>-1</sup> de concentración.

## V.9 Variables evaluadas

### V.9.1 Variables fisiológicas

A los 47, 61 y 82 ddt del tomate y a los 35, 49 y 65 dds del pepino se realizaron mediciones indirectas de clorofila (Unidades SPAD, con un equipo Minolta-502). Se hicieron mediciones de fotosíntesis, conductancia estomática y transpiración (IRGA LI-6400 Licor

Inc.) en la última hoja bien desarrollada, para esto se muestrearon dos plantas por cada unidad experimental y se promediaron los valores.



**Figura 4.** A) Medición de clorofila (SPAD, equipo Minolta- 502) y B) medición de fotosíntesis, transpiración y conductancia estomática (IRGA LI-6400 Licor Inc.)

### V.9.2 Variables de crecimiento

En las mismas fechas mencionadas se realizaron muestreos destructivos de dos plantas de tomate y una de pepino por unidad experimental, posteriormente se midió la altura de las plantas mediante una cinta métrica, luego se separaron las hojas de cada planta para medir el área foliar (LI-COR modelo LI-3100A). Se separaron las hojas, tallos y frutos de cada planta y se introdujeron en bolsas de papel estraza previamente etiquetada, posteriormente se colocaron las muestras dentro de una estufa de circulación forzada de aire a 75° C durante 72 horas hasta llegar a peso seco constante, finalmente se pesaron las muestras secas mediante una balanza digital, con la suma de peso seco de la hoja, tallo y fruto se obtuvo el peso total de la planta.



**Figura 5.** A) Medición de área foliar (LI-COR modelo LI-3100A). B) peso de muestras secas (Balanza digital)

### V.9.3 Rendimiento

Para obtener el rendimiento del cultivo de tomate se cosecharon 48 plantas de cada tratamiento, 12 por repetición y 32 plantas en el cultivo de pepino, 8 por repetición,

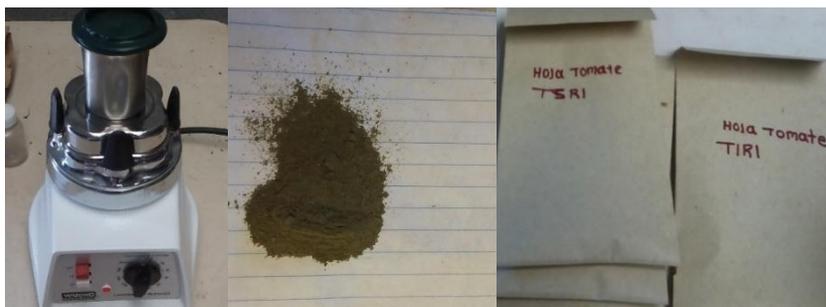
posteriormente se pesaron los frutos en una báscula de reloj para obtener el rendimiento en kilogramos por tratamiento y posteriormente se calculó el rendimiento por planta.



**Figura 6.** Cosecha y evaluación del rendimiento de tomate A) y pepino B)

#### **V.9.4 Análisis foliar en el cultivo de tomate**

El análisis foliar se realizó una sola vez al terminar el experimento, para esto se tomaron las hojas que fueron secadas a 75°C durante 72 horas, posteriormente se molió cada muestra (repetición) de los diferentes tratamientos en una licuadora de laboratorio y se metieron en bolsas de papel estraza y finalmente se enviaron al Laboratorio Nacional de Análisis de Planta, Agua, Suelo y Medio Ambiente (CENID-RASPA), donde se determinó el contenido de nutrientes.



**Figura 7.** Proceso de preparación de muestras foliares para determinar el contenido de nutrientes en tomate.

### **V.10 Análisis representativos**

#### **V.10.1 Análisis de suelo**

Se tomaron muestras antes de establecer los cultivo en 5 puntos de cada invernadero y finalmente se mezclaron las muestras para obtener una sola, al final del cultivo se tomó una muestra de 1 kg aproximadamente entre 0 a 30 cm de profundidad en cada parcela (4 por tratamiento) donde fueron aplicados los tratamientos, las muestras se mezclaron y

homogenizaron en un contenedor de PVC limpio donde finalmente se recuperó una muestra compuesta de 1 kg para cada tratamiento, las muestras se guardaron en bolsas de polietileno negro y se almacenaron en refrigeración para, posteriormente enviarlas al Laboratorio Nacional de Análisis de Planta, Agua, Suelo y Medio Ambiente (CENID-RASPA) donde se determinaron las características físicas, de fertilidad y otras características químicas del suelo

#### **V.10.2 Análisis microbiológico de suelo**

De las muestras homogenizadas descritas anteriormente, se tomaron 100g de suelo en cada tratamiento y se envió a un laboratorio donde se realizó el conteo de poblaciones de *Azotobacter* por el método de dilución seriada y crecimiento en placa.

## VI. RESULTADOS

A continuación se describen los resultados obtenidos en cada evaluación con los diferentes tratamientos aplicados en los cultivos, tomate en primer lugar y posteriormente pepino.

### VI.1 Efecto de la biofertilización con *Azotobacter chroococcum*., en algunas variables fisiológicas y de crecimiento en el cultivo de tomate.

#### VI.1.1 Índice relativo de clorofila

En esta variable no se presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos en ninguno de los tres muestreos, sin embargo, también se puede observar que el contenido de clorofila no disminuyó a través del tiempo, ya que se presentan valores muy similares en las tres fechas de evaluación (Cuadro 2).

#### VI.1.2 Fotosíntesis

En la fotosíntesis tampoco se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos en ninguno de los muestreos (Cuadro 2) pero se puede observar una clara disminución de esta en la segunda fecha de muestreo (61 ddt), a los 82 ddt hubo un ligero aumento, solo las plantas tratadas con 100%N y 50%N lograron superar los valores obtenidos en la primera evaluación.

**Cuadro 2.** Índice relativo de clorofila y tasa fotosintética de plantas de tomate fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con *Azotobacter chroococcum*.

Tratamiento	Clorofila (Unidades SPAD)			Fotosíntesis ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )		
	Días después del trasplante (ddt)					
	47	61	82	47	61	82
<b>100%N</b>	46.1 a+	47.1 a	48.7 a	16.8 a	13.7 a	18.4 a
<b>75%N+BF</b>	52.4 a	50.7 a	51 a	20.5 a	14.9 a	16.5 a
<b>75%N</b>	50.6 a	51.8 a	52.1 a	17.9 a	13.5 a	16.4 a
<b>50%N+BF</b>	46.7 a	46.4 a	50.4 a	19.7 a	11.8 a	16.2 a
<b>50%N</b>	48.8 a	51 a	50.9 a	19.7 a	12.8 a	21.4 a
<b>Probabilidad</b>	0.4	0.13	0.73	0.61	0.88	0.57
<b>C.V. (%)</b>	10.28	6.77	6.79	19.81	31.91	28.56
<b>S.E.</b>	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

+ = Promedios seguidos de la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey  $\leq 0.05$ ). 100 %N = 224-60-360 Kg ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O. 75%N y 50%N = subdosis de N. BF = Biofertilizante con *Azotobacter chroococcum*. ddt = días después del trasplante. C.V. (%) = Coeficiente de variación. S.E. = Significancia estadística. N.S.= No significativo.

### VI.1.3 Conductancia estomática

En el Cuadro 3 se muestran los resultados obtenidos con la aplicación de los diferentes tratamientos en la conductancia estomática.

Como se puede observar no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos para ninguno de los tres muestreos, y al igual que en la variable anterior, se puede apreciar una ligera disminución en la conductancia estomática a los 61 ddt.

### VI.1.4 Transpiración

El análisis de varianza tampoco mostró diferencias significativas entre tratamientos en esta variable en ninguna de las evaluaciones realizadas, tal como se observa en el Cuadro 3, también se puede apreciar que en la segunda evaluación (61 ddt) los valores de transpiración presentaron una disminución en todos los tratamientos, sin embargo a los 82 ddt los valores superaron a los obtenidos a los 62 ddt.

**Cuadro 3.** Conductancia estomática y transpiración de plantas de tomate fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con *Azotobacter chroococcum*.

Tratamiento	G <sub>s</sub> (mol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )			Transpiración (mmol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )		
	Días después del trasplante (ddt)					
	47	61	82	47	61	82
100%N	0.5 a+	0.2 a	0.4 a	6.9 a	3.7 a	6.6 a
75%N+BF	0.5 a	0.4 a	0.2 a	6.6 a	5.5 a	4.6 a
75%N	0.4 a	0.3 a	0.3 a	5.3 a	4.6 a	6.1 a
50%N+BF	0.5 a	0.2 a	0.2 a	7.1 a	3.6 a	4.9 a
50%N	0.5 a	0.2 a	0.3 a	5.3 a	3.2 a	6.1 a
Probabilidad	0.82	0.56	0.74	0.19	0.38	0.74
C.V. (%)	42.23	64.35	60.19	21.54	42.96	44.49
S.E.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

+ = Promedios seguidos de la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey  $\leq 0.05$ ). 100 %N = 224-60-360 Kg ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O. 75%N y 50%N = subdosis de N. BF = Biofertilizante con *Azotobacter chroococcum*. ddt = días después del trasplante. C.V. (%) = Coeficiente de variación. S.E = Significancia estadística. N.S. = No significativo. G<sub>s</sub> = Conductancia estomática.

### VI.1.5 Altura

En esta variable no se presentaron diferencias estadísticas con ninguno de los diferentes tratamientos evaluados, en ninguna de las fechas de evaluación como se puede apreciar en el Cuadro 4. Sin embargo si se puede observar diferencias de altura en las diferentes fechas de muestreo, donde se puede ver claramente el crecimiento de la planta a través del tiempo ya que los valores de altura fueron aumentando, alcanzándose los valores más altos en el tercer muestreo (82 ddt).

### VI.1.6 Área foliar

En el área foliar al igual que las variables anteriores tampoco se encontraron diferencias estadísticas entre los diferentes tratamientos aplicados, sin embargo se puede ver claramente las diferencias entre los valores de cada fecha de muestreo (Cuadro 4), donde la mayor área foliar se obtuvo a los 82 ddt, mientras que en la primer fecha de muestreo (47 ddt) se presentaron los valores más bajos debido a que las plantas eran más pequeñas.

**Cuadro 4.** Altura y área foliar de plantas de tomate fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con *Azotobacter chroococcum*.

Tratamiento	Altura (cm)			Área foliar (cm <sup>2</sup> )		
	Días después del trasplante (ddt)					
	47	61	82	47	61	82
<b>100%N</b>	152.3 a+	195.1 a	271.8 a	4167.0 a+	6392.1 a	10480.6 a
<b>75%N+BF</b>	147.3 a	207.6 a	258.5 a	3750.3 a	5399.2 a	7796.78 a
<b>75%N</b>	151.3 a	205.4 a	273.0 a	4372.7 a	5965.7 a	10613.9 a
<b>50%N+BF</b>	143.6 a	192.6 a	247.3 a	3698.4 a	5524.0 a	8749.8 a
<b>50%N</b>	153.9 a	202.4 a	265.0 a	4257.4 a	6980.3 a	8635.5 a
<b>Probabilidad</b>	0.77	0.78	0.37	0.76	0.85	0.56
<b>C.V. (%)</b>	8.35	9.96	7.50	22.14	37.37	30.35
<b>S.E.</b>	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

+ = Promedios seguidos de la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey  $\leq 0.05$ ). 100 %N = 224-60-360 Kg ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O. 75%N y 50%N=subdosis de N. BF = Biofertilizante con *Azotobacter chroococcum*. ddt = días después del trasplante. C.V. (%) = Coeficiente de variación. S.E. = Significancia estadística. N.S. = No significativo

### VI.1.7 Biomasa seca total

En el Cuadro 5 se observan los resultados de biomasa seca total obtenidos con lo diferentes tratamientos aplicados.

En cuanto a la biomasa seca total tampoco se encontraron diferencias estadísticas con ninguno de los tratamientos aplicados en ninguno de los muestreos realizados, sin embargo, se puede ver una diferencia muy marcada entre los valores de cada fecha de muestreo, donde la biomasa seca total en el segundo muestreo fue casi el doble del primero, aunque los valores más altos se obtuvieron en el tercer muestreo. Esto se debe a que a partir de la segunda fecha (61 ddt) las plantas tenían una mayor altura, mayor área foliar y presencia de frutos, los cuales eran de mayor peso en el último muestreo (82 ddt).

**Cuadro 5.** Biomasa seca total de plantas de tomate fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con *Azotobacter chroococcum*.

Tratamientos	Biomasa seca total (g)		
	Días después del trasplante (ddt)		
	47	61	82
<b>100%N</b>	56.6 a	102.0 a	160.8 a
<b>75%N+BF</b>	59.9 a	89.8 a	148.5 a
<b>75%N</b>	79.7 a	112.5 a	176.6 a
<b>50%N+BF</b>	72.0 a	101.5 a	148.7 a
<b>50%N</b>	68.9 a	110.8 a	155.9 a
<b>Probabilidad</b>	0.29	0.61	0.74
<b>C.V. (%)</b>	23.54	21.08	21.09
<b>S.E.</b>	N.S.	N.S.	N.S.

+ = Promedios seguidos de la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey  $\leq 0.05$ ). 100 %N = 224-60-360 Kg ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O. 75% N y 50%N = subdosis de N. BF = Biofertilizante con *Azotobacter chroococcum*. ddt = días después del trasplante. C.V. (%) = Coeficiente de variación. S.E. = Significancia estadística. N.S. = No significativo.

### VI.1.8 Contenido de nutrientes en el follaje de tomate

En el Cuadro 6 se presenta el contenido de nutrientes de muestras foliares obtenidos con los diferentes tratamientos evaluados como se puede observar no se presentaron diferencias estadísticas en ninguno de los macronutrientes ya que los valores obtenidos fueron muy similares entre sí. En cuanto al contenido de micronutrientes únicamente se encontraron

diferencias estadísticas ( $P \leq 0.05$ ) en el contenido de Zn, donde los valores más altos se presentaron en las plantas tratadas con 75%N+BF, y los valores más bajos se encontraron con el tratamiento 100% N y 50%N+BF.

**Cuadro 6.** Contenido de macro y micronutriente en hojas de tomate fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con *Azotobacter chroococcum*.

Tratamientos	Macronutrientes totales (%)				
	N	P	Ca	Mg	K
100%Q	2.92 a+	0.23 a	3.41a	0.72 a	1.43 a
75%Q+BF	3.49 a	0.24 a	3.7 a	0.77 a	1.64 a
75%Q	3.35 a	0.23 a	3.95 a	0.74 a	1.67 a
50%Q+BF	3.2 a	0.18 a	3.47 a	0.78 a	1.39 a
50%Q	3.33 a	0.21a	3.89 a	0.64 a	1.72 a
Probabilidad	0.12	0.06	0.75	0.73	0.26
C.V	8.93	13.08	18.92	20.74	15.74
S.E.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
	Micronutrientes(mg kg <sup>-1</sup> )				
	Fe	Mn	Cu	Zn	B
100%Q	445.75 a	70.5 a	13.75 a	28.5 b	73.5 a
75%Q+BF	346.5 a	281.25 a	13 a	38.5 a	90.25 a
75%Q	386.5 a	95.75 a	18.5 a	32.75 ab	98.75 a
50%Q+BF	401.25 a	78.5 a	14 a	27.25 b	93.75 a
50%Q	384.25 a	89.25 a	16 a	34.75 ab	83.75 a
Probabilidad	0.93	0.38	0.58	0.04	0.25
C.V. (%)	40.50	135.05	34.33	15.58	17.94
S.E.	N.S.	N.S.	N.S.	*	N.S.

+ = Promedios seguidos de la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey  $\leq 0.05$ ). 100 %N = 224-60-360 Kg ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O. 75%N y 50%N = subdosis de N. BF = Biofertilizante con *Azotobacter chroococcum*. C.V. (%) = Coeficiente de variación. S.E. = Significancia estadística. N.S. = No significativo, \* = Diferencia estadística significativa.

### VI.1.9 Rendimiento del cultivo de tomate

En el Cuadro 7 se muestran los resultados del análisis de varianza del rendimiento del cultivo de tomate.

**Cuadro 7.** Rendimiento de plantas de tomate fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con *Azotobacter chroococcum*.

Tratamientos	Rendimiento (kg/planta)
100%N	3.26 a
75%N+BF	2.75 a
75%N	3.15 a
50%N+BF	2.68 a
50%N	3.29 a
Probabilidad	0.34
C.V. (%)	17.27
S.E.	N.S.

+ = Promedios seguidos de la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey  $\leq 0.05$ ). 100 %N = 224-60-360 Kg ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O. 75%N y 50%N = subdosis de N. BF = Biofertilizante con *Azotobacter chroococcum*. C.V. (%) = Coeficiente de variación. S.E. = Significancia estadística. N.S. = No significativo.

### VI.2 Características iniciales y finales del suelo donde se cultivó el tomate

En los Cuadros 8 y 9 se observan los resultados de las características del suelo antes y después de ser cultivado con tomate.

En cuanto a la fertilidad, que es una de las características más importantes, se puede observar en el Cuadro 8 que al principio se tenía 22.2 mg kg<sup>-1</sup> de nitrógeno nítrico, sin embargo en el Cuadro 9 se puede ver que hubo una disminución de este elemento en el suelo donde se aplicó el tratamiento 50%N y 75% N.

Respecto al fósforo disponible se puede ver una disminución, en los mismos tratamientos antes mencionados, mientras que en el tratamiento 75%N+BF se mantuvo igual este elemento al igual que el nitrógeno, en lo que respecta al potasio disponible se aprecia que hubo un aumento de este nutriente en el suelo tratado con casi todos los tratamientos, especialmente en el tratamiento 75%N+BF, también se puede apreciar que en el tratamiento 75%N hubo una disminución del potasio como en los casos anteriores.

Respecto a la materia orgánica el suelo presentaba un porcentaje muy pobre al inicio del cultivo, aunque el análisis final también mostró un porcentaje muy similar al del inicio. El pH del suelo no presentó cambios ya que los resultados para todos los tratamientos fueron igual que al inicio, sin embargo la conductividad eléctrica disminuyó al final del cultivo con todos

los tratamientos, aunque en el tratamiento con 75%N+BF la disminución fue menor. Y finalmente el porcentaje de carbonatos totales fue muy similar en las muestras iniciales y finales.

**Cuadro 8 .**Características del suelo dentro del invernadero antes de ser cultivado con tomate

<b>Fertilidad</b>		<b>Características químicas</b>	
N-NO <sub>3</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )	22.2	pH	8.4
P disponible (mg kg <sup>-1</sup> )	11.5	C.E. (dS/m)	3.27
K disponible (mg kg <sup>-1</sup> )	107	CO <sub>3</sub> totales (%)	11.67
Materia orgánica (%)	0.89		

C.E = Conductividad eléctrica, CO<sub>3</sub> = Carbonatos

**Cuadro 9.** Características del suelo dentro del invernadero después de ser tratado con diferentes tratamientos y cultivado con tomate.

Tratamientos	<b>Fertilidad</b>			
	N-NO <sub>3</sub> , mg kg <sup>-1</sup>	P disponible mg kg <sup>-1</sup>	K disponible mg kg <sup>-1</sup>	Materia orgánica (%)
<b>100%N</b>	24.5	16.82	117	1.03
<b>75%N+BF</b>	22.2	11.5	148	1
<b>75%N</b>	14.25	7.15	80.5	0.89
<b>50%N+BF</b>	25.9	13.9	114	1.13
<b>50%N</b>	7.4	7	121	0.91
	<b>Características químicas</b>			
	pH	C.E. (dS /m)	CO <sub>3</sub> totales (%)	
<b>100%N</b>	8.4	1.36	12.7	
<b>75%N+BF</b>	8.3	2.45	12.78	
<b>75%N</b>	8.4	1.79	12.48	
<b>50%N+BF</b>	8.4	1.31	12.26	
<b>50%N</b>	8.3	1.45	12.19	

100 %N=224-60-360 Kg ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O. 75%N y 50%N = subdosis de N. BF = Biofertilizante con *Azotobacter chroococcum*.

### VI.3 Poblaciones de microorganismos en el suelo del cultivo de tomate

En el Cuadro 10 se presentan los resultados del conteo de *Azotobacter* presentes en el suelo, antes de establecer el cultivo y al final del cultivo.

Como se puede apreciar al inicio se tenía la presencia de esta bacteria en el suelo, haciendo una comparación con el conteo final obtenido en las muestras tratadas de diferente manera se

puede observar que la población de *Azotobacter* tuvo un mayor aumento en el suelo tratado con 75%N+BF, seguida del tratamiento 100%N, mientras que las muestras de suelo tratadas con 75%N y 50%N+BF tuvieron un menor aumento y las muestras a las que se les aplicó 50%N no presentaron diferencias con el conteo inicial.

**Cuadro 10.** Población inicial de *Azotobacter* antes de establecer el cultivo de tomate y conteo final obtenido con cada uno de los tratamientos

Población inicial de <i>Azotobacter</i> 1x10 <sup>6</sup> UFC g <sup>-1</sup>	Conteo final de <i>Azotobacter</i>	
	Tratamientos	1x10 <sup>6</sup> UFC g <sup>-1</sup>
0.6	100%N	1.2
	75%N+BF	1.4
	75%N	0.8
	50%N+BF	0.8
	50%N	0.6

Unidades formadoras de colonia (UFC) tratamientos: 100 %N=224- 60- 360 Kg ha<sup>-1</sup> de N - P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - K<sub>2</sub>O. 75% N y 50%N = Subdosis de N. BF = Biofertilizante con *Azotobacter chroococcum*.

#### VI.4 Efecto de la biofertilización con *Azotobacter chroococcum*, en algunas variables fisiológicas y de crecimiento en el cultivo de pepino.

##### VI.4.1 Índice relativo de clorofila

Como se observa en el Cuadro 11, no se presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos en ninguna de las fechas muestreadas, ya que los valores fueron similares entre sí, sin embargo se puede apreciar que en el tercer muestreo (65ddt) el contenido de clorofila incremento ligeramente respecto a los primeros dos muestreos.

##### VI.4.2 Fotosíntesis

En cuanto a la fotosíntesis, también se puede observar en el Cuadro 11 que en el primer muestreo (35dds) no se encontraron diferencias estadísticas, ya que los resultados obtenidos con los diferentes tratamientos aplicados fueron muy similares, mientras que en el segundo muestreo (49dds) se presentaron diferencias estadísticas significativas (Tukey  $\leq 0.05$ ) donde los valores más altos para esta variable se obtuvieron en las plantas tratadas con 50%N+BF y 50%N, mientras que los valores más bajos se presentaron en las plantas tratadas con 75%N, respecto al tercer muestreo (65dds) tampoco se encontraron diferencias estadísticas, sin embargo en esta fecha se puede ver claramente una disminución muy marcada en la fotosíntesis respecto a los dos fechas anteriores.

**Cuadro 11.** Índice relativo de clorofila y tasa fotosintética de plantas de pepino fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con *Azotobacter chroococcum*.

Tratamiento	Clorofila (Unidades SPAD)			Fotosíntesis ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ )		
	Días después de la siembra (dds)					
	35	49	65	35	49	65
<b>100%N</b>	51.8 a	54.5 a	58.1 a	14.9 a	15.7 ab	4.9 a
<b>75%N+BF</b>	52.3 a	54.1 a	56.6 a	14.6 a	14.9 ab	4.6 a
<b>75%N</b>	54.3 a	54.3 a	60.1 a	15.1 a	13.5 b	5.3 a
<b>50%N+BF</b>	51.2 a	54.4 a	59.2 a	15.9 a	17.3 a	4.5 a
<b>50%N</b>	51.4 a	53.8 a	55.6 a	15.2 a	17.7 a	6.3 a
<b>Probabilidad</b>	0.85	0.99	0.91	0.81	0.04	0.38
<b>C.V. (%)</b>	7.21	5.77	11.68	8.46	9.60	23.51
<b>S.E.</b>	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	*	N.S.

+ = Promedios seguidos de la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey  $\leq 0.05$ ). 100 %N = 224-60-360 Kg ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O. 75%N y 50%N = subdosis de N. BF = Biofertilizante con *Azotobacter chroococcum*. dds = días después de la siembra. C.V. (%) = Coeficiente de variación. S.E. = Significancia estadística. N.S. = No significativo. \*diferencia estadística significativa (Tukey  $\leq 0.05$ ).

#### VI.4.3 Conductancia estomática

Como se muestra en el Cuadro 12 el análisis de varianza para esta variable muestra diferencias significativas (Tukey  $\leq 0.05$ ) únicamente en el primer muestreo (35dds).

Se puede observar que los valores más altos de conductancia estomática en esta fecha (35dds) se presentaron en las plantas a las que se les aplicó el tratamiento 50%N+BF, 50%N y 100%N, también se puede apreciar que en el segundo y tercer muestreo los resultados obtenidos con los diferentes tratamientos no presentaron diferencias significativas, sin embargo a los 65 dds se presenta una clara disminución de los valores de esta variable.

#### VI.4.4 Transpiración

En el Cuadro 12 tampoco se muestran diferencias estadísticas para esta variable, pero al igual que las dos variables anteriores en esta también se presentó una notable disminución de los valores en la última evaluación (65dds).

**Cuadro 12** Conductancia estomática y transpiración de plantas de tomate fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con *Azotobacter chroococcum*

Tratamiento	$G_s$ ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )			Transpiración ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )		
	Días después de la siembra (dds)					
	35	49	65	35	49	65
100%N	0.9 a	0.8 a	0.3 a	8.3 a	7.9 a	4.8 a
75%N+BF	0.8 ab	0.5 a	0.1 a	7.8 a	5.9 a	3.6 a
75%N	0.6 b	0.9 a	0.4 a	7.3 a	7.7 a	6.0 a
50%N+BF	1.0 a	0.6 a	0.2 a	8.5 a	6.7 a	4.6 a
50%N	0.9 a	0.8 a	0.5 a	8.1 a	7.7 a	6.7 a
Probabilidad	0.04	0.11	0.19	0.06	0.07	0.19
C.V. (%)	13.90	24.81	52.16	5.20	11.51	29.56
S.E.	*	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

+ = Promedios seguidos de la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey  $\leq 0.05$ ). 100 %N = 224-60-360 Kg ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O. 75%N y 50%N = subdosis de N. BF = Biofertilizante con *Azotobacter chroococcum*. GS = Conductancia estomática. dds = días después de la siembra. C.V. (%) = Coeficiente de variación. S.E. = Significancia estadística. N.S. = No significativo, \*diferencia estadística significativa (Tukey  $\leq 0.05$ ).

#### VI.4.5 Altura

En el Cuadro 13 se presentan los resultados obtenidos con los diferentes tratamientos en la altura de la planta, el ANVA no muestra diferencias estadísticas entre tratamientos para ninguna de las tres evaluaciones realizadas, sin embargo como se esperaba, a través del tiempo hubo un aumento muy marcado en la altura, ya que a los 49 dds las plantas ya habían incrementado casi al triple su altura respecto a la primer evaluación (35dds), y a los 65 dds se obtuvieron los valores más altos en esta variable.

#### VI.4.6 Área foliar

En el Cuadro 13 también se muestran los resultados del área foliar, donde se puede ver que para esta variable tampoco se encontraron diferencias significativas, ya que las plantas tratadas con los diferentes tratamientos, tuvieron un comportamiento muy similar en las tres evaluaciones realizadas según al análisis de varianza. Se puede apreciar también que a los 65 dds hubo una ligera disminución del área foliar en casi todos los tratamientos, excepto en el tratamiento 100%N.

**Cuadro 13.** Altura y área foliar de plantas de pepino fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con *Azotobacter chroococcum*.

Tratamiento	Altura (cm)			Área foliar (cm <sup>2</sup> )		
	Días después de la siembra (dds)					
	35	49	65	35	49	65
<b>100%N</b>	93.7 a	228.7 a	335.3 a	1855.7 a	5478.9 a	6458.3 a
<b>75%N+BF</b>	82.7 a	236.7 a	355.7 a	1827.0 a	5924.4 a	5472.2 a
<b>75%N</b>	72.3 a	262.0 a	391.3 a	1528.0 a	7004.7 a	6681.9 a
<b>50%N+BF</b>	98.0 a	254.3 a	358.0 a	2235.5 a	6093.5 a	5725.5 a
<b>50%N</b>	83.7 a	235.0 a	340.3 a	2120.8 a	5707.7 a	5078.1 a
<b>Probabilidad</b>	0.16	0.10	0.09	0.56	0.25	0.62
<b>C.V. (%)</b>	13.88	6.12	6.26	28.24	13.12	23.95
<b>S.E.</b>	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

+ = Promedios seguidos de la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales ( $y \leq 0.05$ ). 100 %N = 224-60-360 Kg ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O. 75%N y 50% N = subdosis de N. BF = Biofertilizante con *Azotobacter chroococcum*. dds = días después de la siembra. C.V. (%) = Coeficiente de variación. S.E. = Significancia estadística. N.S. = No significativo, \*diferencia estadística significativa (Tukey  $\leq 0.05$ ).

#### VI.4.7 Biomasa seca total

El análisis de varianza (Cuadro 14) no muestra diferencias estadísticas para esta variable en el primer muestreo (35dds), sin embargo a los 49 dds se presentaron diferencias estadísticas significativas (Tukey  $\leq 0.05$ ), donde las plantas a las que se les aplicó el tratamiento de 75%N son las que presentaron mayor biomasa seca, seguida de las plantas tratadas con 50%N+BF, mientras que con las plantas a las que se les aplicó el tratamiento 100%N se obtuvieron los valores más bajos, en la tercera evaluación (65dds) tampoco se muestran diferencias estadísticas entre tratamientos, pero en esta última evaluación fue donde se obtuvo la mayor biomasa seca, debido a que las plantas tenían una mayor altura, mayor área foliar y frutos de mayor tamaño.

**Cuadro 14.** Biomasa seca total de plantas de pepino fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con *Azotobacter chroococcum*

Tratamientos	Biomasa seca total (g)		
	Días después de la siembra (dds)		
	35	49	65
100%N	9.9 a	40.8 b	98.9 a
75%N+BF	7.3 a	46.5b	77.0 a
75%N	5.9 a	59.3 a	85.4 a
50%N+BF	8.9 a	51.4 ab	81.5 a
50%N	7.7 a	45.6 b	67.1 a
Probabilidad	0.33	0.03	0.43
C.V. (%)	29.38	12.08	23.90
S.E.	N.S.	*	N.S.

+ = Promedios seguidos de la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey  $\leq 0.05$ ). 100 % N = 224-60-360 Kg ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O. 75%N y 50%N = subdosis de N. BF = Biofertilizante con *Azotobacter chroococcum*. dds = días después de la siembra. C.V. (%) = Coeficiente de variación. S.E. = Significancia estadística. N.S. = No significativo, \* = diferencia estadística significativa (Tukey  $\leq 0.05$ ).

#### VI.4.8 Rendimiento

En el Cuadro 15 se presenta el análisis de varianza del rendimiento de pepino donde se observa que todos los tratamientos evaluados tuvieron un comportamiento similar

**Cuadro 15.** Rendimiento de plantas de pepino fertilizadas con diferentes dosis de nitrógeno inorgánico e inoculadas con *Azotobacter chroococcum*

Tratamientos	Rendimiento kg/planta
100%N	4.55 a
75%N+BF	3.69 a
75%N	5.28 a
50%N+BF	4.44 a
50%N	4.78 a
Probabilidad	0.67
C.V. (%)	28.57
S.E.	N.S.

+ = Promedios seguidos de la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey  $\leq 0.05$ ). 100 % N=224-60-360 Kg ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O. 75%N y 50%N = Subdosis de N. BF= Biofertilizante con *Azotobacter chroococcum*. C.V. (%) = Coeficiente de variación. S.E. = Significancia estadística. N.S. =No significativo.

#### VI.5 Características iniciales y finales del suelo donde se cultivó el pepino

En el Cuadro 16 y 17 se presentan los resultados de los análisis de suelo antes y después de ser cultivado con tomate.

En la fertilidad del suelo, se puede observar una ligera disminución del nitrógeno al final del cultivo en los tratamientos 75%N y 50%N, mientras que el contenido de fósforo también fue menor en los tratamientos 100%N, 75%N y 50%N y en el tratamiento 50%N+BF hubo un ligero incremento de este elemento.

**Cuadro 16.** Características del suelo dentro del invernadero antes de ser cultivado con pepino

Fertilidad		Características químicas	
N-NO <sub>3</sub> (mg kg <sup>-1</sup> )	22.2	pH	8.5
P disponible (mg kg <sup>-1</sup> )	11.5	C.E. (dS/m)	2.43
K disponible (mg kg <sup>-1</sup> )	125	CO <sub>3</sub> totales (%)	10.43
Materia orgánica (%)	0.92		

**Cuadro 17.** Características del suelo dentro del invernadero después de ser tratado con diferentes tratamientos y cultivado con pepino.

Tratamientos	Fertilidad			
	N-NO <sub>3</sub> , mg kg <sup>-1</sup>	P disponible mg kg <sup>-1</sup>	K disponible mg kg <sup>-1</sup>	Materia orgánica (%)
<b>100%N</b>	25.8	5.54	130	0.82
<b>75%N+BF</b>	22.2	11.5	111	0.86
<b>75%N</b>	18.4	9.2	113	0.86
<b>50%N+BF</b>	25.9	13.9	152	0.79
<b>50%N</b>	14.3	4.66	120	0.53
	Características químicas			
	pH	C.E. (dS/m)	CO <sub>3</sub> totales (%)	
<b>100%N</b>	8.4	2.74	10.94	
<b>75%N+BF</b>	8.4	2.28	10.57	
<b>75%N</b>	8.5	1.87	11.23	
<b>50%N+BF</b>	8.5	2.71	10.43	
<b>50%N</b>	8.4	2.58	10.94	

100%N = 224-60-360 Kg ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O. 75%N y 50%N=subdosis de N. BF = Biofertilizante con *Azotobacter chroococcum*.

El potasio también se vio disminuido en los resultados finales con los tratamientos 75%N, 75%N+BF y 50%N, mientras que en el 50%N+BF y 100%N este elemento se vio aumentado.

En cuanto al contenido de materia orgánica (M.O.), se puede observar que este suelo era pobre, ya que únicamente contenía un 0.92 %, sin embargo los resultados finales no presentan mucha diferencia respecto a los iniciales. En lo que respecta al pH y la C.E. los resultados

iniciales y finales fueron muy similares, el contenido de carbonatos totales tampoco presentó variaciones

## VI.6 Poblaciones de microorganismos en el suelo del cultivo de pepino

En el Cuadro 18 se observan los resultado del conteo de bacterias antes de establecer el cultivo de pepino y al final del cultivo, al inicio se tenía la presencia de 1.2 UFC por gramo de suelo.

**Cuadro 18.** Población inicial de *Azotobacter* antes de establecer el cultivo de pepino y conteo final obtenido con cada uno de los tratamientos

Población inicial de <i>Azotobacter</i> 1x10 <sup>6</sup> UFC g <sup>-1</sup>	Conteo final de <i>Azotobacter</i>	
	Tratamientos	1x10 <sup>6</sup> UFC g <sup>-1</sup>
1.2	100%N	0.8
	75%N+BF	1.2
	75%N	0.8
	50%N+BF	1
	50%N	2

Unidades formadoras de colonia (UFC) tratamientos: 100%N = 224-60-360 Kg ha<sup>-1</sup> de N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O. 75%N y 50%N = subdosis de N. BF = Biofertilizante con *Azotobacter chroococcum*.

Al hacer una comparación entre los dos resultados anteriores, no se encuentra mucha diferencia entre estos, sin embargo las cantidades de UFC disminuyeron ligeramente en los tratamientos 100% N, 75%N y 50%N+BF, mientras que la población en el tratamiento 75%N+BF se mantuvo igual, el suelo tratado con 50%N fue el que presentó una mayor concentración de la población.

## VII. DISCUSIÓN

### VII.1 Efecto de la biofertilización con *Azotobacter chroococcum*, en combinación con fertilizantes químicos en el crecimiento y rendimiento de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cultivados en condiciones de invernadero.

El contenido de clorofila en el cultivo de tomate no se vio afectada por la reducción de la fertilización química, ya que no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos, sin embargo no se puede atribuir algún afecto positivo de *Azotobacter* ya que los tratamientos con 75% y 50% de fertilización química con y sin inoculación de esta bacteria presentaron resultados similares.

En un cultivo de tabaco negro se reportaron resultados positivos en el contenido de clorofila mediante la aplicación de *Azotobacter*, logrando reducir hasta un 25% la fertilización química nitrogenada (León *et al.*, 2010). En dicho experimento se realizó la inoculación al momento de la siembra y antes del riego a una concentración de  $10^{13}$  UFCmL<sup>-1</sup>, teniendo las bacterias mayores posibilidades de competir y de establecerse a diferencia de este experimento donde se aplicaron las bacterias junto con el riego hasta 27 días después del trasplante a una concentración de  $10^6$  UFCmL<sup>-1</sup>.

Ramakrishnan y Selvakumar (2012) obtuvieron mayor contenido de clorofila en el cultivo de tomate con la inoculación de *Azotobacter* respecto al control sin inocular. Feizil *et al.* (2015) al aplicar *Azotobacter chroococcum* en combinación con vermicompost en un cultivo de tomate y Obando *et al.* (2013) al evaluar la aplicación de la misma bacteria en un cultivo de maíz con suelo rico en materia orgánica, también encontraron efectos positivos en el contenido de clorofila.

En este estudio la variable fotosíntesis tampoco se presentó diferencias estadísticas con ninguno de los tratamientos evaluados, sin embargo a los 61 ddt se observan valores inferiores respecto a la primera (47ddt) y tercera (82ddt) evaluación. Los resultados de esta variable pudieran no estar relacionados con el efecto de *Azotobacter*, ya que son otros los factores que influyen directamente en la fotosíntesis de la planta, dentro de los cuales los de mayor influencia son: la concentración de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>, niveles de luz (energía lumínica), agua disponible, humedad del ambiente y el contenido de clorofila (Labarthe *et al.*, 2009).

Las variaciones de la intensidad de la luz influyen directamente en el proceso fotosintético (Borda-Molina *et al.*, 2011), como lo evidencian Páez *et al.* (2000), quienes obtuvieron una mayor fotosíntesis en plantas de tomate cv. Río Grande en condiciones de luz directa respecto a las que se encontraban en sombra. Sin embargo temperaturas muy altas (45°C) provocan estrés en las plantas y como consecuencia se presenta una disminución de la fotosíntesis Camejo *et al.* (2005).

Por su parte Topcu *et al.* (2007) demostraron que la deficiencia de riego afecta este parámetro fisiológico del cultivo de tomate ocasionando una disminución en ella. Debido a lo anterior es posible que la disminución de la fotosíntesis en la segunda evaluación de este experimento pueda deberse a las condiciones climáticas al momento de la medición.

Los resultados del análisis de varianza tampoco mostraron diferencias significativas en la conductancia estomática con ninguno de los tratamientos aplicados, aunque al igual que la variable anterior, puede que ésta tampoco se vea influenciada con la aplicación de *Azotobacter*, ya que los factores que influyen directamente en la apertura o cierre de los estomas son: la luz solar (radiación) concentración de CO<sub>2</sub>, potencial hídrico, temperatura y humedad (Squeo y León, 2007). Aunque estos factores no fueron evaluados en este trabajo es importante tomarlos en cuenta al momento de realizar un experimento en campo ya que existen diversos estudios donde ha sido comprobada la influencia de las variables anteriores en la conductancia estomática en el cultivo de tomate.

Patané (2011) reportó que la deficiencia de agua provocó una disminución en la conductancia estomática en hojas de tomate, Mäquelä *et al.* (1998) reportan una disminución de éste parámetro fisiológico cuando las plantas son sometidas a estrés por sequía o salinidad. Por su parte Morales *et al.* (2006) señalan que las plantas de tomate son sensibles a altas temperaturas que provocan una disminución en la conductancia estomática, que pudiera estar ligado con una depresión en la conductividad hidráulica de las raíces y un incremento de la temperatura foliar.

En cuanto a la transpiración tampoco se obtuvieron diferencias estadísticas con ninguno de los diferentes tratamientos evaluados, sin embargo al igual que las dos variables anteriores, en ésta también se puede observar una ligera disminución de sus valores a partir de la segunda evaluación (61ddt), aunque esta variable puede no ser influenciada por *Azotobacter* ya que ésta también depende de otros factores tales como el del déficit de presión de vapor y la

conductancia estomática, a la vez la apertura y cierre de los estoma son dependiente de varios factores tales como: luz solar, concentración de CO<sub>2</sub> , viento, humedad, temperatura, estrés hídrico, etc.

La influencia de los factores antes mencionados ha sido comprobada por diferentes autores, por ejemplo: Morales *et al.* (2006) reportan que altas temperaturas (40°) en plantas de tomate, disminuyen su transpiración significativamente al igual que la conductancia estomática, por su parte Páez *et al.* (2000) al evaluar la respuesta fisiológica de plantas de tomate en condiciones de sombra y luz directa (Temperatura del aire 36.09 °C y 32.8°C foliar) reportan una mayor transpiración en las plantas que fueron expuestas a luz directa.

En cuanto a la altura de la planta, no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos en ninguno de los muestreos realizados, por lo tanto no hubo ningún efecto de *Azotobacter* en esta variable, Lozada y Rivas (2010), con la aplicación de 20% de *Azotobacter* y 50% fertilización química obtuvieron los mismos valores en altura de plantas de ají dulce respecto a la fertilización 100% química, mientras que con la aplicación de 30% y 10% de *Azotobacter* con 50% de fertilización química, la altura de las plantas fueron menores que las plantas con la fertilización química completa (100%).

Por su parte, Obando *et al.* (2013) reportan resultados similares en la altura de la planta de maíz con la aplicación de *Azotobacter chroococcum* respecto a la fertilización 100% química y combinada (100% química + *A. chroococcum*), aunque en algunas ocasiones las plantas tratadas únicamente con *Azotobacter* presentaron mayor altura respecto a sus demás tratamientos.

Reyes y Valery (2007) al evaluar el efecto de la fertilidad del suelo en la microbiota y la promoción del crecimiento de maíz, mencionan que las poblaciones microbianas disminuyeron al disminuir la calidad de las condiciones fisicoquímicas del suelo y que el porcentaje de bacterias y hongos presentan variaciones muy propias del tipo de suelo y de la especie vegetal, incluso para una misma especie las poblaciones microbianas están condicionadas por el contenido de materia orgánica y pH del suelo, lo que podría ser una causa del nulo efecto de *Azotobacter* en este experimento ya que era pobre en materia orgánica.

Escobar *et al.* (2011) reportaron un mayor porcentaje de efectividad en la altura de las plantas de tomate con cepas nativas de *Azotobacter* (ZC26, TC20, TC06, TC30) que con la fertilización química y coinciden con Armenta *et al.* (2010) al mencionar que es preferible el uso de microorganismos propios del suelo donde van a ser utilizados, que estén adaptados a las condiciones ecológicas y que puedan competir exitosamente con la biota nativa ya que algunas veces los biofertilizantes comerciales no son efectivos debido a que proceden de condiciones edafoclimáticas totalmente diferentes.

Al igual que en las variables anteriores, en el área foliar tampoco se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos en ninguna de las evaluaciones realizadas, resultados similares fueron reportados por Mahantesh *et al.* (2002) en un cultivo de chile. En otro experimento realizado por León *et al.* (2010) en un cultivo de tabaco reportaron resultados estadísticamente iguales en el área foliar al aplicar 75% de fertilización química nitrogenada más *Azotobacter* respecto a la fertilización 100% nitrogenada, por su parte Rico (2009) al evaluar el efecto de diferentes cepas de *Azotobacter* en el cultivo de papa, reportó mayor área foliar con algunas de ellas, mientras que las demás fueron estadísticamente igual al testigo.

Los resultados de la biomasa seca total tampoco presentaron diferencias significativas entre tratamientos, por lo cual no se atribuye ningún efecto por parte de *Azotobacter*, estos resultados coinciden con los reportados por Gonzáles *et al.* (2003) quienes no tuvieron ningún efecto en el porcentaje de materia seca con la aplicación de esta misma bacteria en el mismo cultivo en sistema organopónico, por su parte Hernández y Chailloux (2004) al evaluar el efecto de *Azotobacter chroococcum* en tomate en fase de semillero, encontraron efectos positivos en esta variable, coincidiendo con Mahantesh *et al.* (2002) quienes también reportan efectos positivos en la producción de materia seca en un cultivo de pimiento. En otro estudio donde se evaluó el efecto de cepas nativas de *Azotobacter* en el cultivo de pimiento en condiciones de invernadero, se reportó un incremento en el peso seco de la planta mediante la aplicación de ésta (Reyes *et al.*, 2008).

Los resultados anteriores comprueban que la capacidad de *Azotobacter* para establecerse, reproducirse y producir efectos positivos en las plantas es afectada por diversos factores tales como: las condiciones nutricionales del suelo, antagonismo (Lozada y Rivas, 2010), pH del

suelo, contenido de materia orgánica, especie vegetal (Reyes y Valery, 2007), edad del cultivo (León *et al.*, 2010) y capacidad de competir con otros microorganismos (Escobar *et al.*, 2011).

En lo que respecta al análisis foliar únicamente se encontraron diferencias estadísticas en el contenido de zinc, donde las plantas a las que se les aplicó el tratamiento 75%N+BF presentaron los valores más altos respecto a los demás tratamientos, este efecto pudo deberse a una alta concentración de zinc en el suelo que con ayuda de las bacterias pudieron haberse hecho más disponibles, ya que en este mismo tratamiento se presentó la mayor población de *Azotobacter*. Sin embargo existen otros factores que afectan la absorción de este elemento, por ejemplo; altas concentraciones de fósforo en el suelo reduce la absorción de zinc por las raíces de las plantas (Malovolta, 2006) por lo tanto, nuestros resultados también pueden deberse a este factor ya que el tratamiento 75%N+BF también fue el que presentó mayor contenido de fósforo en el suelo respecto a los demás tratamientos.

Barbazán (1998) menciona que la concentración de un nutriente en una planta puede variar ya que la diferencia entre la velocidad de crecimiento de la planta y la de absorción de estos puede producir su acumulación o dilución dentro de la planta, del mismo modo el movimiento de los nutrientes dentro y entre partes de la planta (translocación) ejerce su influencia en la concentración de nutriente que tiene un tejido en un momento dado.

El contenido de los demás nutrientes fueron estadísticamente iguales entre tratamientos. Constantino *et al.* (2008) coinciden con nuestros resultados al no encontrar ningún efecto en el contenido de nutrientes foliar al aplicar un biofertilizante sólido a base de *Azotobacter* en un cultivo de chile habanero.

Hernández y Chailloux (2004) tampoco encontraron efectos de *Azotobacter* en el contenido de fósforo y potasio foliar en tomate, mientras que el contenido de nitrógeno fue menor en las plantas a las que se les aplicó esta bacteria. Por su parte Reyes *et al.* (2008) reportan un incremento en el contenido de nitrógeno foliar con la aplicación de cepas nativas de *Azotobacter* aunque el contenido de fósforo se vio disminuido con la aplicación de ésta bacteria. Rodríguez *et al.* (2010) obtuvieron contenidos más altos de macronutrientes en el cultivo de ají con la inoculación de *Azotobacter*, sin embargo el contenido de micronutrientes se vio disminuido.

En cuanto al rendimiento del cultivo, tampoco se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos, por lo cual se confirma que no hubo ningún efecto de *Azotobacter*. En otros experimentos se ha logrado incrementar el rendimiento de tomate mediante la aplicación de *Azotobacter*, en combinación con fertilización orgánica (El-Sirafy *et al.*, 2010; Feizil *et al.*, 2015) o mediante cepas nativas de *Azotobacter*, (González *et al.*, 2003; Jara, 2015; Ramakrishnan y Selvakumar, 2012),

De igual forma Khan y Pariari (2012) y Bhattarai *et al.* (2011), reportan efectos positivos de *Azotobacter* en combinación con fertilización orgánica en el cultivo de pimiento. El efecto nulo de *Azotobacter* en este experimento podría ser debido a que no se establecieron, o al establecerse no pudieron multiplicarse y provocar efectos en el cultivo debido a la falta de materia orgánica. Es importante considerar las características bioquímicas de la cobertura del suelo y las relaciones C/N y C/P del material orgánico ya que representan una fuente de energía para las poblaciones microbianas del suelo y de la rizósfera (Reyes y Valery, 2007). El fósforo es fundamental para el intercambio de carbono, la multiplicación de las bacterias así como para el procesos de fijación de nitrógeno (Lozada y Rivas, 2010).

Según el conteo de *Azotobacter*, la labor del cultivo permitió que las poblaciones nativas de estas incrementaran cuando el N aplicado fue mayor a 50% ya que de 0.6 pasaron a 1.2 (100%N) y 0.8 (75%N) y en 50%N no presentó diferencias, en los tratamientos con aplicación adicional de *Azotobacter* como biofertilizante también aumentaron las poblaciones de 0.6 a 0.8 y de 0.6 a 1.4 en 50%N+BF y 75%N+BF, respectivamente. Estos resultados sugieren que la aplicación de N permitió el incremento de las poblaciones nativas de *Azotobacter*, sin embargo más bien pudo deberse a la aplicación de fertilizantes en general y a la presencia del cultivo, ya que como lo mencionan Lozada y Rivas (2010) la multiplicación de estas bacterias esta estrechamente relacionada con la presencia de suficientes cantidades de fósforo y potasio en el medio donde se desarrollan, Reyes y Valery (2007) en su experimento mencionan que la aplicación de fertilización química favoreció el incremento de la biomasa bacteriana debido a una mejor nutrición en el cultivo de maíz. La población bacteriana también esta influenciada por los exudados de las raíces del cultivo ya que las bacterias capaces de interactuar con las raíces de las plantas son atraídas a la rizósfera por sustancias excretadas por la raíz (León *et al.*, 2010; Camelo *et al.*, 2011).

Mientras tanto la menor población de bacterias en el suelo biofertilizado con *Azotobacter* puede deberse a que al entrar en competencia con las bacterias y otros microorganismos nativos se dificultó la proliferación de ambas provocando una menor población.

## **VII.2 Efecto de la biofertilización con *Azotobacter chroococcum*, en combinación con fertilizantes químicos en el crecimiento y rendimiento de pepino (*Cucumis sativus* L.) cultivados en condiciones de invernadero.**

En el cultivo de pepino al igual que en el de tomate no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos en cuanto al contenido de clorofila, por lo cual se puede decir que *Azotobacter* no tuvo ningún efecto en esta variable, estos resultados coinciden con los reportados por Vázquez-Santiago *et al.* (2014) quienes al evaluar la respuesta del cultivo de pepino a la fertilización biológica (constituida por esporas de *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp. y *Glomus intraradice*) y mineral en condiciones de casa sombra, no encontraron diferencias estadísticas en este parámetro.

Por su parte Galaviz (2005) al aplicar diferentes dosis de *Azotobacter chroococcum* en el cultivo de maíz y frijol en condiciones de invernadero y evaluar su efecto en el contenido de clorofila de plantas jóvenes, tampoco encontró ningún efecto de esta bacteria.

En otro estudio realizado por Abou-EL hassan *et al.* (2014) donde aplicaron diferentes dosis de composta en combinación con un consorcio de bacterias promotoras de crecimiento vegetal incluyendo *Azotobacter* en un cultivo de pepino, obtuvieron mayor contenido de clorofila con los tratamientos que contenían estas bacterias. En otros cultivos de importancia agronómica también se han encontrado efectos positivos en este parámetro, con la aplicación de *Azotobacter* en combinación con fertilización orgánica, en suelos con alto contenido de materia orgánica o con dosis más altas de esta bacteria, por ejemplo: en tomate (Feizil *et al.*, 2015), maíz (Obando *et al.*, 2013) y tabaco (León *et al.*, 2010).

En cuanto a la fotosíntesis, únicamente se encontraron diferencias estadísticas en la segunda evaluación (49dds), obteniendo los valores más altos con los tratamientos 50%N+BF y 50%N, los resultados también reflejan una disminución muy marcada de ésta a los 65 dds, estos resultados no permiten atribuir algún efecto benéfico por parte de *Azotobacter*, ya que estas diferencias pueden deberse a las condiciones climáticas al momento de realizar el muestreo, así como del estado de las plantas (Senescencia y presencia de plagas y enfermedades), sobre

todo pensando en el último muestreo, ya que se ha comprobado la influencia de diferentes niveles de luz en la fotosíntesis de plantas de tomate (Páez *et al.*, 2000; Labarthe *et al.*, 2009). Temperaturas muy altas (45°C) también afectan la fotosíntesis Camejo *et al.*, 2005; Morales *et al.*, 2006).

En la variable conductancia estomática únicamente se encontraron diferencias significativas (Tukey  $\leq 0.05$ ) en la primera fecha de evaluación (35 dds), donde los valores más altos se encontraron en las plantas a las que se les aplicó los tratamientos 50%N+BF, 100%N y 50%N, aunque en las otras evaluaciones no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos puede observarse una clara disminución de los valores a los 65 dds, lo cual coincide con la disminución de la fotosíntesis. Como ya se mencionó anteriormente estos resultados pueden estar más relacionados con las condiciones climáticas presentes al momento del muestreo, así como del estado de la planta, ya que la apertura o cierre estomático está influenciado por la luz solar (radiación) concentración de CO<sub>2</sub>, potencial hídrico, temperatura y humedad (Squeo y León, 2007). Posiblemente el daño causado por los nematodos en las raíces de las plantas disminuyó la absorción de agua provocando estrés hídrico y afectando la conductancia estomática como lo mencionan Patané (2011) y Mäquelä *et al.* (1998). Por otro lado la disminución de la conductancia estomática en la última evaluación puede deberse a una menor o mayor temperatura, ya que altas temperaturas provocan una disminución de esta variable (Morales *et al.*, 2006).

En la transpiración tampoco se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos pero, al igual que la fotosíntesis y la conductancia estomática se observa un claro descenso de los valores a los 65 dds, estos resultados muestran una relación directa entre estas variables.

La relación entre estas es explicado por Squeo y León (2007) quienes mencionan que en el intercambio de gases en los estomas se produce un compromiso entre la necesidad de capturar CO<sub>2</sub> para la fotosíntesis y evitar la pérdida excesiva de agua. Por lo tanto cuando disminuye el CO<sub>2</sub> en los espacios intercelulares los estomas se abren permitiendo la difusión de CO<sub>2</sub>, este efecto, sumado al efecto directo de la luz, permite que se realice la fotosíntesis.

Debido a lo anterior la menor transpiración en la última evaluación del cultivo también pudo estar influenciada por las condiciones climáticas al momento de la evaluación ya que las

diferencias de radiación y temperatura afectan esta variable (Yang *et al.*, 1990; Morales *et al.*, 2006).

En la variable altura al igual que la anterior, no se presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos en ninguna fecha de muestreo, estos resultados coinciden con los encontrados por Saeed *et al.* (2015) quienes no encontraron ningún efecto de *Azotobacter* en la altura de la planta del mismo cultivo. Sin embargo en otro trabajo realizado por El-Shabrawy *et al.* (2010) se reportan efectos positivos de esta bacteria, al encontrar resultados similares en la altura de la planta aplicando 50% de fertilización química más *Azotobacter* respecto a la fertilización 100% química.

Por su parte Vázquez-Santiago *et al.* (2014) también reportan efectos positivos de la biofertilización a base de *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter spp.*, *Bacillus spp.* y *Glomus intraradices* en la altura del cultivo de pepino.

También se han reportado efectos positivos en esta variable mediante la aplicación de *Azotobacter* en combinación con fertilización orgánica en tomate (El-Sirafy *et al.*, 2010), y pimiento (Bhattarai *et al.*, 2011), estos mismos efectos se han encontrado con la aplicación de cepas nativas de esta bacteria en maíz (Sánchez-Yáñez, 2014b) y tomate (Ramakrishnan y Selvacumar, 2012).

A diferencia de los experimentos antes mencionados, en este experimento no se adicionó fertilización orgánica, por lo cual podría ser uno de los motivos por los que no se encontró ningún efecto de *Azotobacter* en esta variable ya que como se mencionó anteriormente estas bacterias son dependientes del estado nutricional y de las condiciones fisicoquímicas del suelo, los cuales condicionan su establecimiento, reproducción y capacidad de promover el crecimiento vegetal.

En lo que respecta al área foliar, el análisis de varianza tampoco mostró diferencias estadísticas entre tratamientos para ninguna de las fechas de evaluación, Vázquez-Santiago *et al.* (2014) coinciden al señalar que no encontraron diferencias significativas en el área foliar mediante la aplicación de un biofertilizantes a base de *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter spp.*, *Bacillus spp.* y *Glomus intraradices* en el mismo cultivo.

En otro trabajo al evaluar la influencia de la materia orgánica y una cepa de *Azotobacter nigricans* en el cultivo de *Stevia rebaudiana* tampoco se reportaron diferencias significativas entre tratamientos en el área foliar (Borda-Molina *et al.*, 2011). Por su parte El-Shabrawy *et al.* (2010) reportan resultados positivos de *Azotobacter* en el área foliar de plantas de pepino, logrando disminuir en un 25% la fertilización química mediante la aplicación de esta bacteria.

Es importante mencionar que hubo una pequeña disminución del área foliar en el tercer muestreo respecto al segundo en casi todos los tratamientos, esto puede deberse a que a mitad del ciclo el cultivo se vio afectado por arañita roja (*Tetranychus urticae*) la cual afecta directamente este órgano de la planta y por lo tanto pudo haber influido en los resultados de esta variable ya que no todas las plantas se vieron afectadas.

En cuanto a la biomasa seca total únicamente se encontraron diferencias significativas (Tukey  $\leq 0.05$ ) a los 49 días después del trasplante (ddt), donde las plantas a las que se les aplicó el tratamiento 75%N y 50%N+BF son las que presentaron mayor biomasa seca, a los 35 y 65 ddt no se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos y de acuerdo a estos resultados no se puede atribuir efectos positivos ni negativos de *Azotobacter*.

Resultados contrarios fueron reportados por González *et al.* (2003) quienes si encontraron diferencias significativas en el porcentaje de materia seca al evaluar 4 cepas nativas de *Azotobacter* en el mismo cultivo, obteniendo los mejores resultados mediante la aplicación de esta bacteria. Abou-El.Hassan *et al.* (2014) también reportan diferencias estadísticas en el peso seco del cultivo de pepino obteniendo los valores más altos al aplicar composta y un consorcio de bacterias promotoras del crecimiento vegetal incluyendo *Azotobacter*, respecto a los tratamientos con composta sin inocular. En otro experimento realizado por El-Shabrawy *et al.* (2010) también reporta efectos positivos de esta bacteria en la biomasa seca del mismo cultivo.

Respecto al rendimiento de pepino, al igual que en el cultivo de tomate tampoco se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos, por lo cual se puede decir que *Azotobacter* no influyó positiva ni negativamente en los resultados de este experimento. Vázquez-Santiago *et al.* (2014) coinciden al indicar que no encontraron diferencias estadísticas en el rendimiento del mismo cultivo al aplicar un biofertilizante a base de *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp. y *Glomus intraradices*.

Por su parte Gonzáles *et al.* (2003) obtuvieron mayor rendimiento en el mismo cultivo mediante la inoculación de cepas nativas de *Azotobacter* respecto a las plantas no inoculadas. Saeed *et al.* (2015) también reportan resultados positivos en el rendimiento de pepino mediante la aplicación de esta bacteria. También se han reportado efectos positivos de *Azotobacter* en el rendimiento de calabacita (Refai *et al.*, 2010), pimiento (Khan y Pariari, 2012), tomate (El-Sirafy, 2010; Feizil *et al.*, 2015) y cebolla (Aycaya, 2012).

La población inicial de bacterias en el suelo donde se cultivó el pepino fue mayor al del suelo cultivado con tomate, esto puede deberse a que anteriormente fue cultivada con tomate, lo cual debido a los exudados de la raíz de la planta favoreció el incremento de la población nativa. El conteo final muestra que la fertilización con baja dosis de nitrógeno (50%N) permitió el incremento de las cepas nativas de *Azotobacter* ya que de  $1.2 \times 10^6$  pasaron a  $2 \times 10^6$  UFC  $g^{-1}$ , sin embargo en el suelo tratado con 75%N y 100%N las poblaciones disminuyeron a  $0.8 \times 10^6$  UFC  $g^{-1}$ , en el suelo tratado con 75%N+BF la población de *Azotobacter* se mantuvo mientras que en el tratado con 50%N+BF se presentó una disminución. La menor población de estas bacterias en los suelos inoculados con *Azotobacter* como biofertilizante respecto al suelo al que se le aplicó 50%N puede deberse a la competencia que se genera entre estas bacterias exógenas y los microorganismos nativos (Escobar *et al.*, 2011; Armenta *et al.*, 2010). Las diferencias poblacionales de *Azotobacter* también podrían estar influenciadas por la presencia de nematodos, ya que estos afectan específicamente la raíz de la planta lo cual pudo disminuir la cantidad de exudados de la raíz y por consecuencia afectar la población de esta bacteria. Sin embargo en otros trabajos se han reportado aumentos de la población nativa de *Azotobacter* mediante la aplicación de bajas dosis de nitrógeno (León *et al.*, 2010).

En este experimento la inoculación de las bacterias como bifertilizante se realizaron a los 27, 37 y 47 días después de trasplantado el tomate y en el pepino a los 15, 25 y 35 días después de la siembra cuando el cultivo de tomate se encontraba ya en etapa de floración y el pepino en desarrollo vegetativo (casi a floración por su rápido desarrollo), por lo que posiblemente la inoculación fue tardía, ya que en los trabajos aquí citados donde reportan efectos positivos de esta bacteria, la inoculación se realizó por imbibición de la semilla en dilución bacteriana (Aguilar y Sánchez, 1998; Rodríguez *et al.*, 2010; Obando *et al.*, 2013), inoculación del suelo al momento de la siembra (Hernández y Chailloux, 2004; León *et al.*, 2010), o al momento del

trasplante por inmersión de la raíz o inoculación directa al suelo (Rico, 2009; Lozada y Rivas, 2010; Jara, 2015; El-Sirafy *et al.*, 2010; Ramakrishnan, y Selvakumar, 2012).

En cuanto a los tratamientos con 100%N, 50% N y 75%N tampoco se encontraron diferencias en cuanto al crecimiento y rendimiento de ninguno de los cultivos, Aguilar y Sánchez, (1998) coinciden al no haber encontrado diferencias en las variables de rendimiento al aplicar fertilización química completa y media, León *et al.* (2010) tampoco encontraron diferencias estadísticas en masa fresca, masa seca y área foliar en el cultivo de tabaco al aplicar una fertilización 100% N y P respecto a 75 %N y 50% P.

En este experimento los efectos similares entre la fertilización completa y fraccionada pudieron estar influenciados por las enfermedades y plagas que se presentaron tanto en tomate (*Alternaria solani*) y pepino (*Tetranichus urticae* y Nematodos) ya que unas plantas fueron más afectadas que otras, por otra parte las características del suelo (% de materia orgánica, pH etc.) pudieron haber causado una baja eficiencia de adsorción de los fertilizantes al suelo provocando que una parte de la fertilización (100%N) se perdiera. Además se ha evidenciado que los cultivos toman menos del 50 % del nitrógeno aplicado; el restante es inmovilizado por los microorganismos del suelo en forma de nitrógeno orgánico, que se utiliza lentamente o se pierde del suelo a través de emisiones gaseosas de las formas nitrogenadas, así como por la lixiviación (Martínez-Viera *et al.*, 2010).

## VIII. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo permitieron concluir que:

- Bajo las condiciones en que se realizó este experimento no se encontraron efectos de *Azotobacter* en el crecimiento y rendimiento del cultivo de tomate y pepino.

## IX. RECOMENDACIONES

- Debido a que los porcentajes de materia orgánica presentes en los suelos donde se realizó este experimento eran muy bajos, es recomendable realizar algún tipo de enmienda para mejorar el establecimiento, proliferación y función de los microorganismos durante el ciclo del cultivo.
- Se recomienda el uso de cepas nativas de *Azotobacter*, ya que están adaptados a las condiciones ecológicas del suelo y pueden competir más exitosamente con otros microorganismos nativos.
- Es recomendable que en experimentos posteriores se realicen inoculaciones de esta bacteria ya sea en semillas antes de la siembra o en raíces antes del trasplante ya que esto favorece el establecimiento de la bacteria en la rizósfera. Además sería conveniente realizar conteos de las UFC antes durante y después del establecimiento del cultivo, para conocer la presencia de los microorganismos de interés, ya que se han reportado reducciones de las poblaciones de éstas en función del tiempo debido a una disminución de los exudados de la raíz por el envejecimiento de la planta.

## X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abou-El-Hassan S., Abdrabbo, M. A. A. and Desoky, A. H. 2014. Enhancing Organic Production of Cucumber by using Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Compost Tea under Sandy Soil Condition. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 10(2): 162-169.
- Acuña, O. 2003. El uso de biofertilizantes en la agricultura. En: Taller de abonos orgánicos. 3-4 de marzo de 2003. Costa Rica.
- Adesemoye, A. O., Torbert, H. A., y Kloepper, J. W. 2009. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial Ecology*. 58(4). 921-929.
- Aguado-Santacruz G. A. 2012. “Uso de microorganismos como biofertilizantes”. En: Introducción al uso y manejo de los biofertilizantes en la agricultura, Aguado-Santacruz G. A. (ed.). México. INIFAP/SAGARPA. pp 1-9.
- Aguado-Santacruz G. A., Rascón-Cruz Q. y Luna-Bulbarela A. 2012. “Impacto económico y ambiental del empleo de fertilizantes químicos”. En: Introducción al uso y manejo de los biofertilizantes en la agricultura, Aguado-Santacruz G. A. (ed.). México. INIFAP/SAGARPA. pp. 1-3.
- Aguilar, S. J. E., Sánchez de P. M. 1998. Efecto de una rizobacteria nitrificadora y niveles de fertilizante en el comportamiento agronómico del tomate *Lycopersicon esculentum* var. *Acta Agronómica*. 48(1): 60-70.
- Ahmad, F., Ahmad, I. y Khan M. S. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research*. 163:173-181.
- Ahmad, F., Ahmad, I. y Khan M.S. 2005. Indole Acetic Acid Production by the Indigenous Isolates of *Azotobacter* and *Fluorescent Pseudomonas* in the Presence and Absence of Tryptophan. *Turkish Journal of Biology*. 29:29-34.
- Alarcón, A. y Ferrera-Cerrato, R. 2000. Biofertilizantes: Importancia y utilización en la agricultura. *Agricultura Técnica en México*. 26 (2): 192-203.

- Almaguer, L. J. 2013. Fertilización nitrogenada, impactos sobre los rendimientos y el medio ambiente. *Revista desarrollo local sostenible*. 6(16): 2-8.
- Álvarez-Hernández, J. C., S. Venegas-Flores, C. Soto-Ayala, A. Chávez-Vargas y L. Zavala-Sánchez. 2011. Uso de fertilizantes químicos y orgánicos en cebolla (*Allium cepa* L.) en Apatzingán, Michoacán, México. *Avances de Investigación Agropecuaria*. 15 (2): 29-43.
- Arias, S. 2007. Manual de producción de pepino [en línea]. Disponible en: <http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/3574/Manual%20para%20Producci%C3%B3n%20de%20Pepino.pdf> [accesado noviembre de 2016].
- Armenta, B. A. D., García, G. C., Camacho, B. J. R., Apodaca, S. M. A., Montoya, L.G. y Nava. P.E. 2010. Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México. *Revista de Sociedad cultura y Desarrollo sustentable*. 6(1):51-56.
- Aycaya, Q. G. 2012. Influencia de la biofertilización con *Azotobacter chroococcum* en la producción y calidad de cebolla rosada (*Allium cepa* L.) en el valle de Locumba. Tesis de licenciatura. Perú. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann-Tacna.
- Barbazán, M. 1998. Análisis de plantas y síntomas visuales de deficiencia de nutrientes [en línea]. Disponible en: <http://www.fagro.edu.uy/fertilidad/publica/AnPlantas.pdf>. [accesado noviembre de 2016].
- Becking, J. H. 2006. The Family Azotobacteraceae. *Prokaryotes*. 6:759-783.
- Bhattarai, D. R., Poudyal, K.P. and Pokhrel, S. 2011. Effect of *Azotobacter* and Nitrogen Levels on Fruit Yield and Quality of Bell Pepper. *Nepal Journal of Science and Technology*. 12:29-34.
- Borda-Molina, D. Pardo-García, J. M., Montaña-Lara, J.S. y Martínez-Salgado, M. M. 2011. Influencia de la materia orgánica y *Azotobacter nigricans* en un cultivo de *Stevia rebaudiana*. *Universitas Scientiarum*. 16(3): 282-293.
- Borda-Molina, D., Pardo-García, J. M., Martínez-Salgado, M. M. y Montaña-Lara, J. S. 2009. Producción de un biofertilizante a partir de un aislamiento de *Azotobacter nigricans*

- obtenido en un cultivo de *Stevia rebaudiana* Bert. Universitas Scientiarum. 14(1): 71-78.
- Camejo, D., Rodríguez, P., Morales, M. A., Dell'Amico, J. M., Torrecillas, A. and Alarcón J. J. 2005. High temperature effects on photosynthetic activity of two tomato cultivars with different heat susceptibility. *Journal of plant physiology*.162:281-289.
- Camelo, R. M., Vera, M. S. P. y Bonilla, B. R. R. 2011. Mecanismo de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Revista Corpoica-Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 12(2):159-166.
- Cárdenas-Navarro, R., Sánchez-Yáñez, J. M., Farías-Rodríguez, R. y Peña-Cabriales, J. J. 2004. Aportes de nitrógeno en la agricultura. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 10(2): 173-178.
- Carrillo, B. K., Colmenares, A., Ramírez C. L., Moreno R. L. y Cárdenas C. D. 2015. Inoculación de Cilantro (*Coriandrum sativum* L.) con Rizobacterias en Villa del Rosario, Norte de Santander. *Revista Facultad Nacional de Agronomía–Medellín*. 68(1):.7459-747.
- Carvajal, M. J. S. y Mera, B. A. C. 2010. Fertilización biológica: Técnicas de vanguardia para el desarrollo agrícola sostenible. *Producción + Limpia*. 5(2): 77-96.
- Castilla, P. N. 2007. Invernaderos de plástico. Tecnología y Manejo. 2ª ed. Madrid. Ediciones Mundi-Prensa.
- CENTA. 2003. Cultivo del pepino. Guía técnica N°17 [En línea]. Disponible en: [www.centa.gob.sv/docs/guias/hortalizas/Guia%20Pepino%202003.pdf](http://www.centa.gob.sv/docs/guias/hortalizas/Guia%20Pepino%202003.pdf) [accesado agosto de 2016].
- Chirinos, J., Leal A. y Montilla, J. 2006. Uso de insumos biológicos como alternativa para la agricultura sostenible en la zona sur del estado Anzoátegui. *Revista Digital Ceniap*. 11: 1-7.
- Constantino, M., Gómez-Álvarez, R., Alvarez-Solis, D. J., Geissen, V., Huerta, E. and Barba, E. 2008. Effect of Inoculation with Rhizobacteria and Arbuscular Mycorrhizal Fungi

- on Growth and Yield of *Capsicum chinense* Jacquin. Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics. 109 (2)169–180.
- El-Shabrawy, R. A., Ramadan, A. Y. and El-Kady, Sh. M. 2010. Use of humic acid some biofertilizers to reduce nitrogen rates on cucumber (*Cucumis sativus* L.) in relation to vegetative growth, yield and chemical composition. Journal plant production, Mansoura, University. 1(8):1041-1051.
- El-Sirafy, M. Z., Sarhan, S.H., Abd-El Hafez, A. A. and Baddour A.G.A. 2010. Effect of the interaction between *Azotobacter* inoculation; organic and mineral fertilization on tomato; (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Journal of Soil Sciences and Agricultural Engineering. 1 (1): 93–104.
- Escobar, C., Horna, Y., Carreño, C. y Mendoza, G. 2011. Caracterización de cepas nativas de *Azotobacter* spp., y su efecto en el desarrollo de *Lycopersicon esculentum* Mill. “tomate” en Lambayeque. Scientia Agropecuaria. 2(1):39-49.
- F. D. A. 1992. Cultivo de pepino. Boletín técnico N° 15. [En línea]. Disponible en [www.cedaf.org.do/publicaciones/guias/download/pepino.pdf](http://www.cedaf.org.do/publicaciones/guias/download/pepino.pdf) [accesado agosto de 2016].
- FAO e IFA. 2002. Los fertilizantes y su uso. 4<sup>ta</sup> ed. FAO e IFA. Roma. 77p.
- FAOSTAT (2012) Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. [En línea]. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. [accesado febrero de 2016].
- Feizil, M., Sokhtekoochi, S. N. and Shahg, H. 2015. Effect of Organic Fertilizers and Growth Promoting Rhizobacteria on Growth and Yield of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Acta Biológica Indica. 4(2):213-220.
- FIRA. 2010. Oportunidades de negocio en agricultura protegida. Boletín informativo .FIRA. Número 7 [En línea]. Disponible en: [www.aarfs.com.mx/.../007\\_-\\_Oportunidades\\_de\\_Negocio\\_en\\_Agricultura\\_Protegida](http://www.aarfs.com.mx/.../007_-_Oportunidades_de_Negocio_en_Agricultura_Protegida) [accesado enero de 2016]
- Galaviz, A. M. I. 2005. Efecto de diferentes dosis de un biopreparado a base de la bacteria *Azotobacter chroococcum* en parámetros fisiológicos de planta joven de maíz (*Zea mays*) y frijol (*Phaseolus vulgaris*) bajo condiciones de invernadero. Tesis de licenciatura. Instituto Tecnológico de Sonora.

- Galloway, J. N., Leach A. M., Bleeker A. y J.W. Erisman. 2013. A chronology of human understanding of the nitrogen cycle. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*: 368(1621):1-11.
- Garza A. M. y Molina, V. M. 2008. Manual para la producción de tomate en invernadero en suelo en el estado de Nuevo León [en línea]. Disponible en: <http://www.agronuevoleon.gob.mx/oeidruss/hortalizas/manualtomateinv.pdf> [accesado noviembre 2016].
- González, P. M., Martínez, V. R., Corrales, G. I., Pérez, G. D., Gandarilla, B.J., Alonso, R. R., Curbelo, R. R. y Méndez, M.V. 2003. Efectividad de un bioestimulador en la calidad de las hortalizas como sostenibilidad de las producciones en la agricultura urbana. *Centro Agrícola*. 4:10-15
- Grageda-Cabrera, O. A., Díaz-Franco, A., Peña-Cabriales, J. J. y Vera-Núñez, J. A. 2012. Impacto de los biofertilizantes en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias agrícolas*. 3(6): 1261-1274.
- Grijalva, C. R. L., Macías, D. R. y Robles, C. F. 2008. Productividad y calidad de variedades y densidades de chile bell pepper bajo condiciones de invernadero en el Noroeste de Sonora. *BIOtecnia*. 10(3): 3-10.
- Haifa. 2014. Recomendaciones nutricionales para el tomate en campo abierto, acolchado o túnel e invernadero. [En línea]. Disponible en: [http://www.haifa-group.com/spanish/search\\_results/?searchq=TOMATE#search\\_results](http://www.haifa-group.com/spanish/search_results/?searchq=TOMATE#search_results) [accesado abril de 2015].
- Hernández, M. I. y Chailloux, M. 2004. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como alternativa a la nutrición mineral del tomate. *Cultivos tropicales*. 25 (2): 5-12.
- Higa, T. y Parr, J. F. 2013. Microorganismos benéficos y efectivos para una agricultura y medio ambiente sostenible. [En línea]. Disponible en: [fundases.com/userfiles/file/MicroorG\\_Benef\\_Efect.pdf](http://fundases.com/userfiles/file/MicroorG_Benef_Efect.pdf) [accesado Agosto de 2015].
- Holt, J. 2000. *Bergey's manual to determinative bacteriology*. 9ª ed. Baltimore, Maryland. Ed. Williams y Wilkins. USA. Pp: 77, 105, 118, 135.

- Ibiene, A. A., Agogbua, J. U., Okonko I. O. and Nwachi, G. N. 2012. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as biofertilizer. Effect on growth of *Lycopersicon esculentum*. Journal of American Science. 8(2):318-324.
- Jara, C. S. T. 2015. “Caracterización e identificación de cepas nativas del género *Azotobacter* y su efecto en co-inoculación con *Rhizobium* en tomate de mesa”. Tesis de licenciatura. Ecuador. Universidad Nacional de Loja.
- Jaramillo, N. J., Rodríguez V.P., Guzmán A. M., Zapata, C.M. y Rengifo, M.T. 2007. Buenas prácticas agrícolas (BPA) en la producción de tomate bajo condiciones protegidas. Manual técnico. Primera edición. CTP Print Ltda. Colombia. 314pp. [En línea]. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1374s/a1374s02.pdf>. [accesado agosto de 2016].
- Jensen, M. H. y Malter A. J. 1995. Protected agriculture. Vol. 23-253. World Bank Publications.
- Jiménez, A. D. J. 2007. Caracterización molecular de cepas nativas colombianas de *Azotobacter spp.* Mediante el análisis de restricción del DNA ribosomal 16s. Tesis de licenciatura. Colombia. Pontificia Universidad Javeriana.
- Juárez, L. P., Bugarín, M. R., Castro, B. R., Sánchez-Monteón, A. L., Cruz-Crespo, E., Juárez, R. C. R., Alejo, S. A., Balois, M. R. 2011. Estructuras utilizadas en la agricultura protegida. Revista Fuente Año. 3(8): 21-27.
- Kannaiyan, S. 2002. Biotechnology of Biofertilizers. Springer. India. 376 p.
- Khan, S. and Pariari, A. 2012. Effect of N- fixing biofertilizers on growth, yield and quality of chilli (*Capsicum annuum* L.). The Bioscan. 7(3):481-482.
- Kisilkaya, R. 2009. Nitrogen fixation capacity of *Azotobacter spp.* strains isolated from soils in different ecosystems and relationship between them and the microbiological properties of soils. Journal of Environmental Biology. 30(1): 73-82.
- Kizilkaya, R. 2008. Yield response and nitrogen concentrations of spring wheat (*Triticum aestivum*) inoculated with *Azotobacter chroococcum* strains. Ecological engineering. 33:150-156

- Kloepper, J. W., Lifshitz R. and Zablutowicz, R. M. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Tibtech*- February. 7:39-44.
- Kurdish, I. K., Bega, Z. T., Gordienko, A.S. and Dyrenko, D.I.2008. The effect of *Azotobacter vinelandii* on plant seed germination and adhesion of these bacteria to cucumber roots. *Applied biochemistry and microbiology*. 45(4):400-4004.
- Labarthe, A. F. S., Pelta, A. H. R., y Bordenave, I. T. E. (2009). Introducción básica a la fotosíntesis y características de especies forrajeras megatérmicas. *INTA Tornquist. EEA Bordenave*.
- Lara, M. C., Oviedo, Z. L. y Betancur, H. C. A. 2011. Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indolacético para mejorar los pastos. *Zootecnia Tropical*. 29(2): 187-194.
- Lara, M. C., Villalba, A. M., Oviedo, Z. L. E. 2007. Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos. Córdoba, Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 9(2):6-14.
- León G. Y., Martínez, V. R., Hernández, M. J. M. y Cruz, H. Y. 2010. Efecto de la aplicación de *Azotobacter Chroococcum* y *Bacillus megatherim* sobre las características morfológicas de plántulas de tabaco cultivadas en semilleros tecnificados. *Cuba tabaco*. 11(2):10-16.
- León, L. H., Rojas, L. M. 2015. Determinación del potencial promotor del crecimiento vegetal de *Azotobacter* spp., aislados de la rizósfera de malezas en cultivos de maíz (*Zea mays* L.).6(4): 247-257.
- López, M., Martínez, V. R., Brossard, F. M. Bolívar, A., Alfonso, N., Alba, A. y Pereiara, A. H. 2008. Efecto de los biofertilizantes bacterianos sobre el crecimiento de un cultivar de maíz en dos suelos contrastantes Venezolanos. *Agronomía tropical*. 58(4): 391-401.
- Lozada, V. L. del C., Rivas, V. C. Y. 2010. Evaluación del efecto de la inoculación con *Azotobacter* spp en plantas de ají dulce (*Capsicum frutescens*). Trabajo de técnico superior agrícola. Venezuela. Universidad de los Andes.

- Lugtenberg y Kamilova. (2009). Plant, Growth, Promoting Rhizobacteria. Annual Review of Microbiology. 63: 541-556.
- Mahantesh, S. K. Gowda, K. K., Kumar, S. N. and Sreeramu, B. S. 2002. Effect of bio-fertilizer on growth and yield of chilli (*Capsicum annum* L.) cv. Byadagi Dabba at different levels of nitrogen and phosphorus. Journal of Spices and Aromatic Crops. 11(1):58-61.
- Mahato, P., Banoni, A. and Chauhan, J.S.2009. Effect of *Azotobacter* and Nitrogen on Seed Germination and Early Seedling Growth in Tomato. Researcher.1 (4): 62-66.
- Maier R. J., Moshiri, F. 2000. Role of the *Azotobacter vinelandii* nitrogenase-protective shethna 238 protein in preventing oxygen-mediated cell death. J. Bacteriol. 182:3854-3857.
- Malavolta, E. (2006). Relación entre el fósforo y zinc. Informaciones Agropecuarias. N° 63, 12-13.
- Malusá E. & Vassilev N. 2014. A contribution to set a legal framework for biofertilisers. Applied Microbiology Biotechnology. 14: 6599-6607.
- Mäquelä, P., Munns, R., Comer, T. D., Condon, A. G. and Peltonen-Sainio, P. 1998. Effect of foliar applications of glycinebetaine on stomatal conductance, abscisic acid and solute concentrations in leaves of salt- or drought-stressed tomato. Australian Journal of Plant Physiology. 25:655-663.
- Martínez-Viera, R., Dibut, B. & Yoania, R. 2010. Efecto de la integración de aplicaciones agrícolas de biofertilizantes y fertilizantes minerales sobre las relaciones suelo-planta. Cultivos Tropicales. 31 (3): 00-00.
- Mays-Figueroa, J. 2004. Fijación biológica de nitrógeno. Revista UDO Agrícola. 4(1):1-20.
- Mondragón, S. L. 2005. Producción de jitomate en invernadero. 1<sup>ra</sup> ed. México.
- Morales, D., Rodríguez, D. Dell'Amico, J. A., Torrecillas, A. y Sánchez-Blanco, M de J. 2006. Efecto de altas temperaturas en algunas variables del crecimiento y el

- intercambio gaseoso en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Amalia). Cultivos tropicales. 27 (1):45-48.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). [En línea]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=352> [accesado noviembre de 2016].
- Nieto, K. F. and Frankenberger Jr. W. T. 1989. Biosynthesis of cytokinins by *Azotobacter chroococcum*. Soil Biology. Biochemistry. 21 (7): 967-972.
- Obando, C. D. M., Burgos, Z. L. B., Rivera, B. D. M., Rubiano, G. M. F., Divan, B. V. L. y Bonilla, B. R. R. 2010. Caracterización de bacterias diazotróficas asimbióticas asociadas al eucalipto (*Eucalyptus sp.*) en codazzi, cesar (Colombia). Acta biológica. Colombiana. 15(3).107-120.
- Obando, M., Rivera, D. y Bonilla, R. 2013. Respuesta fisiológica a la fertilización por *Azotobacter chroococcum* AC1 y fertilización nitrogenada de síntesis sobre el maíz (*Zea mays* L.) en invernadero. BioTecnología. 17(1):11-22.
- ODEPA. 2013. Situación del tomate para consumo fresco. [En línea]. Disponible en: [www.odepa.cl/odepaweb/publicaciones/doc/11729.pdf](http://www.odepa.cl/odepaweb/publicaciones/doc/11729.pdf) [accesado agosto de 2016].
- Páez, A., Paz, V. y López J. C. 2000. Crecimiento y respuestas fisiológicas de plantas de tomate cv. Río Grande en la época mayo-julio. Efecto del sombreado. Revista de la Facultad de Agronomía. (Luz). 17:173-184.
- Patané, C. 2011. Leaf área index, leaf transpiration and stomatal conductance as affected by soil water deficit and VPD in processing tomato in semi arid mediterranean climate. Journal of agronomy and Crop Science. 197:165-176.
- Pelletier, N., Audsley, E., Brodt, S., Garnett, T., Henriksson, P., Kendall, A., Jan, K. K., Murphy, D., Nemecek, T. and Troell, M. 2011. Energy Intensity of Agriculture and Food systems. The Annual Review of Environment and Resources. 36:223-246.
- Pichardo, B. 2006. La revolución verde en México. Agraria.4: 40-68.

- Pulido, L. E., Medina, N. y Cabrera, A. 2003. La biofertilización con rizobacterias y hongos micorrízicos arbusculares en la producción de posturas de tomate (*Lycopersicon esculentum* mill.) y cebolla (*Allium cepa* L.) y crecimiento vegetativo. Cultivos Tropicales. 24(1):15-24.
- Ramakrishnan, K. and Selvakumar, G. 2012. Effect of biofertilizers on enhancement of growth and yield on Tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.). International Journal of Research in Botany. 2(4): 20-23.
- Ramírez, G. M. y CORPOICA. 2008. Uso de microorganismos con potencial como biofertilizantes en el cultivo de mora. CORPOICA.
- Reche, M. J. 2011. Cultivo de pepino en invernadero. España. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
- Refai, E. F., Foly, H. and Dakhly, O. F. 2010. Growth and yield of zucchini type summer squash (*Cucurbita pepo* L.) fertilized by combined *azotobacter chroococum* mutants and mineral N-fertilization. Egyptian Journal of Agricultural Research. 88 (1):241-255.
- Reyes, I. 2011. La micorriza arbuscular (MA) centro de la rizosfera: comunidad microbiológica dinámica del suelo. Contactos 81: 17-23.
- Reyes, I. y 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. 19(3):117-126.
- Reyes, I., Álvarez, L., El-Ayoubil H. y Valery, A. 2008. Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimiento y maíz. Bioagro. 20(1):37-48.
- Rico, G. M. A. 2009. Capacidad promotora de crecimiento vegetal por bacterias del género *Azotobacter* y Actinomicetos aislados de cultivos de *Solanum tuberosum* Linnaeus, 1753 (Papa) cultivados en zonas altoandinas del Perú. Tesis de licenciatura. Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Robredo P., Quiroga M., Echazú R. 2000. Análisis comparativo de soluciones nutritivas en cultivos hidropónicos en invernadero. [En línea]. Disponible en:

<http://www.cricyt.edu.ar/asades/modulos/averma/trabajos/2000/2000-t002-a003.pdf>  
[accesado marzo de 2015].

- Rodríguez, A. E. A., Bolaños, B. M. M. y Menjivar-Flores, J. C. 2010. Efecto de la fertilización en la nutrición y rendimiento de ají (*Capsicum* spp.) en el Valle de Cauca Colombia. *Acta agronómica*. 59(1): 55-64.
- Rodríguez, R. R., Tabares, R. J. M. y Medina S. J. J. A. 2001. Cultivo moderno del tomate. 2ª ed. España. Ediciones Mundi-Prensa.
- Rojas-Tapias, D., Moreno-Galván, A., Pardo-Díaz, S., Obando, M., Rivera, D. y Bonilla, R. 2012. Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maíz (*Zea mays*). *Applied soil Ecology*. 61:264-272.
- Saeed, K. S., Ahmed, S. A., Hassan, I. A. and Ahmed, P. H. 2015. Effect of Bio-fertilizer and Chemical Fertilizer on Growth and Yield in Cucumber (*Cucumis sativus*) in Green House Condition. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 18 (3): 129-134.
- SAGARPA, (2012). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. [En línea]. Disponible en: <http://2006-2012.sagarpa.gob.mx/agricultura/Paginas/Agricultura-Prottegida2012.aspx>. [accesado febrero de 2016].
- SAGARPA-COFRUPO-UNAM. 2013. Los Biofertilizantes y su uso en la Agricultura. Fertilizantes químicos. Manual teórico práctico. México. Prado S.A de C.V.
- Salhia, B. M. 2010. The Effect of *Azotobacter chroococcum* as Nitrogen biofertilizer on the growth and yield of *Cucumis Sativus*. Tesis de Maestría. The islamic University-Gaza.
- Sánchez-Yáñez, J. M., Villegas, M. J. Vela-Muzquiz, G. R. y Marquez-Benavides, L. 2014a. Respuesta del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) a la inoculación con *Azotobacter vineladii* y *Burkholderia cepacia* a dosis reducida de fertilizante nitrogenado. *Scientia Agropecuaria*. 5:115 -120.
- Sánchez-Yáñez, J. M., López A. I. Y., Villegas, M. J. y Montañó A. N. M. 2014b. Respuesta del maíz (*Zea mays* L) a la inoculación con *Azotobacter* sp y *Burkholderia* sp a dosis reducida de fertilizante nitrogenado. *Scientia Agropecuaria*. 5:17-23.

- Santos, B. M., Henner, A., Obregón, O. y Salamé, D. T. P. 2010. Producción de hortalizas en ambientes protegidos: estructuras para la agricultura protegida. Departamento de Horticultural Sciences, Servicio de Extensión Cooperativa de la Florida, Instituto de Alimentos y Ciencias Agrícolas, Universidad de la Florida. EUA. 4 p.
- Sartaj, A. W., Subhash, C. and. Tahir, A. 2013. Potential Use of *Azotobacter chroococcum* in Crop Production: An Overview. *Current Agriculture Research*. 1(1): 35-38.
- Serrano, C. Z. 1996. Veinte cultivos de hortalizas en invernadero. España. Ed. Serrano Cermeño Zoilo.
- Shankar, J. 2013. Plant growth promoting rhizobacteria. Potential microbes for sustainable agriculture. *Resonance*. 275- 281.
- Squeo, F. A. and Cardemil, L. 2007. Transpiración. *Fisiología Vegetal*. 3: 67-84
- Topcu, S., Kirda, C., Dasgan, H., Cetin, M., Yazici, A. and Bacon, M. A. 2007. Yield response and N-fertilizer recovery of tomato grown under déficit irrigation. *European Journal of Agronomy*. 26:64-70.
- Vásquez-Santiago, E., Lira-Saldivar, R. H., Valdez-Aguilar, L. A., Cárdenas-Flores, A., Ibarra-Jiménez, L., González-Sandoval, D. C. 2014. Respuestas del pepino a la fertilización biológica y mineral con y sin acolchado plástico en condiciones de casa sombra. *Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica*. 2(10):1-11.
- Vélez, B. L. y Orellana, A. H. 2010. Evaluación de cepas de *Azotobacter spp.* En el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* var. Green Salad Bowl). Tumbaco Pichincha. En: XII congreso Ecuatoriano De la Ciencia del Suelo. 17-19 de noviembre de 2010. Ecuador.
- Vessey J. K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*. 255: 571–586.
- Yang, X. Short, T. H., Fox, R. D. and Bauerle, W. L. 1990. Traspitation, leaf temperatura and stomatal resistance of a greenhouse cucumber crop. *Agricultural and Forest Meteorology*. 51:197-209.
- Zamudio, G. B. y Felix, R. A. 2014. Producción de pepino bajo invernadero en valle de los altos estado de México [en línea]. Disponible en:

[http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/15/2013/anuales/anu\\_2033-25-2014-05-1.pdf](http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/15/2013/anuales/anu_2033-25-2014-05-1.pdf). [accesado agosto de 2016].

## XI. LISTA DE ABREVIATURAS Y UNIDADES

AP=Agricultura protegida

HFMA=Hongos formadores de micorrizas arbusculares

FBN = Fijación biológica de nitrógeno

PGPR = Rizobacterias promotoras del crecimiento de plantas

AIA= Ácido indolacético

ODEPA = Oficina De Estudios y Políticas Agrarias

FIRA = Fideicomisos instituidos en relación con la agricultura

CENTA = Centro nacional de tecnología agropecuaria y forestal

FDA = Fundación de desarrollo agropecuario

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación= Por sus siglas en inglés = FAO

Organización para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas División de Estadística =Por sus siglas en inglés (FAOSTAT).

CE = Conductividad eléctrica

SAGARPA = Secretaria de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación

BF = Biofertilizantes

LIDAG = Laboratorio de Investigaciones y Diagnósticos Agropecuarios,

UFC = Unidades formadoras de colonia

ANVA = Análisis de varianza

CENID-RASPA = Laboratorio Nacional de Análisis de Planta, Agua, Suelo y Medio Ambiente

ABA = Acido abscísico

Gs = Conductancia estomática

C.V = Coeficiente de variación

S.E = Significancia estadística

N.S. = No significativo

dds = Días después de la siembra

ddt = Días después del trasplante

OMS = Organización Mundial de la Salud

Mg = Miligramo

ha = Hectárea

ton = Tonelada

m = Metro

$\mu\text{g}$  = Microgramo

g = Gramo

Kcal = Kilocalorías

1 UI = 0.3  $\mu\text{g}$  retinol.

cm = Centímetro

dS = Decisiemens

Kg = kilogramo

L = Litro

h = Hora

$\mu\text{m}$  = Micrómetro

Libras de presión por pulgada cuadrada =PSI (por sus siglas en ingles).

mL = Mililitro

$\mu\text{mol}$  = Micromol

s = Segundo

mmol= Milimol