

10



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

"TOPICOS SELECTOS DE LA PRODUCCION
AGRICOLA ACTUAL. USO DE BIOFERTILIZANTES
EN MEXICO."

TRABAJO DE SEMINARIO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRICOLA
P R E S E N T A :
FLAVIANO GOMEZ HERNANDEZ

ASESOR: ING. RAUL ESPINOZA SANCHEZ



284279

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES-CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

AT'N: Q. Ma del Carmen Garcia Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 51 del Reglamento de Exámenes Profesionales de la FES-Cuautitlán, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el Trabajo de Seminario:
"Tópicos Selectos de la Producción Agrícola Actual. Uso de Biofertilizantes en México."

que presenta el pasante: Flaviano Gómez Hernández
con numero de cuenta: 7864377-8 para obtener el TITULO de:
Ingeniero Agrícola

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VISTO BUENO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Mex., a 28 de agosto de 2000

MODULO

PROFESOR

I Ing. Raúl Espinoza Sánchez

IV Biol. Elva Martinez Holquin

III Ing. Carlos Gerardo Deolarte Martinez

FIRMA

DEDICATORIA

A mis padres:

Fortino Gómez Neria y Agustina Hernández Mendoza con respeto y cariño por todo el apoyo que me han brindado siempre.

A mis hermanos:

Mauricia, Natalio, Rosa, Alejandra, Reyna y Martha por la ayuda incondicional durante mis estudios.

A mi Esposa:

Rosa Maricela con amor por el apoyo recibido para concluir este trabajo.

A mis hijos:

Ernesto Elyasaf, Enith Aline y Eber Misraim por quienes he tratado de superarme siempre

A todos mis profesores y compañeros

RECONOCIMIENTOS

Al Ing. Raúl Espinoza Sánchez por sus valiosos comentarios y sugerencias durante la realización de este trabajo.

A la Biol. Elva Martínez Holguín por la revisión y sugerencias hechas a este escrito.

Al Ing. Carlos Gerardo Deolarte Martínez por sus acertados comentarios en la revisión del mismo.

A los Profesores del Seminario por su valiosas aportaciones de sus conocimientos.

Al M. C. Edvino Josafat Vega Rojas por su incansable esfuerzo en la coordinación del Seminario.

A la UNAM y a la FES – CUAUTITLAN Por haberme albergado para recibir el conocimiento.

CONTENIDO

Índice de Cuadros, Graficas y Figuras	i
I . Introducción	1
II . Antecedentes	2
III . Objetivos	4
IV . Revisión de Literatura	5
4. 1. Tipos de Biofertilizantes	5
4. 1. 1. Características del Genero Rhizobium	5
4. 1. 1. 1. Modo de Acción de Rhizobium	7
4. 1. 1. 2. Efecto de Rhizobium en los Cultivos	11
4. 1. 1. 3. Productos Comerciales a Base de Rhizobium	14
4. 1. 2. Características del Genero Azospirillum	15
4. 1. 2. 1. Modo de Acción de Azospirillum	16
4. 1. 2. 2. Efecto de Azospirillum Sobre Cultivos	19
4. 1. 2. 3. Productos Comerciales a Base de Azospirillum	22
4. 1. 3. Características del Genero Azotobacter	25
4. 1. 3. 1. Modo de Acción de Azotobacter	26
4. 1. 3. 2. Efecto de Azotobacter Sobre Cultivos	28
4. 1. 3. 3. Productos Comerciales de Azotobacter	30
4. 1. 4. Micorizas	31
4. 1. 4. 1. Modos de Acción de Micorizas	32
4. 1. 4. 2. Efecto de Micorizas Vesiculo Arbuscular Sobre Cultivos	34
V . Análisis del Uso de Biofertilizantes	39
VI . Conclusiones.	43
VII . Recomendaciones.	44
VIII . Bibliografía.	45

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y GRAFICAS

Cuadro	Titulo	Pagina
1.	Clasificación de Rhizobium por grupos de inoculación cruzada.....	6
2.	Potencial de la simbiosis Rxhizobium / Bradyrhizobium – Leguminosa para reemplazar la fertilización química nitrogenada.	8
3.	Cepas de Rhizobium especificas de frijol con alta efectividad aisladas en diferentes regiones de México	10
4.	Efecto de la incorporación del estiércol de bovino y de la inoculación en el rendimiento de grano de maíz, frijol y haba.	14
5.	Respuesta de la papa a la aplicación de Azotobacter en condiciones de producción.....	28
6.	Nódulos formados por cepas de Rhizobium en frijol con respecto a las nativas del suelo en algunas regiones de México.....	39
Figuras		
1.	Biofertilizante específico para maíz y sorgo.	23
2.	Secuencia de la reacción de la fijación de nitrógeno.	27
3.	Representación esquemática de la distribución de la micorriza vesiculo – arbuscular en la raíz.	33
Graficas		
1.	Comparación de peso seco de bulbo de cebolla entre tratamientos inoculados y testigos.	36

1. INTRODUCCIÓN

Con el continuo aumento de la población, existe la necesidad de producir mayor cantidad de alimentos que satisfagan la demanda de la población.

Actualmente los suelos degradados en nuestro país, con problemas de salinidad son 500,000 has, sin que esta cifra considere las zonas costeras y las zonas áridas. (Ruiz, 1990). Mientras que el 60 % de la superficie del territorio nacional presenta problemas de erosión severa. (Pedrazzi, 2000).

Esta degradación es debido al uso desmedido de fertilizantes químicos, al uso inadecuado de productos agroquímicos y a la utilización de aguas que muchas veces no son aptas para riego de tierras agrícolas. Todo esto aunado al uso intensivo de los suelos destinados a la agricultura, puede derivar en una degradación tal, que las transformaciones resultarán irreversibles.

De ahí la importancia de buscar nuevas alternativas para seguir produciendo con los recursos que poseemos, procurando no alterar aun mas su equilibrio natural.

La alternativa que se propone es el uso de Biofertilizantes. Sabemos que muchos microorganismos como las bacterias, los hongos y muchos otros, forman parte de una gran variedad de organismos que llevan a cabo alteraciones y descomposiciones de compuestos orgánicos e inorgánicos bajo condiciones ambientales de todo tipo, por consiguiente todos los microorganismos mejoran indirectamente la nutrición de las plantas, al atrapar elementos nutriente en la biomasa microbiana. Algunos de estos elementos se hacen disponibles en el proceso de reciclamiento y durante el desarrollo de nuevas células, por estas razones la biomasa microbiana es vista como un componente vital de los suelos que son mas productivos y es un factor muy importante en la recuperación de los mismos.

Es vital reconocer la importancia de estos microorganismos no solo en la agricultura, sino que también en la degradación de compuestos tóxicos a sustancias menos toxicas o inofensivas para el medio ambiente.

II. ANTECEDENTES

La agricultura orgánica es un sistema de producción integral que se caracteriza por utilizar insumos naturales, maximizar el reciclaje de los nutrientes y evitar los productos derivados de la energía fósil, tales como fertilizantes y pesticidas químicos.

La producción orgánica en México inició su brillante desenvolvimiento en la década de los años ochenta y se ha incrementado en los últimos años. Actualmente se dedican mas de 23,000 has. a la producción de cultivos orgánicos, esta superficie se encuentra distribuida en 76 zonas diferentes que generan mas de 30 productos diferentes como son: café, hortalizas (tomate, chile, calabaza, ajo, chicharo, pepino, berenjena, lechuga, melón); hierbas olorosas y medicinales (cardomo, gobernadora, damiana, yame, tomillo, mejorana, menta); ajonjolí, manzana, plátano, vainilla, caña de azúcar, aguacate, piña, cacahuate, papaya, cacao, y cultivos básicos, principalmente maíz frijol y algunos cereales. (Gómez, 1997).

La agricultura orgánica implica la necesidad de intensificar los esfuerzos dirigidos a optimizar el uso y el manejo de los recursos naturales renovables del agroecosistema. Un elemento de gran importancia es el suelo, el cual por su función crítica en el abastecimiento nutrimental de las plantas debe ser protegido y enriquecido para asegurar la productividad y estabilidad a largo plazo. (Alvarez y Ferrera- Cerrato, 1994).

El uso de Biofertilizantes en la agricultura se origina como una alternativa para favorecer la nutrición de las plantas por medios biológicos y tiene como finalidad intensificar el uso de los recursos microbiológicos del suelo para incrementar la productividad de los cultivos, reducir y eficientar la fertilización química y además reducir los costos de producción y la contaminación de los suelos. (Aguirre, 2000).

Con el propósito de prescindir de los agroquímicos que generan efectos nocivos en el suelo y el medio ambiente, la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SAGAR) a través del Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) desarrolla un proyecto para la producción masiva de Biofertilizante, utilizando bacterias y hongos que viven en el suelo. Los Biofertilizantes ponen al alcance de los agricultores productos con alta efectividad, con los que se constituye hasta un 50 % del fertilizante nitrogenado industrial, en el caso de los fijadores asociativos hasta 80% en los simbióticos, mientras que los microorganismos solubilizadores de fósforo sustituyen 70 % del fertilizante fosfórico. En materia de productividad los rendimientos se

incrementan hasta 30 % gracias al efecto de las sustancias activas sintetizadas por bacterias fijadoras asociativas y solubilizadoras de fósforo.

Dentro del Programa de Difusión Tecnológica de la Biofertilización, en 1999 se destino un monto de 14 millones 474 mil pesos. Se entregaron 730 mil 622 dosis de Biofertilizantes para una superficie de 540 mil 536 hectáreas de las cuales 245 mil 744 son de la zona centro, 282 mil 797 de la zona sur y 11 mil 995 de la zona norte. Entre los principales cultivos que se atendieron se encuentra maíz y sorgo, con una superficie de 459 mil 927 hectáreas. Se entregaron 530 mil 392 dosis de Biofertilizantes, con un monto de diez millones 607 mil 840 pesos, trigo y cebada con 63 mil 92 hectáreas y 163 mil 632 dosis y 3 millones 272 mil 640 pesos, y frijol con 13 mil 440 hectáreas, , 27 mil 688 dosis entregadas y 415 mil 320 pesos. Otros cultivos en su conjunto suman 4 mil 77 hectáreas con 8 mil 910 dosis. (Gaceta del desarrollo rural, 1999).

III. OBJETIVOS

- 1.- Conocer como actúan los diferentes Biofertilizantes en cultivos agrícolas.

- 2.- Analizar la problemática del uso de Biofertilizantes en nuestro país.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Tipos de Biofertilizantes.

Se le llama Biofertilizante a un producto a base de microorganismos que al adherirse a las semillas pueda establecer una simbiosis con las plantas superiores y es capaz de favorecer su desarrollo e incrementar su rendimiento. Son microorganismos que fijan el nitrógeno atmosférico, transportan fósforo, otros nutrientes y agua al sistema radical de los cultivos e inducen un mayor crecimiento de las raíces. (Aguirre, 2000).

La micro-flora constituida por las bacterias, los actinomicetos, los hongos y las algas representan el grupo dominante en la mayoría de los suelos, la actividad saprofítica de este grupo de microorganismos (con excepción de las algas) tiene gran importancia en el ciclo de los nutrientes, debido a que durante la transformación de las moléculas orgánicas complejas se liberan nutrientes que son disponibles para las plantas, así como para otros microorganismos y la fauna del suelo, por su parte las algas contribuyen a elevar el nivel de la materia orgánica en los suelos a través de la fijación de CO₂. (Alvarez y Ferrera-Cerrato, 1994).

Dentro de los microorganismos que se usan como Biofertilizantes, se encuentran las bacterias de los géneros: *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, hongos que forman micizas y algas.

4.1.1. Características del Género *Rhizobium*.

Son bacilos de 0.5 a 0.9 por 1.2 a 3 Mm, comúnmente pleomórficos bajo condiciones adversas de crecimiento, móviles mediante dos a seis flagelos peritricos o un flagelo polar o subpolar, no producen esporas, son Gram negativos, se desarrollan en medio con carbohidratos generalmente acompañados por copiosa producción de limo polisacárido extra celular, son aerobios, pero pueden desarrollarse con tensiones bajas de oxígeno. Capaces de invadir de forma característica los vellos de las raíces de plantas leguminosas e iniciar la producción de nódulos. Las bacterias son pleomórficas (bacteroides). Los nódulos bacteroides están característicamente involucrados en la fijación de nitrógeno molecular. Ronald, (1990)

Según la clasificación en el manual de determinación bacteriológica basada en el agrupamiento por inoculación cruzada, donde se obtuvieron resultados que ayudaron a la clasificación de este género (Subba Rao, 1992). También menciona que el agrupamiento por inoculación cruzada esta hecha en base a la habilidad de aislar el *Rhizobium* y a la capacidad de formar nódulos en raíces de una limitada especie de leguminosa. (Cuadro 1)

Cuadro 1. Clasificación de *Rhizobium* por grupos de inoculación cruzada.

<i>Rhizobium spp</i>	Agrupación por inoculación Cruzada	Tipo de leguminosa.
<i>R. leguminosarum</i>	Grupo chicharos	<i>Pisum, Vicia, Lens</i>
<i>R. phaseoli</i>	Grupo frijoles	<i>Phaseolus</i>
<i>R. trifolii</i>	Grupo tréboles	<i>Trifolium</i>
<i>R. meliloti</i>	Grupo alfalfas	<i>Melilotus, Medicago,</i>
		<i>Trigonella</i>
<i>R. lupini</i>	Grupo lupini,altramuz	<i>Lupinus Oninthopus</i>
<i>R. japonicum</i>	Grupo soya	<i>Glicine</i>
<i>R. sp</i>	Grupo cowpea	<i>Vigna , Arachis</i>

Fuente: Subba Rao, (1992).

La familia *Rhizobiaceae* esta formada por cuatro géneros: *Agrobacterium, Phylobacterium, Rhizobacterium, Rhizobium* y *Bradyrhizobium*. (Cruz, 1993).

Una nueva clasificación propuesta por Elcan, describe dos géneros: (Subba Rao, 1992)

Género *Rhizobium*.

El género *Rhizobium* incluye cuatro especies: *Rhizobium leguminosarum* que a la vez esta compuesta por tres bio-variedades *phaseoli, trifoli* y *viceae*; *Rhizobium loti, Rhizobium lupini* y *Rhizobium meliloti*. Son de rápido crecimiento con flagelo sub-polar.

Género *Bradyrhizobium*.

Este género tiene especies de lento crecimiento, con flagelo polar y sub-polar, incluye las especies *Bradyrhizobium japonicum*, con habilidad para nodular en soya; *Bradyrhizobium spp.* Con afinidad para nodular en *cicer* y *vignia*.

4. 1. 1. 1. Modo de Acción de Rhizobium

Las especies del genero *Rhizobium* son capaces de invadir las raíces de las plantas huésped disponibles, esto permite la formación de nódulos en donde las bacterias pueden fijar el nitrógeno del aire. El mecanismo de simbiosis entre las bacterias y las plantas, involucra la atracción de las bacterias a las raíces de las plantas por los aminoácidos que secreta la planta; la unión de la bacteria a receptores (lectinas) en las raíces de las plantas; la oxidación de la sustancia de crecimiento de las plantas (ácido indolacético AA) por las plantas, permitiendo el ensortijamiento y ramificación de las raicillas; penetración de las bacterias en la raíz; desarrollo de un hilo de infección; transformación de las células de la planta para formar un crecimiento tumoral; transformación del *Rhizobium* en formas bacteroides (pleomorficas); multiplicación del *Rhizobium* dentro del nódulo (Ronald, 1990).

El *Rhizobium* entra a las leguminosas a través de las raíces adventicias, especializadas en absorción. La pared de esta célula se invagina para formar una especie de tubo infectado que tiene células de *Rhizobium*. Aunque muchas de estas infecciones fallan, otras entran a las células corticales de la raíz donde las bacterias se desarrollan formando un nódulo. El nódulo consiste en células alargadas, la mayoría repletas de bacterias. El amoniaco que producen las bacterias se combina con los compuestos de carbono que forma la planta por fotosíntesis, dando como resultado aminoácidos que se incorporan a las proteínas vegetales (Ondarza, 1996).

El nódulo es el sitio en donde el bacteroide, forma diferenciada de los *Rhizobios*, lleva a cabo la reducción del nitrógeno molecular hasta amonio a través del complejo enzimático denominado nitrogenasa . La formación de los nódulos constituye un proceso coordinado de diferenciación de la planta y de la bacteria, el cual es a su vez influenciado por las condiciones del medio ambiente. Existen factores inherentes a la bacteria como (infectividad, efectividad, competencia e intercambio genético), a la planta (susceptibilidad a la infección, eficiencia fotosintética, competencia con otras plantas) y a las condiciones del medio (características físicas

y químicas del suelo, humedad, temperatura) que afectan la simbiosis. (Alvarez-Solís y Ferrera - Cerrato, 1994)

Beñinger, señaló el potencial que la simbiosis *Rhizobium* / *Bradyrhizobium-leguminosa* tiene para reemplazar la fertilización química nitrogenada en la mayoría de las leguminosas cultivadas. Algunos de los Rhizobios en asociación con su macro simbiote son capaces de fijar 100 Kg de N ha⁻¹ año⁻¹ o mas cuando las condiciones son propicias para que se establezca una simbiosis efectiva. (Cuadro 2). (Alvarez - Solís y Ferrera - Cerrato, 1994).

Cuadro 2. Potencial de la simbiosis *Rhizobium* / *Bradyrhizobium*-Leguminosas para reemplazar la fertilización química nitrogenada.

Microsimbiote	Macrosimbiote	Fijación de N ₂ (Kg. De N Ha ⁻¹)
<i>Rhizobium leguminosarum</i>		
<i>bv. phaseoli</i>	<i>Phaseolus</i>	40 - 200
<i>bv trifoli</i>	<i>Trifolium</i>	40 - 700
<i>bv viceae</i>	<i>Pisum</i>	50 - 80
	<i>Lathirus</i>	100
	<i>Lens</i>	100
	<i>Vicia</i>	40 - 600
<i>Rhizobium loti</i>	<i>Lotus</i>	20 - 100
<i>Rhizobium lupini</i>	<i>Lupinus</i>	20 - 200
<i>Rhizobium meliloti</i>	<i>Medicago</i>	100 - 500
	<i>Melilotus</i>	50 - 200
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	<i>Glicine</i>	50 - 100
	<i>Arachis</i>	50 - 120
<i>Bradyrhizobium spp.</i>	<i>Cicer</i>	50 - 100
	<i>Vigna</i>	50 - 200

Fuente: Alvarez - Solís y Ferrera - Cerrato, (1994).

La bioquímica de la fijación es bastante similar en todos los organismos. El sistema enzimático implicado requiere molibdeno y magnesio, y cobalto en los nódulos de las raíces. El primer producto detectable es el amoníaco. (Campbell 1987).

Este mismo autor menciona que la enzima fijadora de nitrógeno tiene dos componentes principales: proteína nitrogenasa que contiene molibdeno y hierro; y una proteína mas pequeña nitrogenasa reductasa que contiene únicamente hierro. Estas dos proteínas deben actuar en conjunto para que haya fijación de nitrógeno. El requerimiento de energía para la reacción es alto, 10 a 20 moléculas de ATP para cada molécula de nitrógeno fijado (esto equivale aproximadamente a 2.6 gramos de carbón por gramo de nitrógeno fijado). Los valores obtenidos para las asociaciones simbióticas varían de 0.3 a 20 g de carbón por g de nitrógeno siendo el normal de 4 a 10.

Mientras tanto Ondarza, (1996) menciona que la molécula clave en la fijación de nitrógeno es la nitrogenasa. Todos los organismos que fijan nitrógeno contienen esta enzima que parece no variar su estructura, de una especie a otra, en forma significativa. La enzima consiste en dos proteínas llamadas dinitrogenasa (componente I) y reductasa (componente II). La dinitrogenasa esta formada por cuatro subunidades que son simples cadenas de aminoácidos, además contiene 32 átomos de hierro, 2 átomos de molibdeno y 30 de azufre por tetrámero. La reductasa consiste en dos subunidades proteicas que incluye 4 átomos de hierro y 4 átomos de azufre.

La fijación de nitrógeno por las leguminosas depende de varios factores relacionados con la bacteria y la planta.

Ferrera - Cerrato y Almaraz - Suárez, (1996) mencionan que aun se desconoce el tipo de interacciones que se da entre poblaciones, es probable que tales relaciones tengan un efecto sobre el establecimiento de la simbiosis. Mencionan también que en los suelos de México, buen numero de *Rhizobios* que nodulan frijol pero muchos de ellos son inefectivos y que apenas un 10 al 28 % de los aislamientos efectuados en diferentes regiones agrícolas de México presentan alta capacidad para fijar nitrógeno. Ver (Cuadro 3)

Cuadro 3. Cepas de *Rhizobium* específicas de frijol con alta efectividad aisladas en diferentes regiones de México.

Región	% de Cepas con alta Efectividad	Estimado apartir de datos de
Centro de México	28	Rodríguez (1983)
Norte-Centro de México	10 - 16	Almaraz (1988)
Noreste de México	8	Rodríguez (datos no publicados).

Fuente: (Ferrera - Cerrato y Almaraz - Suárez, 1996)

Aun cuando han encontrado grandes cantidades de rizobios (1000 – 8000 rizobios por g de suelo) que nodulan frijol al iniciar la estación de crecimiento, no todas son capaces de establecer una simbiosis con la planta. (Ferrera –Cerrato y Almaraz - Suárez, 1996).

La falta de efectividad del nódulo se manifiesta normalmente por la carencia de leghemoglobina que hace que, al corte los nódulos no tengan la pigmentación roja o rosada (Orive y Temprano 1983).

Entre los factores ambientales que afectan la fijación de nitrógeno esta la temperatura, la humedad, la sequía y la aireación del suelo, contenido de nitrógeno inorgánico en el suelo. Orive y Temprano, (1983); Cruz, (1993).

Cruz, (1993) menciona que, para que la fijación de N se exprese favorablemente es necesario mantener una humedad constante y adecuada.

La temperatura optima para la fijación de nitrógeno oscila entre 12 y 32 °C (Orive y Temprano, 1983).

Otro de los factores del ambiente que limitan la simbiosis es la falta de humedad. Las regiones secas contienen poblaciones de *Rhizobios* en el suelo más bajas que las regiones húmedas, ya que las sepas de *Rhizobium* son muy sensibles a los cambios de humedad en el suelo. Condiciones de sequía simuladas en laboratorio llegan a reducir hasta 90% las poblaciones de Rizobios; solo un número reducido de cepas pueden soportar estrés severo (Ferrera - Cerrato y Almaraz - Suárez, 1996). Estos mismos autores mencionan que cuando las plantas de frijol se

someten a condiciones severas de sequía en invernadero, la ondulación se reduce hasta en más de 40% en floración.

El componente del sistema simbiótico más afectado por la sequía es la enzima nitrogenasa; algunos experimentos han demostrado que la actividad de la nitrogenasa, se reduce en más de un 80 % en condiciones de agobio hídrico. En la etapa de floración es difícil que el sistema simbiótico se recupere después de una sequía severa, ya que la nodulación no se incrementa significativamente (Ferrera – Cerrato y Almaraz - Suárez, 1996).

La presencia de nitrógeno mineral en el suelo afecta normalmente a la fijación, en parte por causar una rápida senescencia en el nódulo (Orive y Temprano, 1983). Aunque Beltrán, (1991) menciona que con bajas dosis de nitrógeno en etapas iniciales producen efectos estimuladores en el cultivo de leguminosas y que a dosis altas de nitrógeno se inhibió el proceso de fijación simbiótica.

Ferrera - Cerrato y Almaraz - Suárez, (1996) mencionan que el fósforo es un elemento necesario para una mejor expresión del sistema simbiótico; en Chapingo, México han encontrado que aplicaciones de P_2O_5 ha^{-1} incrementan la nodulación de 40 a 120% dependiendo de la cepa y el nivel de nitrógeno aplicado.

Estos mismos autores mencionan que para que los rizobios prosperen satisfactoriamente, el PH del suelo debe estar cercano a la neutralidad, ya que en suelos ácidos, la nodulación y la actividad nitrogenasa son bajas.

4. 1. 1. 2. Efecto de *Rhizobium* en los Cultivos.

Cruz, (1993) en un estudio para determinar el efecto de la inoculación con *Rhizobium leguminosarum* con las cepas cp – 107 y cp –108 más la adición de fósforo, sobre el cultivo de haba (*Vicia faba* L) y compararlos con los efectos producidos por los tratamientos fertilizados con nitrógeno y fósforo únicamente. Encontró que para peso seco de la parte aérea no se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos, aunque los tratamientos fertilizados con nitrógeno y fósforo presentaron los valores más altos. También cuantificó el número de nódulos en el que obtuvo valores más altos (206 nódulos por maceta) para los tratamientos inoculados con cp – 107 + cp – 108 y adición de 40 ppm de P_2O_5 / maceta. En por ciento de nitrógeno en la parte

aérea no encontró diferencias significativas sin embargo los valores más altos los obtuvo con los tratamientos fertilizados con nitrógeno y fósforo únicamente. Para porcentaje de fósforo en la parte aérea, encontró diferencias significativas entre tratamientos, los valores más altos los obtuvo con la cepa cp-108 al adicionarle 20 ppm/ maceta de P_2O_5 con 0.41% de fósforo y con 40 ppm / maceta de P_2O_5 obtuvo 0.43 % de fósforo. Para número de vainas encontró los valores más altos para la combinación cp – 107 + cp – 108 sin adición de fósforo, al igual que la combinación de 40 ppm de nitrógeno más 40 ppm de P_2O_5 / maceta con 41 y 40 vainas por maceta para peso seco de semillas por maceta, los valores más altos los obtuvo con la combinación de la cepa cp –108 más adición de 20 ppm de P_2O_5 / maceta (72.46 g / maceta) y con la combinación de cp – 107 + cp – 108 sin adición de fósforo (70.70 g / maceta).

López, (1982) en un estudio sobre evaluación de cepas de *Rhizobium phaseoli* y *Rhizobium japonicum* por su efecto en la producción de grano y economía de nitrógeno en los cultivos de frijol y soya. Encontró que el rendimiento de grano más alto fue logrado con el tratamiento inoculado con la cepa cp – 30 más 60 kg de P_2O_5 / ha (473.25 kg/ ha de grano) superando al tratamiento fertilizado sin inocular, fertilizado con 60 kg de N / ha más 30 kg P_2O_5 / ha (443 Kg. de grano / ha) en 6.3 % y el rendimiento de grano logrado por el tratamiento testigo (378.97 kg / ha de grano) en 25.3 %. Puntualiza que según el análisis económico, el tratamiento que reporta las mayores utilidades con la mínima inversión es utilizando la cepa *Rhizobium phaseoli* cp 30 sin fertilización, en suelos profundos. En lo que se refiere a soya para los parámetros determinados a la cosecha (rendimiento de grano y % de proteína en grano). Encontró que los más altos rendimientos de grano fueron obtenidos con el tratamiento inoculado con la cepa cp – 36 + 30 kg de P_2O_5 / ha (1067. 6 kg / ha de grano) y con el tratamiento sin inocular fertilizado con 60 kg de N / ha +30 kg P_2O_5 / ha (1047.73 kg / ha) superando al rendimiento de grano logrado por el testigo (442.9 kg / ha) en 141 y 136.5 % respectivamente. El análisis económico determino que el tratamiento que representa las máximas utilidades con la mínima inversión es el tratamiento inoculado con la cepa cp 36 de *Rhizobium japonicum* sin fertilizar. Concluye que en la mixteca poblana es factible producir frijol substituyendo el fertilizante químico nitrogenado por el efecto benéfico de las cepas de *Rhizobium phaseoli*; concluye también que es posible producir soya en condiciones de temporal inoculando con la cepa cp 36 de *Rhizobium japonicum*.

Moya, (1987) en un estudio sobre la evaluación de 4 cepas de *Rhizobium phaseoli*, en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en pruebas cruzadas. Encontró que en base a los análisis estadísticos realizados para cada una de las variables en estudio (peso de planta, número de granos por vaina, altura de planta, número de vainas por planta, peso de granos por planta y % de N en la parte aérea), No hubo diferencia estadísticamente significativa, lo atribuye a la viabilidad de la bacteria, a la susceptibilidad de la bacteria bajo estudio a cepas nativas. Así como a las condiciones climáticas que prevalecieron durante el periodo de cultivo .

Leyva (1990) encontró que al inocular tres variedades de frijol Michoacán 12 A 3 (tipo II) y S - 33 (tipo III), los primeros nódulos aparecieron después de 6 días de haberse inoculado las plantas, mientras que en el frijol cacahuete 72 los nódulos aparecieron a los 7 días, encontrándose que la mayor cantidad de nódulos se produjeron en el rango de 8 a 20 días.

Tafoya, (1990) en un estudio sobre métodos de labranza y control de malezas en relación a *Rhizobium leguminosarum* biovar phaseoli. Encontró que con labranza mínima se puede producir frijol sin afectar su rendimiento, ni su relación con *Rhizobium* y los hongos micómicos VA. Observó que utilizando el Fomesafen (0.375 kg / ha) logró un mejor control de malezas y no ocasionó depresión en el número de nódulos, peso de nódulos, reducción de acetileno, número de esporas, colonización total de MVA ; número de vainas con grano y rendimiento de grano.

Beltrán, (1991) en un estudio sobre rendimiento de grano del cultivo de garbanzo mediante fertilización NPK e inoculación con *Rhizobium spp.* Encontró que los mejores rendimientos se obtuvieron con los tratamientos fertilizado más inoculación (inoculado + 40 - 60 - 20 e inoculado + 00 - 40 - 10). Lo que establece que las dosis bajas de nitrógeno estimula el cultivo de las leguminosas en etapas de desarrollo inicial, mientras que a dosis altas de nitrógeno inhibió el proceso de fijación de nitrógeno. Concluye que los mejores rendimientos se obtuvieron mediante la combinación de fertilizante químico más la inoculación de la semilla.

Alvarez et al, (1996) en un estudio sobre establecimiento y actividad de *Rhizobium* y *Azospirillum* introducidos en tepetate durante el primer año de rotación. Utilizando un policultivo maíz, frijol y haba con y sin inoculación y la veza inoculada como cultivo para rotación. Encontró que las poblaciones de *Rhizobium leguminosarum* bv phaseoli y *Azospirillum* en las rizosferas de frijol y maíz, respectivamente, presentaron en promedio 5.3×10^7 y 2.01×10^7 unidades formadoras de colonias g^{-1} de tepetate a los 50 días después de la siembra, posteriormente disminuyeron. El *Rhizobium leguminosarum* bv phaseoli ocupó 9 y 7 de los nódulos de frijol y el *Azospirillum* introducido infectó 7 y 20 de las raíces del maíz, en el tepetate con y sin aplicación de estiércol. La inoculación con *Rhizobium spp* y *Azospirillum* no tuvo efecto significativo en la producción de materia seca y rendimiento de grano del policultivo. Aunque la aplicación de estiércol afectó favorablemente el rendimiento de grano del policultivo y la producción de materia seca de la veza inoculada. Ver (cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto de la incorporación del estiércol de bovino y de la inoculación en el rendimiento de grano del maíz frijol y haba (kg ha⁻¹).

Especie	Estiércol		Inoculación		Fertilizado
	Sin	Con	Sin	Con	Con N
Maíz	110 b *	403 a	242 a	271 a	86
Frijol	42 b	109 a	86 a	64 a	136
Haba	687 b	1277 a	973 a	992 a	847
Total	839 b	1789*	1301 a	127 a	1069

* Los valores unidos por la misma letra para cada factor y especie, no difieren significativamente entre sí, de acuerdo con la DSH DE Tukey (p = 0.05)

Fuente: (Alvarez et al, 1996).

A manera de referencia, en Cuba, Leal, (1991) menciona que se planteo la aplicación de *Rhizobium* de forma obligatoria en todos los cultivos de leguminosas, beneficiando 2013 has, con la aplicación de 1400 Kg. de *Rhizobium* con una dosis de 0.70 Kg. de *Rhizobium* /ha en los cultivos de frijol, cacahuate y ejote.

4. 1. 1. 3. Productos Comerciales a Base de *Rhizobium*.

Actualmente, en México existen varias empresas que producen Biofertilizantes o inoculantes para leguminosas, tales como: La empresa Insecticidas del Pacifico (INDIAPAC) ubicada en Cd, Obregón Sonora, que produce el inoculante comercial llamado "Dianitro – Fix Lac ", que contiene 300 millones de bacterias *Rhizobium* específicas / ml. Esta misma empresa produce otro inoculante llamado " Nitragin Lac ", es un producto en forma líquida que contiene 300 millones de bacterias *Rhizobium* / ml, viene en bolsas de 375 ml.

Leyva, (1990) menciona que la empresa Química Lucava, ubicada en Cuautitlan, Edo, de México, fabrica un producto llamado Lucanit. También menciona que otra empresa llamada Hiramex S, A. Ubicada en Durango, Dgo. Produce un inoculante llamado Rhizobiol.

Existen en el mercado otros productos a base de bacterias benéficas tales como: el "Microsoil", Producido por la empresa Agrícola Genética S. A. De C. V. La empresa industrias Gusta - F SOM, fabrica un producto llamado " Biologic "

4. 1. 2. Características del Género *Azospirillum*.

En 1925 Beijerinck describe por primera vez una bacteria fijadora de nitrógeno llamándola *Spirillum lipoferum*. Posteriormente es estudiada por Dobereiner et al en 1976 y es reclasificada en base a su capacidad para fijar nitrógeno (Subba Rao 1992).

Se han estudiado asociaciones con *Azospirillum* alrededor de las raíces de las plantas especialmente en gramíneas tropicales como el pasto (*Digitaria decumbens*) y el maíz (*Zea mayz*). Campbell, (1987).

Terrand en 1978 reclasifica a *Spirillum lipoferum* en base a estudios bioquímicos y homología DNA resultando un nuevo género llamado *Azospirillum* con dos especies *Azospirillum brasilense* y *Azospirillum lipoferum*.(Subba Rao, 1992). La *Azospirillum brasilense* considera dos grupos: nir+ (hábil para desnitrificar) y nir- (sin habilidad para desnitrificar). Actualmente se han incorporado *Azospirillum amazonenses* y *Azospirillum alopferans* (Yolimea, 1989).

Posteriormente se realiza la descripción de la bacteria *Azospirillum* cuyo significado Etimológico es:

Fr. n	azote	=	nitrógeno
Gr. n	spira	=	espiral
M. L. dim.	neutr spinillum	=	pequeña esperiral
	<i>Azospirillum</i>	=	una pequeña espiral de nitrógeno

Indican que mide 1.0 Mm de diámetro y de 2.1 a 3.8 Mm de longitud, son Gram- negativas, en forma de " coma " S " o helicoidal. Móviles en un medio líquido por un flagelo polar simple, responsable del nado. En medios sólidos a 30°C presentan numerosos flagelos laterales de longitud corta, responsables del agrupamiento; en medio semisólido sin nitrógeno, las células presentan gránulos prominentes de polihidroxi-butirato (PHB). Su respiración metabólica a base

de O_2 o NO_3 como aceptor de electrón terminal, pero de habilidad fermentativa débil. Los NO_3 son convertidos a NO_2 , N_2O y N_2 bajo severas limitaciones de O_2 . se desarrollan óptimamente de 35 a 37 °C. Se le encuentra libre en el suelo o asociada con raíces de plantas. Quimioorganotroficas. Algunas cepas son autótrofas facultativas en hidrógeno. Dependiente del N_2 bajo condiciones microaerobias. (Rangel, 1989).

Otro autor describe al género *Azospirillum* como bacilos curvos. Gram- negativos. Móviles con flagelo polar único cuando se desarrollan en medios líquidos. En medios sólidos producen flagelos laterales. Son quimioorganotrofos: principalmente respiratorios, pero algunas especies son ligeramente fermentativas. Aerobios microaerofílicos. Oxidasa positivos; catalasa generalmente positiva. Capaces de fijar nitrógeno atmosférico bajo condiciones microaerofílicas. Acumulan poli-B-hidroxibutirato. G + C 69 – 71 mol % (Ronal, 1990).

Las colonias en agar de papa o camote son típicamente claras o rosa oscuro, frecuentemente rugosas, crece bien en ácidos orgánicos como el málico, succínico, láctico, piruvico y galáctico. La fructuosa y ciertas cañas de azúcar son empleadas como fuente de carbón. (Rangel, 1989).

Las colonias en agar nutritivo y medio de papa, presentan un aspecto traslucido, duras, redondas e irregulares, desarrollan un pigmento rosado después de una semana a 30 °C . (Yolimea, 1989).

4. 1. 2. 1. **Modo de Acción de *Azospirillum*.**

Los exudados de las raíces muestran efectos específicos en el número y especies de microorganismos que predominan en el suelo. (Valtierra, 1992). También Campbell, (1987) menciona que en la rizosfera, los exudados de la raíz pueden suministrar suficiente carbono para hacer posible la fijación de nitrógeno, en especial con las altas tasas fotosintéticas que existen en los trópicos con las plantas C^4 .

La presencia de aminoácidos y moléculas orgánicas derivadas de excreciones radicales de gramíneas y que más tarde recibió el nombre de quimiotaxia; estos inducen a la bacteria a emigrar y recorrer distancias variables para alcanzar semillas y raíces de plantas. (Valtierra, 1992).

Se ha encontrado que, aunque la mayoría de la población de *Azospirillum* se localizaba en la zona de elongación y pelos radicales, la raíz Tipo era colonizada. (Valtierra, 1992).

Fernández, (1995) detectó que las bacterias en las raíces de la caña de azúcar estaban ubicadas al centro del tejido radical, mientras que en el maíz las encontró en todo el tejido.

Se ha demostrado que la emigración de *Azospirillum brasilense* cd hacia el trigo abarco una distancia de aproximadamente 8 cm. (Valtierra, 1992).

La bacteria *Azospirillum* se desarrolla bien en sustratos: málico, succinato, lactato y pirúvato; moderadamente sobre galactosa y acetato; pero mal sobre glucosa y citrato. (Subba Rao, 1992). La correlación entre los ácidos orgánicos, como los mejores sustratos para el crecimiento de la bacteria y la producción de dichos ácidos por las gramíneas quizás explique en parte la simbiosis de *Azospirillum* con estas plantas (Yolimea, 1989).

Alvarez et al, (1996) reporta que la sobrevivencia de *Azospirillum* en la rizosfera de maíz fue ligeramente más alta en tepetate con estiércol hasta 100 días después de la siembra y, posteriormente en tepetate sin estiércol. Encontró también que *Azospirillum* tiende a un establecimiento temprano 50 días después de la siembra con 2.01×10 unidades formadoras de colonias g^{-1} de tepetate, en las rizosferas de su macrosimbionte, sin embargo su población decreció posteriormente.

Jaskowska – H, (1997) en un estudio sobre la ocurrencia de *Azospirillum spp* en la rizosfera de trigo, cebada y maíz fertilizado con nitrógeno mineral y fertilizante orgánico (lechada de estiércol) y fertilizante mezclado. Se utilizó nitrógeno mineral en proporciones de 80, 120 y 160 kg / ha. Observó como resultado la eliminación de *Azospirillum* de la rizosfera de cebada y trigo. El mismo efecto sobre la bacteria lo observó en la rizosfera de cebada y maíz causada por la aplicación de estiércol en proporción de 170 y 340 kg de N / ha. Una aplicación de fertilizante mineral combinada con estiércol reduce el efecto negativo de concentraciones altas de nitrógeno mineral sobre *Azospirillum*.

Dependiendo de la concentración de oxígeno, de la fuente de nitrógeno y la disponibilidad de fuentes de carbono, el género *Azospirillum* puede estar involucrado en los siguientes procesos:

- 1) fijación de nitrógeno en raíces y suelos, con fuente de carbono proporcionada por la fotosíntesis

de la planta huésped o materia orgánica en descomposición; 2) reducción desamitoria de nitratos a nitritos, óxidos de nitrógeno y desnitrificación con pérdida de nitrógeno gaseoso; 3) asimilación de amonio, nitratos o nitritos y 4) síntesis de material orgánico. Todos estos procesos pueden ocurrir simultáneamente o consecutivamente. (Yolimea, 1989).

La bacteria no forma estructuras especializadas como los nódulos, sino que crece simplemente sobre la superficie de las raíces (Ondarza, 1996). Este mismo autor menciona que para que se lleve a cabo la fijación de nitrógeno debe estar presente una enzima llamada nitrogenasa.

La capacidad de *Azospirillum* para reducir N_2 se debe a la existencia de esta enzima. El estudio de esta enzima se inicio en 1960; cuándo por primera vez se pudo aislar a partir de *Clostridium pasteurianum* sin embargo, es hasta 1964 cuándo investigaciones más detalladas demostraron que el Ditionito de Sodio ($NA_2S_2O_2$), compuesto capas de ser reducido por la enzima y que por lo mismo puede sustituir a los sustratos en la célula. La nitrogenasa además de reducir N_2 puede hacer lo mismo con el acetileno, cianuro, monóxido de carbono, oxido nitroso y otros compuestos que en su estructura tengan triples enlaces. (Yolimea, 1989).

La capacidad de *Azospirillum* para fijar nitrógeno se confirma por reducción de acetileno por la enzima nitrogenasa. *Azospirillum* puede fijar nitrógeno en condiciones microaerobias, en presencia de amonio se comporta como aeróbico. En condiciones anaeróbicas no hace fijación de nitrógeno. Además la presencia de agar en el medio semisólido influye en el crecimiento y actividad del organismo; la sensibilidad de la bacteria a la concentración de agar demuestra sus características bajo condiciones óptimas de suministro de oxígeno. (Subba Rao, 1992).

Alvarez et al, (1996) en un estudio comparativo entre *Rhizobium* y *Azospirillum* en tepetate recién roturado, encontró que la actividad nitrogenasa en maíz es de 0.279 M moles a los 50 días después de la siembra y 1.808 M moles a los 100 días. No tuvo efecto significativo de la incorporación de estiércol (57.86 M moles sin estiércol y 57.72 M moles con estiércol) promedio de los muestreos, pero si en relación con la inoculación (43.92 M moles sin inoculación y 71.66 M moles con inoculación. Menciona también que la baja actividad de la nitrogenasa pudo ser debida al bajo porcentaje de infección por *Azospirillum*.

Azospirillum se desarrolla óptimamente a una temperatura de 30 a 40 °C siendo la máxima actividad de la enzima entre 33 y 34 °C y la mínima actividad por debajo de 18 °C y arriba de 45 °C que es cuando se inhibe la nitrogenasa. (Yolimea, 1989)

En base a algunos estudios han encontrado que *Azospirillum* se desarrolla bien en PH entre 6.8 y 7.8. (Subba Rao, 1992).

Yolimea, (1989) reporta que la población microbiana de *Azospirillum* decrece al incrementarse el PH y la conductividad eléctrica de la solución del suelo (PH de 10, C.E. de 27.56 ds m⁻¹).

4. 1. 2. 2. Efecto de *Azospirillum* Sobre Cultivos

La mejora en el crecimiento de los cereales por la inoculación por *Azospirillum* es debida a una estimulación en el desarrollo de las raíces por la producción de auxinas, más que por la fijación biológica de nitrógeno y que en muchos casos no excede de 1 Kg. N ha⁻¹ por ciclo de cultivo. (Alvarez et al, 1996)

Rangel, (1989) menciona que al probar 4 cepas de *Azospirillum* spp inoculadas a semillas de maíz, encontró que las cuatro cepas probadas son infectivas, aunque la inoculación con *Azospirillum* no muestran aumentos evidentes estadísticamente en el rendimiento de grano y materia seca, comparados con la aplicación de nitrógeno. Aunque encontró que algunas cepas de *Azospirillum* como la Mt + 0 kg N y la cepa Vs 7 y Sp 7 con 40 kg de N / ha pueden ser una alternativa para bajar costos en la producción de maíz.

Alvarez et al, (1996) en su trabajo sobre el establecimiento y actividad de *Rhizobium* y de *Azospirillum* introducidos en el primer año de roturación de tepetate, utilizando un policultivo maíz , frijol, haba con y sin inoculación y la veza inoculada como cultivo de rotación, ambos con o sin incorporación de estiércol de bovino. Determinó que la inoculación con *Rhizobium* spp y *Azospirillum* no tuvo efecto significativo en la producción de materia seca y rendimiento de grano del policultivo.

Fernández, (1992) en un estudio sobre la capacidad fijadora de dos cepas de *Azospirillum* en plantas de caña de azúcar (*Sacharum officinarum* L) y la inoculación de plantas de maíz in vivo. Encontró que la inoculación in vitro de plantas de caña de azúcar provoco un aumento en su crecimiento en altura, peso fresco y seco del tallo, peso fresco y seco de raíz y volumen radical, con respecto al control no inoculado, siendo mayor en la cepa Sp - 8 que el de la cepa

Azospirillum brasilense Sp – 245. menciona que la actividad nitrogenasa no se asocia a tales respuestas, sugiriendo que el efecto positivo de estas cepas no se debió totalmente a la fijación biológica del nitrógeno. La adición de 84.7 ppm de nitrógeno al medio de cultivo pudo haber favorecido la respuesta mencionada. Observó también que la inoculación de las plantas de caña de azúcar enraizadas in vitro, como de las plantas de maíz germinadas en suelo estimulo el crecimiento de ambas plantas en comparación con las no inoculadas, principalmente con la cepa *Azospirillum brasilense* Sp – 245. Esta cepa mostró un mayor efecto cuando se adicione nitrógeno al suelo, mientras que en la cepa Sp – 8 la mejor respuesta fue cuando se aplico 150 ppm de nitrógeno. En ambas cepas, encontró que la actividad nitrogenasa disminuye conforme se aumenta la concentración de nitrógeno en el suelo.

Yolimea, (1989) en un estudio sobre *Azospirillum*, determinación, cuantificación y efecto como inoculante en pasto salado (*Distichlis spicata* L Grene) en suelos del ex lago de Texcoco encontró que: la bacteria *Azospirillum* sp puede desarrollarse en suelos con alto contenido de sales. Así mismo reporta que la inoculación de *D. Spicata* con la cepa *Azospirillum* nativa incrementa el contenido de nitrógeno en el follaje, pero no el rendimiento del material vegetal de manera significativa.

Valtierra, (1992) al evaluar la respuesta de los componentes del rendimiento del sorgo a la inoculación de varias cepas de *Azospirillum*, aisladas de maíz y de sorgo, comparadas con la cepa de *Azospirillum brasilense* sp – 7 y un testigo fertilizado (120 –100 –00). La inoculación se complementó con 100 kg de P_2O_5 / ha. En este trabajo encontró que la cepa de referencia influyo sobre el peso fresco de la planta en antesis y sobre el pesos seco del tallo en grano lechoso; la cepa Vs – 7 de *Azospirillum basiliense* presentó la mejor respuesta en las variables peso seco total de la planta en antesis y grano lechoso, peso seco de las plantas en antesis y grano lechoso, peso seco de la panoja y de tallo en antesis y sobre el rendimiento de grano. La cepa Vs – 9 influyo significativamente en el diámetro de la panoja.

Villarreal et al, (1990) en un estudio de aislamiento y evaluación de *Azospirillum* sp. Por afinidad con trigo, obtuvieron 97 aislamientos del microorganismo procedentes de raíces de trigo, a los que les practicaron su actividad nitrogenasa in vitro, encontrando 16 cepas sobresalientes con valores de 13 a 84 moles de C_2H_4 / 24 h. También realizaron una selección por afinidad con el genotipo de trigo mercurio de las que encontraron 5 cepas sobresalientes en producción de materia seca y actividad nitrogenasa. Así mismo estudiaron en invernadero 40 genotipos de trigo mismos que se inocularon con una de las 5 cepas sobresalientes de *Azospirillum* sp (Sp – 636), en los cuales no detectaron efecto estadísticamente significativo de la inoculación sobre la producción de paja ni de grano. Sin embargo algunos genotipos mostraron respuesta positiva a la inoculación respecto al peso seco de la raíz (24 genotipos), 18 genotipos en peso seco de la parte

aérea y 7 genotipos en rendimiento de grano. La variedad comondu F 81 destaco en su respuesta a la inoculación en producción de materia seca en la parte aérea y en la raíz, así como su rendimiento en grano .

Jiménez, (1986) en un estudio sobre el efecto de la inoculación de *Azospirillum* en dos variedades de trigo en el que utilizo cuatro cepas Sp – 7 (de colección) la C4, POX y 5 SC, utilizando las variedades de trigo México 82 y Zacatecas VT 74. Encontró que la cepa con mayor capacidad para fijar nitrógeno in vitro fue la POX con 1855.26 microgramos por 50 ml de cultivo, después las cepas Sp – 7 de colección y la C4 ambas con 750 microgramos por 50 ml del cultivo, la de menor capacidad fue la cepa 5 SC con 530 microgramos. Observo que la cepas probadas infectaron satisfactoriamente a las dos variedades de trigo, aumentando su infección a través del desarrollo. En el trabajo de campo encontró que no hubo diferencia significativa en cuanto peso seco de la parte aérea de la variedad México 82 lo mismo para la variedad VT 74 aunque los valores más altos fueron para los tratamientos inoculados.

En cuanto a contenido de nitrógeno en la variedad de trigo México 82 encontró que el tratamiento con la cepa 5 SC tuvo diferencia significativa con respecto a los demás tratamientos, lo cual no coincide con las pruebas de laboratorio ya que fue la cepa que fijo menos nitrógeno atmosférico. Concluye que los resultados obtenidos de la fijación de nitrógeno in vitro no se relaciona con el comportamiento de las cepas en presencia del hospedero. Menciona que la inoculación favorece la infección por *Azospirillum*.

Sánchez, (1995) en un estudio sobre inoculación de trigo (*Triticum aestivum* L) tolerante a sequía con *Azospirillum*. Para lo cual utilizo 45 genotipos de trigo tolerantes a sequía. No aplicando ningún tipo de agroquímico, en este trabajo determino que la inoculación del trigo con *Azospirillum spp* no incrementa significativamente el rendimiento de grano. Sin embargo el tratamiento con inoculante fue superior al no inoculado en 9 de las trece variables cuantificadas por planta (peso fresco y seco, longitud de raíz, diámetro y número de tallos, número y altura de espigas, peso de espiga y peso de granos por espiga), lo cual representa una perspectiva prometedora del uso de la bacteria como Biofertilizante en zonas de temporal.

Rasco et al, (1992) evaluó la respuesta a la inoculación de *Azospirillum* + Micoriza en cuatro variedades de papa dulce. Observo efectos favorables de los Biofertilizantes en el crecimiento vegetativo de dos de las variedades estudiadas (7 dds), encontró también que a los 55 días después de la plantación, las cuatro variedades obtuvieron un peso mas alto de los brotes. La combinación de *Azospirillum* + micorizas influyo positivamente en el peso seco de raíz para 2 de las variedades. Concluye que ninguno de los tratamientos de Biofertilizante excedió a la fertilización con 30 – 30 – 30 kg / ha.

4. 1. 2. 3. Productos Comerciales a Base de *Azospirillum*.

Actualmente el INIFAP en coordinación con la Fundación Mexicana para la Investigación Agropecuaria y Forestal están produciendo un Biofertilizante específico para maíz y sorgo; para trigo y cebada. Cuyas características son las siguientes: (Figura 1)

Composición: 500 millones de bacterias del genero *Azospirillum sp* por gramo de Biofertilizante para maíz o sorgo

Contiene 33% de turba (peso seco)

38 % de carbonato de calcio

Contenido neto: 380 g

Incluye una bolsita de adherente.

El Biofertilizante para trigo y cebada, su composición es la siguiente:

Composición: un millón de bacterias del género *Azospirillum*

Contiene: 13 % de turba.

25 % de carbonato de calcio

Peso neto 380 g

A continuación se enlistan las instrucciones de uso de uso

- 1) . Se disuelve el adherente en unos 100 ml de agua
- 2) Incorporar el adherente disuelto sobre la semilla para sembrar una hectárea (maíz y sorgo)
Para cebada y trigo se utilizan 2 a 3 bolsas por hectárea de Biofertilizante.
- 3) Se le agrega a la semilla humedecida el Biofertilizante y se mezcla hasta quedar bien adherido .
- 4) El recubrimiento de la semilla debe realizarse a la sombra y la siembra debe efectuarse inmediatamente.
- 5) La dosis para maíz y sorgo es de una bolsita de 380 g por la cantidad de semilla para sembrar una hectárea, para trigo y cebada se requieren de 2 a 3 bolsitas de Biofertilizante.



Figura 1. Biofertilizante específico para maíz y sorgo. Distribuido por el INIFAP.

Otra empresa que está produciendo un Biofertilizante es la Agricultural Supply de México. Cuyo producto es " Terra Viva ", que lo está promoviendo mediante los programas agrícolas ECO Soil Systems, Inc (ESSI), que consiste en la combinación de equipos patentados para la fermentación y la fertilización de microorganismos benéficos para mejorar la salud y fertilidad del suelo.

Los programas ESSI utilizan diferentes tipos de bacterias que se pueden fermentar en el Bioject. Los tres tipos de bacterias principales que se pueden utilizar son los siguientes: *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Azospirillum*.

Estos tres tipos de bacterias mejoran la salud y la productividad del suelo y de las plantas de las siguientes maneras:

- 1 Mejorando la absorción de los nutrientes por las plantas. Estos microorganismos se pueden considerar como procesadores naturales asimilando nutrientes no asimilables directamente por las plantas, transformando su composición química y entregándoselos a las raíces.
- 2 Mejorando las características físicas del suelo. Los microorganismos juegan un papel integral en este proceso, varios tipos de bacterias del suelo evacuan Polysaccharides (una cadena de moléculas de azúcar) como un producto secundario de su proceso metabólico. Estos actúan como cementante para formar agregados.
- 3 Protegiendo las raíces de las plantas. Protegen a las raíces de las plantas de elementos tóxicos como el sodio y el cloruro. Mediante la apertura de poros en el suelo y la creación de zonas de protección alrededor de las raíces, las bacterias se convierten en filtros biológicos que permiten que los elementos tóxicos sean eliminados de la rizosfera por el flujo de agua. Intervienen también en neutralizar el PH del suelo, de esta manera las bacterias pueden impedir que los micronutrientes Essen presentes a niveles tóxicos.
- 4 Control biológico de ciertos fitopatógenos, como *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium* y *Phytophthora* lo que ocurre es una competencia entre microbios benéficos y fitopatógenos para sobrevivir. A través de ciertos fenómenos ecológicos, como la antibiosis y la competencia por alimento y espacio para vivir, la bacteria benéfica puede disminuir las poblaciones de fitopatógenos simplemente por las grandes cantidades en que se aplica. Esto a la vez puede disminuir el uso de cantidades considerables de fungicida.

La aplicación de " Terra Viva " se realiza mediante el " Bioject " que es un bioreactor de campo utilizado para la aplicación de microorganismos benéficos en sistemas de fertirrigación. El sistema combina una selección de microorganismos con su fuente de alimentación (médium) y 100 litros de agua esterilizada en una cámara de fermentación de acero inoxidable. El sistema incluye: una área de refrigeración, bombas para la introducción de microbios (inoculum) y de su fuente de alimentación, calefacción y refrigeración para la incubación a temperatura controlada, sistema de desinfección y sistema de lavado, dispositivo para la inyección al sistema de irrigación y un controlador computarizado. (Información obtenida de la Empresa Agrícola Supply de México Ubicada en Guadalajara, Jal.)

4. 1. 3. Características del Género *Azotobacter*.

Dentro de las especies de bacterias aeróbicas que tienen la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico aunque en menor proporción se encuentran las bacterias de vida libre del género *Azotobacter*, *Azomonas*, *Beijerinckia*, *Derxia*, *Micobacterium* y *Azospirillum*. Muchas de estas bacterias son heterótrofas y dependen sobre todo de la energía derivada de la degradación de plantas, dentro de estas esta *Azotobacter*. (Subba Rao, 1992).

Se describe el género *Azotobacter* como células ovoides voluminosas de 2 Mm o más de diámetro, con longitud variable, hasta morfología cocoide, se presentan solas, en pares o conglomerados irregulares y rara vez formando cadenas de más de 4 células. Pleomorfismo marcado. No producen endosporas pero forman quistes de pared gruesa. Pueden producir grandes cantidades de limo capsular. Móviles con flagelos peritricos o inmóviles. Gramnegativas, con marcada variabilidad. Algunas cepas elaboran pigmento fluorescente soluble en agua que aparece verde bajo la luz ultra violeta. Fijan el nitrógeno atmosférico, generalmente fijan por lo menos 10 mg de nitrógeno atmosférico en forma no simbiótica /g de carbohidratos consumidos. Los medios en donde se desarrollan contienen carbohidratos (por lo general glucosa), alcoholes o ácidos orgánicos. el molibdeno necesario para la fijación de nitrógeno puede ser sustituido por vanadio. No son proteolíticas, pero pueden utilizar nitratos, amonio y aminoácidos como fuente de nitrógeno. Catalasa positivas. Se desarrollan bien aeróbicamente pero también lo hacen bajo tensiones reducidas de oxígeno. Crecimiento óptimo entre 20 y 30 °C. G + C. 63 – 66 mol %. (Ronald, 1990).

El género *Azotobacter* lo agrupan dentro de la familia Azotobacteraceae e incluye otros dos géneros: *Beijerinckia* y *Derxia*.

En un análisis de DNA y una prueba de hibridación de DNA de diferentes especies de *Azotobacter*, *Beijerinckia* y *Derxia*. Basado en la diferencia en % (G + C) de su composición de estas especies, se determina que el género *Beijerinckia* y *Derxia* son genéticamente distintos del género *Azotobacter*. Además, dentro de *Azotobacter* se reconsideran tres grupos: 1) *A chroococcum*, *A . beijerinckii* y *A . vinelandii*. Grupo 2) *A . insignis* y *A . macrocrogenes* y grupo 3) *A agilis*. Por consiguiente, el grupo 1) son conservados como género *Azotobacter*, el grupo 2) son nombrados *Azomonas* y el grupo 3) como *Azotococcus* Prefieren conservar el nombre del género *Azotobacter* hasta que el comité Internacional sobre clasificación Bacteriológica acepte los

nuevos nombres de *Azotomonas* y *Azotococcus*. Se reconsideran las siguientes especies de *Azotobacter*. *A. chroococcum* (habita en el suelo, forma quiste y moderada producción de limo con coloración negro – marrón); *A. vinelandii* (habita en el suelo y agua, forma quiste y moderada producción de limo con pigmentación verde – fluorescente); *A. veigeninckii* (habita en el suelo forma quiste y moderada producción de limo y con pigmentación amarillo – marrón ligero); *A. paspali* (su habitad es en el suelo forma quiste y moderada producción de limo con pigmentación verde – fluorescente); *A. macrocytogenes* (habita en el suelo forma menos quistes, produce abundante limo con pigmentación rosa); *A. insignis* (su habitad es en el agua, forma menos quistes, goma, con menos pigmentación azul – grisáceo), y *A. agilis* (forma menos quistes, con pequeña producción de goma y con pigmentación verde – fluorescente).

En la clasificación de *Azotobacter* el principal criteno usado es la flagelación, pigmentación y la formación de quistes. También se toma en consideración el análisis de DNA. (Subba Rao, 1992)

4. 1. 3. 1. **Modo de Acción de *Azotobacter*.**

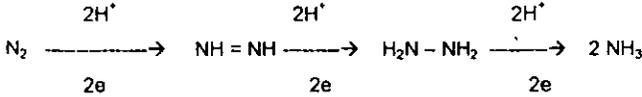
La habilidad de fijar nitrógeno elemental es una característica fisiológica de *Azotobacter spp.* Se conocen diferentes tendencias a variación de *A. chroococcum*. El rango de fijación de 2 – 15 mg de N / g como fuente de carbono utilizado, aunque más altas evaluaciones han sido reportadas frecuentemente. *Azotobacter* viene utilizando una variable fuente de carbón (mono, di y ciertos polisacáridos), ácidos orgánicos de el adiposo (graso) y series aromáticas, alcohol etílico, glicerol, manitol, vapores de acetona y otros ácidos orgánicos volátiles.

La capacidad de *Azotobacter chroococcum* a sintetizar y secretar tiamina, riboflavina, piridocina, cianocobalamina, nicotina y ácido pantotenico, ácido indolacetico y giberelinas o substancias parecidas a giberelinas. También producen anti – hongos, antibióticos; que inhiben una variedad de hongos del suelo. De hecho estos atributos de *Azotobacter*, vienen a explicar los efectos benéficos de la bacteria sobre la germinación de las semillas. (Subba Rao, 1992).

La primera función de *Azotobacter* es fijar nitrógeno molecular, pero como se menciona anteriormente, la capacidad de *A. chroococcum* de sintetizar auxinas, vitaminas, substancias de crecimiento, anti-hongos y antibióticos. Se considera que estas son ventajas adicionales, pero

estos atributos fisiológicos están medidos in vitro y no en estimaciones cuantitativas de la producción del metabolismo de *Azotobacter* en vivo en suelo disponible.

La reacción enzimática de reducción de nitrógeno atmosférico a amonio, esta indicada como sigue:



Seis electrones son necesarios para reducir N_2 a NH_3 . se tiene calculado que 12 moléculas de ATP (adenosin trifosfato) se necesitan para reducir una molécula de N_2 a 2 moléculas de amonio NH_3 . los electrones se derivan de varios compuestos que contienen carbono.

El compuesto pirúvato provee electrones para ATP. Este flujo de electrones están ocurriendo naturalmente a ferredoxina hierro – azufre; capaz de transportar electrones y disminuir la reacción oxido reducción. Recientemente el hierro contenido en flavodoxinas se tiene a mostrar como transporte de electrones en algunas bacterias fijadoras de nitrógeno. Subsecuentemente los electrones pasan directo a la nitrogenasa y reduce el N_2 a NH_3 . la secuencia se resume como sigue: (Figura 2)

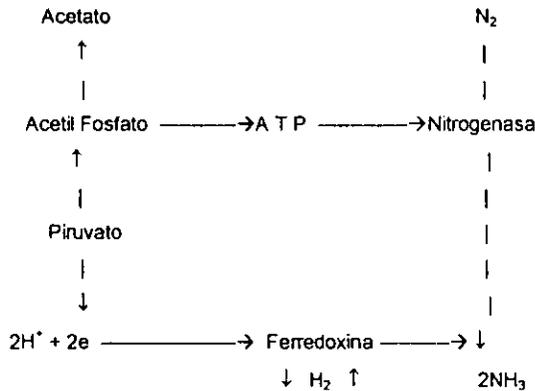


Figura 2. Secuencia de la reacción de la fijación de nitrógeno. Fuente: (Subba Rao, 1992).

Azotobacter es un organismo aeróbico y requiere oxígeno para formación de ATP; pero la fijación de nitrógeno es un proceso anaerobio. Obviamente, el oxígeno tiene que ser excluido del sitio de fijación de nitrógeno. Hasta la fecha ha habido varias propuestas para explicar el mecanismo de protección del oxígeno. La presencia de membranas alrededor de nitrogenasa

previene la demasiada oxigenación; con formación de la protección de nitrogenasa por reagrupamiento de la estructura física de la nitrogenasa. Así permite una moderada resistencia a oxígeno y la presencia de abundante producción de limo alrededor de las células bacteriales que minimizan la entrada de oxígeno. (Subba Rao, 1992).

4. 1. 3. 2. Efecto de *Azotobacter* Sobre Cultivos.

Leal, (1993) en trabajos realizados en Cuba sobre aplicaciones de *Azotobacter* en cultivos de hortalizas, papa, camote, vitro plantas de plátano, piña y camote. Obteniendo una respuesta favorable de los cultivos en su rendimiento. Desarrollaron dos experimentos en el cultivo de papa donde valoraron la posibilidad de aplicar el *Azotobacter* como sustituto total de la fertilización nitrogenada. Los experimentos los llevaron a cabo en una área de 108 has. Y cuyos resultados finales implicarían un ahorro entre 240 a 300 ton de fertilizantes nitrogenados. La aplicación de *Azotobacter* como sustituto total de aplicaciones de nitrógeno inorgánico resultó efectiva puesto que no se afectó el desarrollo del sistema foliar, hubo una mejor duración y manifestación del ciclo de vida, encontraron diferencia significativa en relación a la aplicación de fertilizante mineral. (cuadro 5)

Cuadro 5. Respuesta de la papa a la aplicación de *Azotobacter* en condiciones de producción.

Condiciones de aplicación	Campo A Aplicación a los 20 días	Campo B Aplicación a los 20 días
Dosis de Nitrógeno Aplicada	187 kg N / ha	1.5 L / ha de <i>Azotobacter</i>
Cobertura Foliar (60 días)	95 %	100% (N. S.)
GDD Acumulado en el Ciclo	138.5	150.55
Rendimiento (T / ha)	18.30	22.27

Fuente: (Leal, 1993).

En Cuba se han realizado varios trabajos. En la Estación Nacional de frutales, (1995) se efectuaron investigaciones con el propósito de evaluar el efecto de la inoculación con *Azotobacter* sobre algunos frutales.

En papaya, evaluaron la influencia sobre el desarrollo de plántulas establecidas en suelo ferralítico rojo inoculadas con 12 cepas diferentes de *Azotobacter*. Determinaron 4 cepas sobresalientes, las cuales lograron una efectividad entre el 46 y 77 % en comparación con el testigo, que solo logro el 15 % de efectividad.

En otros trabajos encaminados a la utilización de una cepa de *Azotobacter* (INIFAT - 12) para sustituir la fertilización nitrogenada en los cultivos de naranja y toronja. En donde los mejores resultados los obtuvieron con 40 L / ha de *Azotobacter* + 50 % de la fertilización nitrogenada tradicional. Este tratamiento les permitió incrementar los rendimientos entre 10 y 60 % en comparación con los fertilizados de manera tradicional. Observaron que el contenido de nitrógeno en la hoja se mantuvo en niveles satisfactorios.

Concluyen que ante una carencia total de fertilización nitrogenada sería posible con aplicaciones de *Azotobacter* a razón de 40 L / ha, obtener rendimientos satisfactorios al menos por 2 años .

Espintu et al, (1993) en un estudio sobre el efecto de la inoculación microbiana sobre la conversión de zeta usado como Biofertilizante en nabo (*Brassica napus* L .) var. Black Behi. Al probar cinco tratamientos: a) no inoculado, b) *Trichoderma* sp, c) *Azotobacter* sp; d) *Trichoderma* sp + *Azotobacter* sp, e) 2 % de urea. Los experimentos se condujeron en salvado de arroz (con 1 % de cal y 1 % de urea) previamente desarrollados por tres meses con *Pleurotus sajou* caju. La inoculación combinada con *Trichoderma* sp y *Azotobacter* sp dio los mejores resultados con un incremento del 58 % en pérdida de humedad, acompañado por el incremento del 18 % de N. Total sobre el control.

Los residuos del hongo se probaron como Biofertilizante en nabo; las plantas se desarrollaron por 40 días. La inoculación combinada *Trichoderma* sp y *Azotobacter* sp dio el peso del brote más alto el cual fue de 224 % superior al control no inoculado. El tratamiento con urea al 2 % no mejoró la descomposición del sustrato y el peso del brote de la planta en prueba, en relación con los tratamientos inoculados.

En México se han realizado pocos trabajos con respecto al efecto de la inoculación de *Azotobacter* sobre cultivos.

Mendoza y Valencia, (1980) en un estudio realizado para determinar el efecto de la inoculación masiva del suelo con *Azotobacter chroococcum* sobre el peso y longitud de lechuga (*Lactuca sativa*) y pasto (*Lolium perene*). Estudiaron la respuesta de 6 tratamientos: 1) composta + microorganismo + carbohidratos; 2) composta + microorganismo; 3) composta, 4) testigo; 5) microorganismos; 6) microorganismos + carbohidratos, utilizando glucosa más carbonato de calcio como fuente de energía. Inocularon con 312×10^9 bacterias. Los resultados que obtuvieron fueron en el caso de lechuga, los tratamientos resultaron estadísticamente diferentes, obteniendo el mejor tratamiento con materia orgánica más microorganismos produciendo un incremento en la longitud de lechuga. Para el caso de pasto resulto que la composta + *Azotobacter* produjo un incremento estadísticamente diferente para longitud del tallo. El mejor tratamiento para la variable peso seco y peso húmedo del pasto fue composta + *Azotobacter* + carbohidratos.

Garza y García, (1985) evaluaron la dinámica poblacional de *Azotobacter* en cuatro diferentes abonos orgánicos. Encontrando que en el tratamiento con gallinaza tubo una máxima población durante el segundo muestreo disminuyendo en el tercer muestreo y manteniéndose constante en los demás. En el tratamiento con composta, observó que en el segundo muestreo la población de bacterias disminuyo, pero se repuso para los muestreos siguientes. En el tratamiento con estiércol de vaca, en el segundo muestreo observó población baja, incrementándose rápidamente para después bajar la población. En el tratamiento con estiércol de cabra, observo siempre una tendencia a incrementarse la población bacteriana. Lo atribuye al contenido de paja en el estiércol de cabra aplicado y a una lenta descomposición. Con respecto al testigo observo en el segundo muestreo población baja, en el tercer muestreo se incremento la población, posteriormente observó en el sexto muestreo que la población bacteriana disminuyo.

4. 1. 3. 3. Algunos Productos Comerciales de *Azotobacter*.

La Empresa Agrícola Research Technologies L T D de Texas, USA. Fabrica un producto llamado USA 555 que es distribuido en México por la Empresa Biogenética Agrícola del Noroeste, S. A.

El producto tiene las siguientes características:

- 1) Las bacterias de USA 555 que fijan nitrógeno atmosférico son: *Azotobacter vinelanti* y *Clostridium pasteurianum* además de algas Blue – green.
- 2) Las bacterias fijadoras del producto son inmovilizadas por medio de un proceso especial que encapsula su quiste protegiéndolo de situaciones ambientales desfavorables y químicos tóxicos.
- 3) El proceso de inmovilización de bacterias es similar al que usa el nódulo de la raíz de las leguminosas para inmovilizar las bacterias *Rhizobium* y fijar Nitrógeno.
- 4) Contiene bacterias tanto aeróbicas como anaeróbicas.

El producto es entregado al mercado en forma de concentrado por lo que es necesario diluirlo.

Otro producto comercial llamado NITRO – FIX fabricado por la Empresa United Agricultural Services de América, ubicada en Hudson, FL.

4. 1. 4. Micorrizas.

El termino micorriza se refiere a la raíz de una planta más un hongo simbiote asociado, y se considera en conjunto como un órgano funcionalmente distinto. (Deacon, 1988).

Las micorrizas constituyen una simbiosis mutualista entre las hifas de algunos hongos (ficomicetos, ascomicetos y basidiomicetos) y las raíces de la mayoría de la plantas superiores. El tipo de micotrofia de las raíces puede tomar varias formas, dependiendo de la planta y del hongo y han sido clasificadas en : vesículo – arbuscular, Ectomicorrizas, Ectoendomicorrizas, Arbutoide, Monotropoide, Ericoide y Orquidoide; aunque todas comparten ciertos rasgos fisiológicos comunes. (Alvarez y Ferrera Cerrato, 1994).

Las micorrizas ectotrofas o ectomicorrizas se caracterizan por la formación de una vaina fúngica externa alrededor de la raíz y por la penetración del hongo en las regiones intercelulares de la misma (Ronal, 1990). Deacon, (1988) menciona que estas asociaciones se encuentran en árboles forestales como el roble, la haya, el pino, el abeto y el arce e incluyen miembros de los *Ascomycotina* y *Basidiomycotina*. Los cuerpos fructíferos se ven comúnmente en el bosque por ejemplo: *Boletus*, *Leccinum*, *Amanita*, *Rusula* y *Lactarius*.

Las micorizas vesículo arbusculares (MVA) o endomicorizas son una forma de simbiosis que se establece entre hongos zigomicetos de la familia Endogonaceae (géneros: *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Sclerosystis* y *Scutellospora*) y una alta diversidad de plantas. (Velazco, 1996).

Las micorizas VA . son muy comunes en plantas herbáceas y las principales plantas de cultivos agrícolas, entre las que se incluye, trigo, maíz, frijol, papa, soya, tomate, fresas, manzano, naranja, uva, algodón, tabaco y otras. Se caracterizan por la penetración del hongo en las células de las raíces en la cual la corteza de la raíz contiene inclusiones especializadas, denominadas vesículas y arbusculas. No se forma un manto por lo que las raíces infectadas parecen normales; penetran a la planta creciendo entre las células corticales de la raíz y formando grandes vesículas hinchadas y arbusculas (sistemas de ramificación semejantes a las de un árbol) Deacon, (1988); Ronal, (1990).

Las estructuras del hongo MVA corresponde a una estructura dimórfica, con hifas duras de pared gruesa, de 20 a 30 Mm de diámetro, comúnmente con protuberancias, de las que ramifican hifas finas de 2 a 7 Mm de diámetro, de pared delgada y efímeras. El arbusculo contiene en los primeros estados de desarrollo un citoplasma denso no vacuolizado y cuya vacuolización aumenta con la madures (Velasco, 1996)

4. 1. 4. 1. Modo de Acción de Micorizas.

Las hifas penetran las células corticales de la raíz y forman estructuras intrincadamente ramificadas de la raíz llamadas arbusculos. Estos viven pocos días, durante los cuáles el citoplasma de la célula hospedera aumenta a expensas de la vacuola; hay más mitocondrias, retículo endoplasmico y ribosomas y el núcleo se agranda el hongo produce hifas más anchas que pueden tener abultamientos terminales o intercalares, o sea las vesículas. Las hifas externas que se prolongan de la raíz, se extienden varios centímetros en el suelo. (Campbell, 1987).

Los hongos micorrizicos penetran y colonizan las células de la planta hospedero y los agregados del suelo formando un sistema de transferencia vivo de dos vías, llevando nutrimentos minerales del suelo a la planta y compuestos orgánicos de la planta al suelo. En este proceso los

hongos micomicos mejoran el crecimiento y la salud de las plantas, incrementan la proliferación de organismos del suelo y la formación de la estructura del suelo. (Bethlelvalvy, 1993).

Alvarez y Ferrera Cerrato, (1994) mencionan que el estudio de la interacción hongo micomico – planta ha sido de gran interés debido a que la micorriza promueve la nutrición de los cultivos, particularmente por su función de incrementar la absorción de agua y nutrientes que son relativamente inmóviles en el suelo tales como el fósforo, cobre y zinc. (Figura 3)

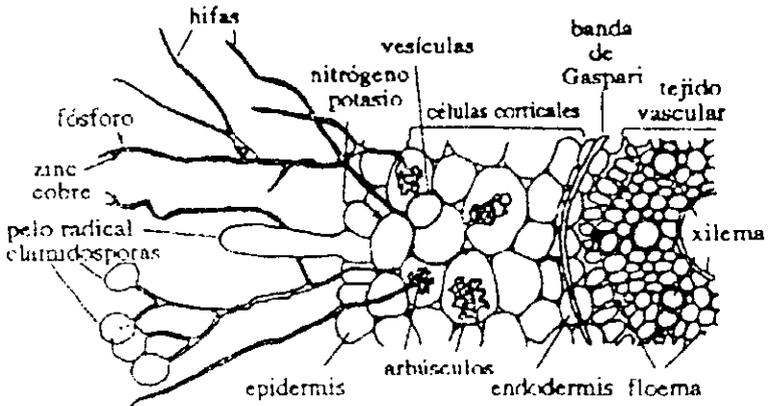


Figura 3. Representación esquemática de la distribución de la micorriza vesículo-arbuscular en la raíz. Fuente. (Alvarez y Ferrera, Cerrato, 1994).

El mecanismo más importante en el incremento de la absorción de fósforo y de otros nutrimentos en las plantas micorrizadas es de naturaleza física, debido a que incrementa el área superficial de contacto de las raíces con el suelo, lo que les confiere una mayor capacidad para explorar y aprovechar los recursos del sustrato (Alvarez y Ferrera - Cerrato, 1990).

El movimiento del fósforo mediado por los hongos MVA. Ocurre en tres etapas: 1) captación por el endófito en la solución del suelo, 2) traslocación hacia la raíz por los puntos de entrada que realizan las hifas, 3) la posterior liberación en la planta. El hongo toma fósforo del suelo. El mismo autor considera que la traslocación posiblemente ocurre por flujo citoplasmático de gránulos de polifosfato en las vacuolas del hongo. (Reyes, 1993).

4. 1. 4. 2. Efecto de Micorrizas Vesiculo- Arbuscular Sobre Cultivos.

Reyes, (1993) en un estudio sobre la asociación entre soya y maíz conectados entre si por hongos micorrizicos VA para confirmar si existe transferencia de nitrógeno y/o fósforo entre estos cultivos, para ello realizo dos experimentos. En el experimento I probo cuatro niveles de fósforo (0.10, 0.25, 0.50 y 1.0 mM de fósforo) aplicados a soya nodulante. En el experimento II el nitrógeno (15N y N no marcado) se aplico foliamente a las plantas de soya no nodulante. Encontró que con los diferentes niveles de fósforo, la soya aumento la producción de materia seca. El mejor tratamiento fue aquel al que se le aplico mayor dosis de fósforo. Para el maíz no hubo diferencias estadísticas en las variables estudiadas. La colonización de micorrizas fue afectada por el nivel de fósforo aplicado. Los niveles altos de fósforo (1.0 y 0.5) fueron los que produjeron el mejor desarrollo de esta asociación, principalmente en la soya. El mejor tratamiento fue el 0.10 mM de fósforo sin barrera física (estos tratamientos permitieron que el micelio del hongo MVA conectara las plantas entre si y se estableciera una relación fuente - demanda). Para maíz el mejor tratamiento fue el unido a soya con la menor dosis de fósforo. En el experimento II con nitrógeno aplicado foliamente a las plantas de soya no nodulante, encontraron que no se pudo igualar el crecimiento de estas aun cuando se aplico una cantidad muy similar. El control se mantuvo con valores inferiores a los presentados por los tratamientos con micorrizas y nitrógeno. Esto confirma la importancia del establecimiento de la asociación micorrizica ya sea en plantas creciendo solas o intercaladas. Concluye que la asociación micorrizica en plantas creciendo intercaladas es afectada por los niveles aplicados de nitrógeno y fósforo principalmente. El porcentaje de colonización micorrizica en maíz fue afectada por el nivel de nitrógeno aplicado. Cuando se aplico este nutrimento se presentaron vesiculas y arbusculos y cuando no se aplico no se encontraron estas estructuras y la colonización fue menor. Lo contrario ocurrió con la soya.

En maíz se ha estudiado su efecto de la micorrización en relación a los fitopatogenos del suelo en sistemas de rotación con leguminosas, en este trabajo, Poot - Matu, (1998) evaluó el porcentaje de micorrización del maíz después del corte de leguminosas y el efecto de las rotaciones sobre la incidencia de fitopatogenos a la raíz del maíz, su muerte pre-emergente y la muerte post-emergente de plantas a los 20 y 40 dds y los cambios físicos y químicos del suelo como resultado de la rotación. Encontró que los más altos niveles de colonización se observaron en los tratamientos que incluyeron rotación con leguminosas alcanzando hasta 40 % de micorrización a los 73 dds y el nivel más bajo de micorrización del 8 %, correspondió al tratamiento

maíz sin fertilizante. Concluye que al aumentar los niveles de micorización, la infección de las raíces por patógenos disminuye, con respecto a los cambios físicos y químicos del suelo en los sistemas de rotación, no encontró diferencias marcadas en contraste con el maíz en monocultivo después de 6 ciclos de rotación.

Por otra parte, no encontró diferencias significativas respecto a la muerte preemergente de plantas entre tratamiento, pero sí respecto a la muerte post-emergente, siendo mayor en los monocultivos continuos. Los exudados radicales de *Macuna deringianum*, parecen favorecer el desarrollo micelial del patógeno, pero también contribuyen a inhibir la formación de esporas en el hongo, por el efecto tóxico de las esporas de exudación.

En alfalfa y algodón, Quintos, (1998) encontró que un elevado porcentaje de colonización micorrízica (superior al 50 %), establecido previo a la inoculación con el hongo fitopatogénico, *Phimatotrichum omnivorum*, proporcionó protección contra los daños inducidos por este patógeno, evitando la mortalidad. Observo que la presencia del patógeno, indujo escasa descomposición de tejidos de la raíz, cuando la micorriza arbuscular estuvo presente; observo también que el número de arbusculos y vesículas fue menor en presencia del patógeno y la abundancia de hifas de la micorriza arbuscular fue mayor.

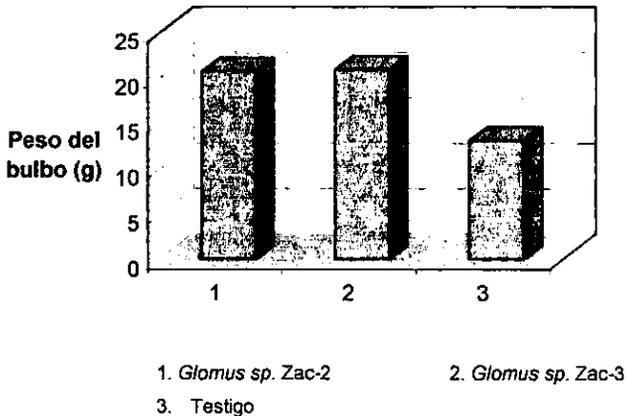
Se han hecho estudios del efecto de la inoculación de endomicorizas en hortalizas, los principales trabajos son los siguientes:

Velasco, (1996) en un estudio del efecto de la vermicomposta y la inoculación con endomicoriza arbuscular (*Glomus intraradix*) y *Azospirillum brasilense* en la producción de tomate de cáscara, midiendo las variables; peso seco: de tallos, de hojas, de raíz, de frutos, peso seco total; volumen radical, área foliar, altura de planta, tasa fotosintética, tasa de asimilación neta, tasa relativa de crecimiento, contenido de N y P en la planta; supervivencia de *Azospirillum brasilense* en rizosfera, en rizoplano, en endomizosfera y colonización micorrízica. Encontró altas poblaciones de *Azospirillum brasilense* en rizosfera rizoplano. Encontró que la colonización micorrízica fue favorecida por la combinación entre *G. intraradix* + *Azospirillum brasilense*; esta combinación tuvo 72 % de infección en endomizosfera. Observó que la colonización micorrízica fue favorecida por la combinación entre *G. intraradix* + vermicomposta, observo que ha mayor colonización micorrízica mayor contenido de fósforo en la planta. La inoculación por separado de *G. intraradix* + *A. brasilense* tuvieron efecto positivo sobre tasa fotosintética de las plantas inoculadas comparado con el tratamiento no inoculado. Así mismo observo incrementos en materia seca en los tratamientos con la combinación de *G. intraradix* y *A. brasilense* del 70 y 10 % con respecto al testigo. Encontró también que la combinación de *G. intraradix* + vermicomposta tuvo una respuesta

positiva que supero al testigo en un 120 % en peso seco total y 26 % en rendimiento al final del ciclo del cultivo .

Gutiérrez, (1993) evaluó el efecto de la inoculación con micorriza vesículo arbuscular (*Glomus fasciculatum*) en plantas de chile serrano var. Tampiqueño 74 en dos suelos del Estado de México bajo condiciones de invernadero. Encontró que el porcentaje de infección bajó 43.6 % para los tratamientos inoculados, para los tratamientos no inoculados oscila entre 0 y 46.3 %, por lo que establece que la esterilización del suelo impide y / o elimina la acción de las micorizas. Observo que las plantas inoculadas tuvieron mayor número de frutos; que las plantas inoculadas se desarrollan mejor que las no inoculadas, sobre todo en suelo no esterilizado. Las plantas inoculadas y fertilizadas observo que se desarrollan mejor, que las plantas no inoculadas y fertilizadas.

Villalobos, (1993) en un estudio sobre el potencial de micorriza VA en la producción de chile (*Capsicum annum L.*) y cebolla (*Allium cepa L.*) encontró que el cultivo de cebolla responde favorablemente a la micorriza VA y de mayor a menor respuesta en almacigo con suelo fumigado, después en invernadero enseguida en almacigo sin fumigar y finalmente en campo. Menciona que la inoculación micorrizica a la siembra, favorece el desarrollo pre y post - trasplante de la cebolla de manera que el incremento de bulbo en la cosecha fue atractivo. (Grafica 1)



Grafica 1. Comparación de peso seco de bulbo de cebolla entre tratamientos inoculados y testigos, cosecha final. Fuente: (Villalobos, 1993).

Díaz, (1998) en un estudio sobre Biofertilización del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.) con bacterias promotoras de crecimiento, micoriza arbuscular y vermicomposta, encontró que a los 30 y 90 dds, la colonización del hongo micorrizico arbuscular *Glomus spp* Zac - 19 disminuyo significativamente por la adición de vermicomposta, reporta que al inocular el hongo disminuyo la población bacteriana. Además reporta que en los muestreos a los 30 y 90 dds la concentración de N y P en la parte aerea se incremento en comparación con el testigo.

Se han realizado estudios sobre el efecto de la inoculación con micorizas VA en los cultivos de cítricos dentro de los que se encuentran los siguientes:

González y Ferrera - Cerrato, (1993) estudiaron el efecto de la roca fosfórica y de la inoculación con *Glomus sp* Zac - 19 sobre el crecimiento del porta injerto naranjo agrio Australiano. Encontraron que solamente las plantas inoculadas con micoriza vesiculo arbuscular (MVA) respondieron a la fertilización con roca fosfórica, las plantas no inoculadas no se beneficiaron de la aplicación con roca fosfórica en ninguno de los niveles que emplearon. Las plantas inoculadas crecieron significativamente más que las plantas testigo, después de los 135 días de la inoculación. Las plantas inoculadas tuvieron un 255 % de incremento en altura, 133 % en diámetro de tallo, 800 % en el número de hojas, 716 % en peso seco y 514 de área foliar. La fertilización no afecto drásticamente la colonización micorrizica, por lo anterior concluyen que el uso de los hongos VA en los viveros en la propagación de cítricos y su combinación con roca fosfórica de bajo costo, podría ser una metodología atractiva con lo cual se obtendrían plantas sanas y vigorosas en menos tiempo y menor costo.

Por otra parte Alarcón, (1997) estudio la capacidad fotosintética del porta injerto *Citrus volkameriana* inoculado con micoriza arbuscular. Encontró que al inocular las plántulas una vez que desarrollaron las primeras dos hojas las inoculo con *Glomus sp* Zac - 19 y *Glomus aggregatum*. Cuando las plantas alcanzaron un promedio de 6 mm de diámetro de tallo, injertó yemas de la variedad valencia. La inoculación micorrizica arbuscular produjo efectos significativos en altura de planta, número de hojas, área foliar, volumen radical y materia seca producida. La tasa relativa de crecimiento de los tratamientos inoculados fue superior a la del testigo. Observo que durante las primeras fases de crecimiento de las plantas, la micoriza arbuscular incremento la tasa fotosintética por lo que encontró mayor cantidad y capacidad de traslocación de fósforo hacia los diferentes órganos vegetales, en comparación con el testigo. En las plantas injertadas con la variedad valencia, encontró que la micoriza al parecer provee mayor vigor a las plantas, obteniendo el 100 % de prendimiento del injerto.

En otros frutales como el cafeto, Hernández (1993) encontró que al inocular plantas de cafeto con *Glomus musseae* y *Gigaspora sp*. Proporcionaron un acortamiento en el tiempo de

vivero, las plantas alcanzan una más rápida emisión de ramas plagiotrópicas. Encontró que la mejor cepa micorrizica fue *Glomus musseae*, en su efecto sobre el crecimiento aunque su porcentaje de colonización fue más bajo (50 %) en comparación con el 60 de *Gigaspora* sp. Confirma que no existe ninguna correlación entre el porcentaje de colonización y su efecto sobre el crecimiento. Por otro lado encontró que las micorizas propiciaron una mayor acumulación de materia seca propiciando un mayor contenido total de nutrientes en las hojas principalmente fósforo. Por último observo que las micorizas propiciaron un suministro más eficiente del agua ya que las tasas de transpiración fueron menores en los tratamientos micorizados.

En mango, Martínez, (1995) estudió el efecto de la inoculación con hongos endomicorrizicos *Glomus musseae* y *Glomus fasciculatum* y la dosis de fertilización 4 – 1 – 4 g de N P K sobre el crecimiento, colonización del sistema radical, absorción nutricional y la fotosíntesis de las plantas antes y después del injerto. Encontró que la cepa micorrizica *Glomus fasciculatum* inoculada por separado y combinada con fertilización propicio mayor crecimiento y desarrollo del porta injerto y la planta injertada. En cuanto a concentración nutrimental foliar de las plantas de mango, observo que se incrementaron principalmente en fósforo y zinc. Observo que la fertilización no afecto el porcentaje de colonización y número de esporas; observo mayores efectos de *Glomus fasciculatum* en combinación con fertilización.

En Cuba han efectuado estudios de micorizas VA en varios frutales. En papaya han trabajado sobre la determinación de cepas de hongos micorizojenos en diferentes tipos de suelos. Los resultados obtenidos indican que las mejores cepas han logrado hasta duplicar los valores de las variables de crecimiento cuando se compara con el testigo. Con lo que logran adelantar considerablemente el tiempo en vivero disminuyendo el costo de producción.

También han trabajado sobre el efecto de micorizas en mango, aguacate y guayaba; sus resultados han sido favorables sobre la determinación de las mejores cepas de hongos micorrizicos. En mango han podido observar que la simbiosis entre la planta y el hongo MVA se establece tardíamente. En guayaba han logrado obtener incrementos de crecimiento con las mejores cepas hasta en un 60 % con respecto al testigo. (Estación Nacional de Frutales, Cuba, 1995).

V. ANÁLISIS DEL USO DE BIOFERTILIZANTES EN MÉXICO.

En nuestro país la mayor superficie cultivada de leguminosas es de frijol y como los productores que siembran frijol son productores de bajos recursos económicos por lo que el uso de dosis de fertilización menores a las recomendadas es frecuente, y una forma de abastecer de nitrógeno al cultivo es la fijación simbiótica de nitrógeno. Aunque según Ferrera Cerrato y Almaraz Suárez, (1996) muchas de las variedades cultivadas de frijol en Latinoamérica fijan bajas cantidades de nitrógeno y los inoculantes comerciales no han obtenido el éxito deseado.

Una de las causas por las que los inoculantes no han tenido el auge que se esperaba, es la falta de calidad de los productos comerciales, que muchas veces no cuentan con las características de calidad que se requieren. Ferrera - Cerrato y Almaraz Suárez, (1996) mencionan que en algunas evaluaciones realizadas en algunos inoculantes comerciales han demostrado que los rizobios no existen o sus poblaciones son muy bajas. Para que un inoculante sea de buena calidad debe tener como mínimo 10^8 Rhizobios por gramo de turba, cantidad que permite una supervivencia en la semilla o en el suelo. Menciona también que otra de las causas principales por las que un inoculante pierde efectividad es la desventaja que tienen las cepas introducidas para competir con las nativas del suelo para nodular al hospedero. Comúnmente menos de 30 % de los nódulos son formados por las cepas introducidas, el resto se debe a las nativas del suelo. (cuadro 6)

Además existe una gran interacción entre variedades y localidades; cepas que tienen efecto en una variedad, no funcionan en otra, o bien, cepas que son efectivas en un lugar, son inefectivas en otro.

Cuadro 6. Nódulos formados por cepas de *Rhizobium* en frijol, con respecto a las nativas del suelo en algunas áreas agrícolas de México.

Sitio	Nódulos Formados		Fuente
	Ciclo 1	Ciclo 2	
	%		
Chapingo, México	5 - 52	nd	Mathieu (1982)
Chapingo, México	3 - 5	nd	Ferrera - Cerrato (datos no publicados)
Pabellón, Ags.	14 - 28	nd	Almaraz (datos no publicados)
Montecillo, México	24	32.6	Vega-Segobia y Ferrera - Cerrato, (1993)

Nd = no determinado

Fuente: (Ferrera, - Cerrato y Almaraz - Suárez, 1996).

Otros autores, concuerdan en que uno de los factores que más afecta el éxito de la inoculación en el campo lo constituye la presencia de cepas nativas, por estar mejor adaptadas a las condiciones edáficas, compiten y desplazan a las cepas introducidas. (Alvarez et al, 1996).

Otra de las causas importantes que disminuye la efectividad de los Biofertilizantes es la falta de capacitación de los productores para el uso adecuado de estos productos, ya que muchas veces en el manejo del Biofertilizante pierde efectividad, porque puede ser que el productor inocule la semilla pero no la siembra inmediatamente, o algunas veces no almacena correctamente el Biofertilizante. Esto puede ser debido a que el productor no considera que esta trabajando con organismos vivos.

En cuanto al uso de *Azospirillum* como Biofertilizante la problemática que se analiza según Bashan et al, (1993) considera que hace mas de quince años en que se probó por primera vez el potencial de *Azospirillum* como Biofertilizante en cereales. A pesar de los resultados optimistas iniciales, la inoculación con *Azospirillum* en el campo a demostrado ser inconsistente e impredecible. Ha sido difícil reproducir los resultados a pesar de que los experimentos realizados se llevaron a cabo de manera idéntica, esto provocó que la experimentación en campo se redujera dramáticamente. Estimaciones actuales proponen que la inoculación de cereales con *Azospirillum* debería incrementar el rendimiento en un 10 a 15 % en áreas fertilizadas y hasta un 20 % utilizando practicas agrícolas menos desarrolladas. Sin embargo esto es difícil de predecir mientras se desconozcan los factores básicos que intervienen en la interacción planta – bacteria. Las investigaciones actuales se enfocan en dos nuevas direcciones: 1) inoculación doble de *Azospirillum* con otros microorganismos de la rizosfera, tales como *Rhizobium*, *Pseudomonas* y hongos micorrizicos. La función de *Azospirillum* en esta interacción múltiple es la de bacteria "cooperadora" la cuál contribuye positivamente en la interacción de estos microorganismos con las plantas y 2) inoculación de plantas no cereales y plantas de ornato ya que esta bacteria no específica, produce efectos positivos en una gran variedad de plantas, es factible que la inoculación en plantas no cerealeras proporcione resultados no consistente.

Se concuerda con lo que menciona Bashan et al, (1996), a pesar de numerosas investigaciones, en muchas de ellas los resultados no son muy sobresalientes en cuanto al incremento en los rendimientos de los cultivos; pero si demuestran que los microorganismos utilizados como Biofertilizante influyen de forma benéfica tanto en el suelo como en la planta por consiguiente se disminuye la degradación del suelo. En el caso

de *Rhizobium* está influyendo en la cantidad de nitrógeno fijado en simbiosis con las leguminosas beneficiando a los cultivos subsecuentes. En cuanto a *Azospinillum*, aunque los resultados en las investigaciones no sean tan alentadores en cuanto al rendimiento de los cultivos, pero si esta influyendo en el desarrollo de las plantas debido a como menciona Alvarez et al, (1996) que el crecimiento de los cereales por la inoculación de *Azospinillum* es debida a una estimulación en el desarrollo de las raíces por la producción de auxinas, más que por la fijación biológica del N_2 , ya que en muchos casos esta no excede de 1 Kg. de $N\ ha^{-1}$ por ciclo de cultivo.

A pesar de los esfuerzos que han realizado la SAGAR a través del INIFAP para establecer el proyecto para la producción masiva de Biofertilizante con el propósito de disminuir los efectos nocivos que generan los agroquímicos en el suelo y en el medio ambiente. No se ha logrado impactar a los productores para que adopten el uso de Biofertilizantes en sus cultivos. Esto puede ser debido a varias causas: 1) a una falta de amplia difusión del programa, 2) falta de capacitación al productor en el manejo de los Biofertilizantes, hacer que tenga conciencia en que esta trabajando con organismos vivos; 3) la falta de disponibilidad del producto en el momento que se requiere, ya que cuando se va a sembrar no hay existencia de Biofertilizante.

En cuanto al uso de *Azotobacter* como Biofertilizante, hace falta mas investigación en México, puesto que aun cuando se sabe que el uso de *Azotobacter* en los cultivos reporta beneficios por la secreción de sustancias reguladoras de crecimiento, antihongos y antibióticos. En nuestro país hay pocas investigaciones al respecto.

En cuanto a los productos Biofertilizantes existentes en el mercado, hace falta evaluar su efectividad por instituciones oficiales, que certifiquen la calidad de los mismos.

En cuanto al uso de micorizas VA como Biofertilizante, de acuerdo a numerosas investigaciones demuestran que el uso de MVA en los cultivos y en frutales son de gran utilidad, ya que según Bethlenfalvay, (1993) los hongos forman un sistema de transferencia vivo de dos vías, llevando nutrimentos minerales del suelo a la planta y compuestos orgánicos de la planta al suelo, en este proceso los hongos mejoran el crecimiento y salud de las plantas. Linderman, (1993) coincide en que las interacciones microbianas en la micorizosfera puede afectar el crecimiento y la salud de las plantas. Algunas asociaciones de bacterias específicas con las micorizas pueden incrementar el crecimiento vegetal debido a los efectos micorrizicos sobre el metabolismo y la función bacteriana. Las combinaciones de los agentes de biocontrol y los hongos micorrizicos pueden incrementar el control biológico de los patógenos del suelo.

El empleo de hongos micorrizicos principalmente en la producción de plantas de frutales en vivero, ha tenido resultados muy sobresalientes, según los estudios que se reportan. Sin embargo se necesita difundir ampliamente la técnica del uso de hongos MVA en la propagación de plantas de vivero, que puede ser una alternativa económica y ecológica; atractiva para el uso intensivo en los viveros, ya que se disminuye el uso de fertilizante, repercutiendo a la vez en la obtención de plantas saludables en menor tiempo y con desarrollo optimo para injertarlas.

Sin embargo en México hace falta la tecnología para la producción masiva de Biofertilizantes a base de hongos micorrizicos

VI. CONCLUSIONES.

- Los microorganismos usados como Biofertilizantes actúan fijando nitrógeno atmosférico, *Rhizobium* lo hace en forma simbiótica con las leguminosas, *Azospirillum* lo efectúa asociado con gramíneas u otras plantas no cerealeras, mientras que *Azotobacter* fija nitrógeno de forma libre. En los tres tipos de Biofertilizantes la fijación de nitrógeno se efectúa mediante la acción de la enzima nitrogenasa. Tanto *Azospirillum* como *Azotobacter* son productoras de sustancias estimulantes del crecimiento de los cultivos. En cuanto a micorizas actúan, incrementando la superficie de contacto de las raíces con el suelo, mejorando el crecimiento y la salud de las plantas.
- El uso de Biofertilizantes produce efectos benéficos en los cultivos agrícolas.
- El principal problema del uso de Biofertilizantes es la falta de difusión de esta técnica y la falta de capacitación a los productores en el manejo de estos productos.
- El uso de Biofertilizantes es una alternativa de gran validez para los productores que no fertilizan químicamente
- El empleo de Biofertilizantes representa una alternativa posible para disminuir el uso de fertilizantes químicos.
- El uso de Biofertilizantes en México es de gran ayuda para conservar el recurso suelo y llegar a tener una agricultura sostenible.
- Con el empleo de Biofertilizantes no es posible incrementar los rendimientos de los cultivos en gran medida, pero si se logra disminuir la entrada de fertilizantes y pesticidas al suelo y al medio ambiente. Se puede emplear la combinación de uno o mas Biofertilizantes con fertilizantes químicos, siempre y cuando se haga un uso racional de estos últimos, que permitan reducir riesgos de deterioro ambiental y maximizar los ingresos de los productores, sin disminuir los rendimientos.

VII. RECOMENDACIONES.

Las recomendaciones que se plantean de acuerdo al estudio de los Biofertilizantes, se enumeran de la siguiente forma:

1) Mejoramiento genético de cultivos de leguminosas que sean compatibles con cepas seleccionadas de Rhizobium con alta eficiencia para fijar nitrógeno atmosférico.

2) Empleo de la inoculación doble es decir que en un cultivo pueden emplearse varios microorganismos como Biofertilizante.

3) Es importante señalar que para disminuir el efecto de la competencia con las cepas nativas. Es necesario aislar en las diferentes regiones, cepas nativas y seleccionar las mas sobresalientes para utilizarlas como Biofertilizante.

4) Antes que nada es necesario promover el uso de Biofertilizantes entre los productores, así mismo capacitarlos en su manejo. Que se tenga personal técnico en las diferentes regiones que puedan asesorar directamente a los productores.

5) Es necesario que los productos Biofertilizantes comerciales se sometan a un estricto control de calidad para que el productor pueda emplearlos con toda confianza.

6) Es necesario que los productos Biofertilizantes sean validados por Instituciones Oficiales que certifiquen su eficiencia.

VIII. BIBLIOGRAFÍA.

Aguirre, M. J. F. 2000. **Los Biofertilizantes**. Revista, Hortalizas, frutas y flores, N° de Febrero, p. 30 - 31. Ed. año Dos Mil. México, D. F.

AG. Supply GDL. 2000, **ECO Soil Systems. Inc. Programas Agrícolas**. Agricultural Supply de México, folleto desplegable. Guadalajara, Jal.

Alarcón. A. 1997. **Capacidad fotosintética del porta injerto *Citrus volkameriana* inoculado con micorriza arbuscular**. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.

Alvarez – Solís, J. D., Ferrera - Cerrato, R. 1994. **Los microorganismos del suelo en la estructura función de los agroecosistemas**. Instituto de Recursos Naturales, Programa de Edafología. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México

Alvarez S J. D., Ferrera -Cerrato, R; Santizo, R. J: A.; Zebrowski, C. 1996. **Establecimiento y actividad de *Rhizobium* y de *Azospirillum* introducidos durante el primer año de roturación**. Agrociencia. México . v . 30 (2) . p . 177 – 185.

Bashan. Y. G. Holguin, M. E. Puente, A. Camillo, L. Alcaraz, Meléndez, A. López Cortés . and. J. L. Ochoa. 1993. **Critical Evaluation of plant inoculation with Benefical Bacteria From The Genus *Azospirillum*** . in: Agroecología, Sostenibilidad y Educación. Ed. Ronal Ferrera Cerrato y Roberto Quintero Lizaola. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.

Beltrán, L. M. 1991. **Rendimiento en grano del cultivo de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) Mediante fertilización N P K e inoculación con *Rhizobium spp***. Tesis de Licenciatura. UNAM. FESC. Cuautitlan Izcali, México.

Bethienfalvay, G. J. 1993 **The Mycorrhizal plant – soil System in Sustainable Agriculture**. In: Agroecología, Sostenibilidad y Educación. Ed. Ronal Ferrera Cerrato y Roberto Quintero Lizaola. Colegio de Posgraduados. Montecillo, México.

Biogenética Agrícola del Norte 1997. **USA 555 un Producto de la Ingeniería Biogenética**. Folleto Desplegable.

Campbel, 1987. **Ecología Microbiana**. Universidad de Bristol. Blackwel. Scientific Publications 2ª. Edic.

Cruz, C. M. 1993. **Respuesta del haba (*Vicia faba* L.) a la Inoculación con (*Rhizobium leguminosarum*) y a la fertilización con nitrógeno y fósforo**. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.

Deacon, J. W. 1988. **Introducción a la Micología Moderna**. Dto. Microbiología. Universidad de Edimburgo. Ed. Limusa, México.

Espiritu, B. M. ; Remoquillo, J. E.; Corozza, C. A.; Bato, L. B. 1993. **Effects of Microbial Inoculation on The Convento of Mushroom Spents as Biofertilizer in Pechay (*Brassica napus* L.) cv Black Bhei**. Philippine – Journal of Biotechnolog Philippines . v. 4 (1) p. 51 – 60.

Estación Nacional de Frutales. 1995 **Resultados Obtenidos en las Investigaciones**. (1992 – 1994). Ministerio de Agricultura, La Habana, Cuba.

Fernández Vega, F. Z. C. 1995. **Capacidad Fijadora de Nitrógeno in vitro e in vivo de dos cepas de *Azospirillum* en plantas de caña de azucar (*Saccharum officinarum* L.)** . Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Posgraduados. Montecillo, México.

Ferrera – Cerrato, R. ; Almaraz Suárez, J. J. 1996. **Factores que afectan la fijación Simbiótica de Nitrógeno en frijol común**. In: Agroecología y Desarrollo Sostenible. Ed. Pérez Moreno J. Y Ferrera - Cerrato R. Colegio de Postgraduados, Montecillo , México.

Gaceta del Desarrollo Rural. 1999. 1.No. 4 . SINDER – PEAT.

Garza, R. J. R, García, M. J. L. 1985. **Prueba de cuatro diferentes abonos orgánicos y su efecto en la dinámica poblacional de *Azotobacter spp.*** Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de N. L., Monterrey, N. L. , México.

Gómez, T. L. 1997. **Sistema de Producción Orgánica de Granos Básicos**. SAGAR. Instituto Nacional de Capacitación del Sector Agropecuario, INCA Rural . A C.

González – Chávez y Ferrera, - Cerrato, R. 1993. **Uso de la Endomicorriza Vesiculo arbuscular (VA y de la roca Fosfórica en Naranja Agrícola Australiano**. Memorias I Simposio Internacional y I Reunión Nacional Sobre Agricultura Sostenible. CEICADAR, Puebla. Colegio de Postgraduados, México . pp. 266 – 278.

Gutiérrez, R. E. 1993. **La micorriza vesículo – arbuscular *Glomus fasciculatum* como una alternativa de fertilización en el cultivo de chile serrano (*Capsicum annum*) En diferentes suelos de México** . Tesis de Licenciatura. UNAM. FESC. Cuautitlan, Izcalli, México.

Hernández, H. B. 1993. **Efecto de micorrizas y ácido Giberelico en el desarrollo en vivero de plantas de cafeto (*Coffea arabica*)**. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados . Montecillo, México.

Jiménez, G. M. 1986. **Efecto de la inoculación de *Azospirillum sp* . en dos variedades de trigo, realizada a nivel invernadero**. Tesis de Licenciatura. UNAM. Facultad de Química. México. D. F.

Leal, S. E. 1995. **Uso de Fuentes alternativas de fertilizantes en la provincia de Ciego de Avila, Cuba**. Ed. Ruiz, F. J. F. Manejo y conservación de suelo y agua. CP. SAGAR. FIRCO. UACH. PROBOSQUE. CNA. IMTA. México.

Leyva, R. G. 1990. **Aspectos de Biotecnología en la producción de inoculantes a partir de *Rhizobium leguminosarum* bv . *phaseoli* .** Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.

Linderman, R. G. 1993. **Effects of Microbial Interactions in The Micorrhizosphere on Plant Growth and Health** in: Agroecología Sostenibilidad y Educación. Ed. Ferrera-Cerrato R. Y Quintero – Lizaola R. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México.

López, A. E. 1982. **Generación de tecnología de producción y evaluación de cepas de *Rhizobium phaseoli* y *Rhizobium japonicum* por su efecto en la producción de grano y economía de nitrógeno en los cultivos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y soya (*Glicine max* L. Merril) en la Mixteca Poblana**. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.

Martínez, M. G. 1995. **Inoculación de plantas de mango (*Mangifera indica* L.) con Micorrizas VA bajo condiciones de vivero**. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Posgraduados, Montecillo, México.

Mendoza, R. M., Valencia, R. G. 1980. **Un estudio sobre los efectos de la aplicación masiva de *Azotobacter chroococcum***. Comunicaciones Internas No. 6 Facultad de Ciencias. UNAM. México, D. F.

Ondarza, R. N. 1996. **Biología Moderna**. Ed. Trillas. México, D. F. pp : 229 -- 239.

Orive, R. ; Temprano, F. 1983. **Leguminosas de grano**. Ed. Mundi Prensa. Madrid, España.

Pedrazzi, C. M. L. 2000. **Estadísticas sobre el patrimonio natural y el medio ambiente**. Revista. Industria de Agroquímicos. v. 4. N. 2. pp. 11-12. México.

Poot, M. J. E. 1998. **Dinámica de la micorrización del maíz y su efecto sobre los fitopatogenos del suelo en sistemas de rotación con leguminosas**. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México.

Quintos, E. M. 1998 **Efecto de la micorriza arbuscular (*Glomus sp*) en los daños causados por *Phymatotrichum omniborum* (Shear) Duggar, sobre plantas de alfalfa y algodón**. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México.

Rangel, L. J. A. 1989. **Biofertilizantes (*Azospirillum spp*) ; alternativa nutricional en maíz (*Zea mays* L.)**. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.

Rasco, E. T. Jr. Aromin, F. B. ; Amante, V. D. R.; López, P. J. S. 1992. **Response of Sweet potato to Biofertilizers**. Southeast Asian Program for Potato Research and Development, Manila (Philippines). Compilation of annual Reports.

Reyes, S. M. G. 1993. **La micorriza vesiculo arbuscular en la asociación soya – maíz con énfasis en la transferencia de fósforo y nitrógeno**. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.

Ronald, M. Atlas, 1990. **Microbiología. Fundamentos y Aplicación**. University of Louisville. Ed. Continental. México.

Ruiz, F. J. F. 1990. **Causas y consecuencias de la contaminación del suelo**. Mesa redonda . Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.

Sánchez, G. V. M. 1995. **Inoculación de trigo (*Triticum aestivum* L.) tolerante a sequía con *Azospirillum***. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.

ESTA TESIS NO SALE DE LA BIBLIOTECA

Subba, Rao N. S. 1992. **Biofertilizers in Agriculture**. A. A. Balkema Rotterdam. Second Edition.

Valtierra, L. M. 1992. **Potencial de *Azospirillum sp* como fertilizante biológico de (*Sorghum bicolor* L.) Moench**. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.

Velasco, V. J. 1996. **Efecto de vermicomposta e inoculación con endomicorriza arbuscular (*Glomus intraradix*) y *Azospirillum brasilense* en la producción de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot)**. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.

Villalobos, S. R. I. 1993. **Potencial de micorriza vesículo arbuscular en la producción de chile (*Capsicum annum* L.) y cebolla (*Allium cepa* L.)**. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.

Villareal, R. M.; Ferrera, Cerrato, R. Volke - Haller, V. Hernández, S. A. 1990. **Aislamiento y evaluación de *Azospirillum sp* por afinidad con trigo (*Triticum aestivum* L.)**. Agrociencia. México. Serie Agua - Suelo - Clima. v. 1 (3) p. 183 - 198.

Yolimea, C. J. J. 1989. ***Azospirillum sp*. Detección, Cuantificación y su efecto como inoculante en pasto salado (*Distichlis spicata* L. Grene) en suelos del ex lago de Texcoco**. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.