



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE JITOMATE INOCULADO CON TRES
BIOFERTILIZANTES A BASE DE AZOSPIRILLUM BRASILENSE**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA:

DOMÍNGUEZ CALDERÓN, ISRAEL

ASESOR: URZUA HERNÁNDEZ, MARÍA DEL CARMEN

MÉXICO, D. F.

2006



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.

Contenido	Página.
ABREVIATURAS EMPLEADAS EN EL TRABAJO	3
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	4
1.- INTRODUCCIÓN	5
2.- JUSTIFICACIÓN.....	7
3.- HIPÓTESIS	8
4.- OBJETIVOS.....	8
4.1 Objetivo general.....	8
4.2 Objetivos particulares	8
5.- MARCO TEÓRICO	9
5.1 Biofertilizantes	9
5.1.1 Definición e importancia	9
5.1.2 Presentación comercial.....	9
5.1.3 Formas de aplicación.....	11
5.2 El género <i>Azospirillum</i>	12
5.2.1 Características Microscópicas	13
5.2.2 Características metabólicas y culturales	13
5.2.3 Características de importancia agronómica.....	14
5.3 El jitomate	16
5.3.1 Producción a nivel mundial	17
5.3.2 Producción en México.....	17
5.3.3 Valor nutrimental.....	19
5.3.4 Índices de calidad	22
5.4 Biofertilización de jitomate con <i>Azospirillum</i>.....	22

6.-	MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
6.1	Material biológico	24
6.2	Acondicionamiento del invernadero	25
6.3	Preparación de semillas.....	25
6.4	Producción de biofertilizantes	25
6.5	Siembra e inoculación de semillas.....	27
6.6	Colonización de raíz	29
6.7	Transplante	29
6.8	Cuidados del cultivo	30
6.9	Cosecha	31
6.10	Calidad del fruto.....	32
7.-	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
7.1	Colonización bacteriana en la raíz.....	34
7.2	Formación de racimos florales	35
7.3	Producción.....	36
7.4	Clasificación del fruto.....	37
7.5	Calidad nutrimental	38
8.-	CONCLUSIONES.....	40
9.-	LITERATURA CITADA	42
10.-	ANEXOS.....	50

ABREVIATURAS EMPLEADAS EN EL TRABAJO

Medios de cultivo:

Nfb ss Nitrogen Free Biotin semisólido. Medio carente de nitrógeno.

CN Caldo nutritivo.

SSI Solución Salina Isotónica.

Tratamientos:

TT Testigo fertilizado al 100% (dosis óptima).

TF Testigo fertilizado con el 50% de la dosis óptima.

LS Biofertilizante líquido aplicado en semilla.

LP Biofertilizante líquido aplicado en plántulas de 15 días de crecimiento.

Relaciones de fertilización química:

NP Nitrógeno-Fósforo.

NK Nitrógeno-Potasio.

PK Fósforo-Potasio.

NPK Nitrógeno-Fósforo-Potasio.

Otros:

PGPR Rizobacterias promotoras del desarrollo vegetal (Plant Growth Promoting Rhizobacteria).

DES Diferencias Estadísticamente Significativas.

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Lista de tablas.

Tabla 5-1 Producción anual de jitomate en el ámbito mundial.	17
Tabla 5-2 Producción de jitomate de los estados más representativos.	18
Tabla 5-3 Exportación por año (Ton/m ²).	19
Tabla 5-4 Composición nutrimental promedio de jitomate.	20
Tabla 6-1 Densidad celular recomendada para la preparación de diferentes tipos de biofertilizantes.	26
Tabla 6-2 Propiedades físicas y químicas analizadas del suelo y métodos empleados para su determinación.	30
Tabla 7-1 Colonización de <i>A. brasilense</i> en raíces de plantas de jitomate a los 35 días de germinación.	34
Tabla 7-2 Período de formación del primer racimo floral.	35
Tabla 7-3 Efecto de los tratamientos en el peso del fruto.	38
Tabla 7-4 Calidad nutrimental del fruto.	39

Lista de figuras.

Figura 5-1 Participación de los estados de la Republica Mexicana en la producción de jitomate, 2001.	18
Figura 6-1 Programa General de trabajo.	24
Figura 6-2 Ubicación de la zona de origen de la muestra de suelo.	28
Figura 7-1 Aparición temprana de racimos florales y formación de los primeros frutos en plantas de jitomate: a) tratamientos LS, perlas de alginato y LP; b) tratamiento con perlas de alginato.	36
Figura 7-2 Producción de frutos en los primeros cuatro racimos florales de cada tratamiento.	37

1.- INTRODUCCIÓN

El problema de la contaminación ambiental ha determinado la búsqueda de alternativas que conduzcan a la sostenibilidad del medio ambiente y una de éstas corresponde a los llamados biofertilizantes.

Los biofertilizantes son productos constituidos por un soporte y un concentrado de microorganismos (bacterias u hongos) que favorecen la nutrición vegetal. La aplicación de éstos asegura una producción de frutos o granos similar a la obtenida mediante la fertilización química y, por lo tanto, disminuye el uso de agroquímicos.

Algunos ejemplos de bacterias que favorecen la nutrición vegetal corresponden a los géneros *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus* y *Pseudomonas*; éstas actúan a través de uno o más de los siguientes mecanismos: a) Fijación de nitrógeno atmosférico, b) Solubilización de minerales, c) Producción de sideróforos y d) Producción de fitohormonas.

El jitomate es la aportación vegetal de México más extendida en el mundo. La aceptación que tiene en las diversas regiones del planeta se evidencia por ser el segundo producto hortícola en el consumo mundial. Es un importante generador de divisas y empleos para el país.

Con nuestra incorporación al Tratado de Libre Comercio de América del Norte, el nuevo panorama impone estrategias para permanecer y crecer en un mercado altamente competitivo. El jitomate o "tomate rojo" es una de las especies hortícolas más importantes de nuestro país debido al valor de su producción y a la demanda de mano de obra que genera. Es el principal producto hortícola de exportación, ya que representa el 37% del valor total de las exportaciones de legumbres y hortalizas y el 16% del valor total de las exportaciones agropecuarias, sólo superadas por el ganado vacuno.

Se considera que en el ámbito internacional, las hortalizas junto con las frutas ocupan en nuestros días el segundo lugar de los productos agropecuarios, apenas aventajadas por los cereales. Se estima que tan solo dos hortalizas contribuyen con el 50% de la producción en el mundo: la papa y el jitomate, lo cual nos indica el enorme valor que este último cultivo representa no solo en el comercio, sino también en el sistema alimentario mundial.

2.- JUSTIFICACIÓN

El jitomate es el producto vegetal que más divisas y empleos genera por concepto de exportación. La necesidad de mantener o incrementar la producción de este fruto, provocó la sobreexplotación del suelo y un aumento en el uso de agroquímicos, situación que condujo la contaminación de suelos y mantos freáticos, lo que obliga a la búsqueda de alternativas para continuar con el cultivo de esta hortaliza sin detrimento de su calidad ni del ambiente.

Es por ello que en el Laboratorio de Microbiología Experimental se han realizado numerosos estudios de la inoculación de *Azospirillum* en plantas de sorgo, maíz, pepino y jitomate, en los que se ha comprobado su eficiencia al incrementar la producción de estos vegetales, así como la posibilidad de disminuir el fertilizante nitrogenado hasta en un 50% sin deterioro de la producción respecto a la aplicación del 100% de la dosis recomendada. Sin embargo, no existe información referente a la calidad nutrimental de los frutos sometidos a estos tratamientos. Así mismo, tampoco hay datos comparativos sobre el efecto de los soportes o de la forma de aplicación.

3.- HIPÓTESIS

Si se aplican biofertilizantes a semillas o plántulas de jitomate, entonces la calidad nutrimental se mantendrá igual a la obtenida con la fertilización química.

4.- OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

- Evaluar la producción y calidad nutrimental de jitomate tratado con tres diferentes presentaciones de biofertilizantes a base de *Azospirillum*.

4.2 Objetivos particulares

- Comparar la producción y calidad nutrimental de frutos de jitomate provenientes de plantas:
 - A) Fertilizadas químicamente e inoculadas con *Azospirillum*.
 - B) Inoculadas con biofertilizante líquido, turba o perlas de alginato.
 - C) Adicionadas de biofertilizante líquido aplicado en semilla o plántulas.
- Seleccionar el tratamiento que produzca frutos de jitomate:
 - A) En mayor cantidad y con mejor peso.
 - B) Con mayor calidad nutrimental.

5.- MARCO TEÓRICO

5.1 Biofertilizantes

5.1.1 Definición e importancia

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

- Fijación de nitrógeno atmosférico. Su reducción a amonio le permite ser utilizado tanto por las mismas bacterias como por los vegetales.
- Solubilización de minerales. Se traduce en un aumento de la disponibilidad de nutrimentos.
- Producción de sideróforos. Compuestos orgánicos quelantes que acomplejan al hierro oxidado, el cual es reducido a la forma disponible para las bacterias y las plantas.
- Producción de fitohormonas. Algunas de estas estimulan el crecimiento de las raíces favoreciendo una mayor absorción de agua y nutrimentos.
- Mineralización de materia orgánica. Este mecanismo asegura la liberación de compuestos que son fácilmente asimilados por las plantas (Glick *et al.*, 2001).

5.1.2 Presentación comercial

La formulación de cualquier biofertilizante agrícola de buena calidad requiere para su producción comercial del cumplimiento de variables físicas, químicas y biológicas que aseguren que el producto contenga poblaciones elevadas de los microorganismos de interés y permita su sobrevivencia por períodos prolongados de almacenamiento.

La turba es materia orgánica que se utiliza como el soporte más común y ampliamente distribuido (Fages, 1992) lo que probablemente se debe a que ofrece la mayoría de las características mencionadas, así como se ha demostrado que las bacterias al ser inoculadas en la turba permanecen metabólicamente activas, cuando ésta tiene los nutrientes suficientes y se conserva a la temperatura adecuada, en algunas ocasiones la multiplicación continúa durante el periodo de almacenamiento (Bashan y Carrillo, 1996).

No obstante, presenta algunas desventajas como son: a) la gran variabilidad de la calidad, después de la esterilización por calor o por radiación, b) liberación de compuestos tóxicos, ambos factores afectan la calidad del producto final (van Elsas y van Heijnen citados por Bashan y Carrillo, 1996) c) la disponibilidad de la turba es restringida en algunos países debido a que no cuentan con depósitos de este material.

Los biofertilizantes son comercializados en tres presentaciones que se describen a continuación:

- Líquidos. Corresponden a caldos bacterianos. Estos cultivos en ocasiones se mezclan con aceite mineral ó compuestos orgánicos. Se aplican sobre las semillas o directamente en el suelo (Bashan y Carrillo, 1996). Son fácilmente manejables y se recomienda el almacenamiento a temperaturas bajas lo cual aumenta los costos (Ramírez-Gama, 2002; Bonifaz-Gutiérrez, 2005).
- Polvo. Es la forma más difundida y están constituidos por partículas de un tamaño que fluctúa entre 0.075 y 0.25 μm . Se aplican sobre las semillas antes de la siembra y la cantidad que se emplea es alrededor de 200 a 300 g ha^{-1} (Ramírez-Gama, 2002). Son de fácil aplicación, la adhesión a semillas es pobre y se utiliza más biofertilizante para su aplicación (Ramírez-Gama, 2002; Bonifaz-Gutiérrez, 2005).
- Granulares. La producción de éstos es más reciente, el tamaño de partícula se encuentra entre 0.35 a 1.18 mm. Se aplican directamente al suelo o debajo de las semillas en cantidades de 5 a 30 kg ha^{-1} (Ramírez-Gama, 2002). Son de fácil aplicación, requieren de equipos que incluyan sistemas con funciones múltiples

(liberación de semillas, fertilizantes y biofertilizantes) y se requiere de grandes espacios para su almacenamiento (Ramírez-Gama, 2002; Bonifaz-Gutiérrez, 2005).

Actualmente, está en estudio una nueva presentación que aún no se comercializa:

- Perlas de alginato. Las perlas pueden ser de tamaño pequeño cuando son liofilizadas (100 a 200 μm) o grandes para su empleo recién elaboradas (1 a 3 mm de diámetro). Son fáciles de manipular, el encapsulamiento protege a las bacterias del estrés permitiendo su liberación gradual al medio ambiente. Sin embargo, requieren de un sistema más complicado lo que aumenta el costo de producción. (Ramírez-Gama, 2002; Bonifaz-Gutiérrez, 2005).

5.1.3 Formas de aplicación

El uso de cada tipo de inoculante depende de su disponibilidad en el mercado, costo, equipo disponible y necesidades de cultivo bajo condiciones específicas, por ejemplo la forma granular es mejor que los inoculantes en polvo con rhizobia cuando la plantación se hace bajo condiciones de estrés, pero se requiere de mayor cantidad y por lo tanto se incrementa el costo (Smith, 1992).

La aplicación de biofertilizantes puede realizarse en los siguientes momentos:

- Meses antes de la siembra. Se mezcla la semilla y el biofertilizante, proceso realizado por la compañía que comercializa las semillas.
- En el momento e *In situ*, se puede efectuar:
 - Justo antes de la siembra. El biofertilizante se mezcla con las semillas y el adherente. Se aplica al suelo con sembradora en la cavidad preparada para colocar las semillas.
 - Después de la germinación. El biofertilizante se coloca cerca de las raíces de las plántulas.

La biofertilización *in situ* es la más utilizada, debido a su bajo costo, no obstante presenta algunas desventajas como son: a) requerimiento de trabajo adicional antes de la siembra o

después de la germinación de las semillas, b) posibles daños en las semillas durante el mezclado con el biofertilizante, c) efecto de la radiación UV y condiciones adversas del suelo (pH, sequía, presencia de pesticidas) que ocasionan la disminución de la población de las bacterias introducidas. Por otra parte la utilización de semillas previamente tratadas con pesticidas también ocasiona la disminución de la población bacteriana inoculada (Fages, 1992).

5.2 El género *Azospirillum*

Aún cuando *Spirillum lipoferum* fue descrito en 1925 por Beijerinck, esta bacteria estuvo olvidada por varias décadas. Fueron las observaciones de Peña-Cabriales y Döbereiner en 1973 (Döbereiner, 1983) las que iniciaron los estudios de esta bacteria. Estudios taxonómicos de Tarrand *et al.*, (1978) con *S. lipoferum* condujeron a su reclasificación en un género nuevo: *Azospirillum*.

Actualmente son reconocidas seis especies del género *Azospirillum*: *A. lipoferum* y *A. brasilense* (Tarrand *et al.*, 1978), fueron las dos primeras en describirse y hasta la fecha son las más estudiadas; posteriormente se describieron las especies *A. amazonense* (Magalhães *et al.*, 1983), *A. halopraeferens* (Reinhold *et al.*, 1987), *A. irakense* (Khammas *et al.*, 1989) éstas dos aisladas de suelos alcalinos y *A. largomobile* aislada de lagos de Australia, (Ben *et al.*, 1997) siendo el nombre de esta especie corregido a *A. largimobile* (Sly y Stackebrandt, 1999). Recientemente, en honor de quien impulsara los estudios con este género bacteriano y descubriera otros diazotófos, se ha propuesto la especie candidata *A. doebereineriae* (Hartmann *et al.*, 2000).

Pocos años después del redescubrimiento de *Azospirillum* y hasta alrededor de 1993, este género fue él más estudiado entre las bacterias asociadas a vegetales. Debido a su capacidad para estimular el crecimiento de las plantas y de aumentar la producción de los cereales, ocasionó que se realizaran numerosos estudios sobre la ecología, fisiología y genética de esta bacteria, lo cual ha propiciado que en la actualidad su uso comercial comience a extenderse en diferentes países, incluido México (Caballero-Mellado, 2006).

5.2.1 Características Microscópicas

El género *Azospirillum* pertenece a la subclase alfa de las proteobacterias (Okon e Itzigsohn, 1992), las características más importantes para la identificación de esta bacteria son: la forma vibrioide, el pleomorfismo y su movilidad en espiral, misma que se pierde a las 72 horas en algunas especies (Döbereiner, 1992).

Las bacterias de este género son fijadoras de nitrógeno de vida libre, Gram negativas, su diámetro oscila entre 0.9 y 1.2 μm . Las células presentan en su interior elevadas cantidades de poli- β -hidroxibutirato (PHB) que constituyen hasta un 50% del peso seco celular (Okon *et al.*, 1976), éstas se observan al microscopio como gránulos refringentes en el interior de las células. Diversas funciones fisiológicas son atribuidas al PHB, como por ejemplo permiten una mayor resistencia a la desecación, a la luz ultravioleta y al choque osmótico (Tal y Okon, 1985).

Dependiendo de la edad del cultivo, las células pueden cambiar de forma y producir cistos que desempeñan una función importante en la sobrevivencia de las células en el ambiente cuando los nutrimentos son escasos y previo a la asociación con la planta (Tal y Okon, 1985, Okon e Itzigsohn, 1992).

La movilidad de este género bacteriano se da mediante un flagelo polar, con un movimiento típico helicoidal o vibratorio en medio líquido. Cuando se desarrollan en medios de cultivo sólidos *A. brasilense*, *A. lipoferum* y *A. irakense* presentan un flagelo lateral el cual utilizan para desplazarse sobre la superficie (Steenhoudt y Vanderleyden, 2000).

5.2.2 Características metabólicas y culturales

Las especies de *Azospirillum* crecen bien con ácidos orgánicos como el malato y succinato, pero tienen la capacidad de utilizar diferentes azúcares, así como aminoácidos como fuente de carbono y energía. Estas células son muy versátiles teniendo una amplia variedad de rutas metabólicas para obtener energía (ATP) e intermediarios (Okon, 1985). Se desarrolla bien a pH neutro, aunque algunas especies prefieren condiciones más ácidas. La fijación de

nitrógeno ocurre únicamente en condiciones microaerobias siendo su temperatura óptima de crecimiento de 32-35 °C (Holt, 1994).

El medio de cultivo más utilizado para el estudio de especies de *Azospirillum*, es el Nfb ss compuesto por malato y sales, además de ser un medio carente de nitrógeno. Este medio se emplea para efectuar su enriquecimiento y promover la fijación de nitrógeno, el desarrollo característico de esta bacteria se presenta en forma de una película blanca y densa a 2 mm debajo de la superficie del medio de cultivo, donde existen condiciones microaerobias. La reducción del nitrógeno atmosférico a amonio, provoca la alcalinización del medio y el vire del indicador azul de bromotimol (Holt, 1994).

5.2.3 Características de importancia agronómica

Las bacterias de *Azospirillum* son conocidas desde hace años como un género perteneciente a las PGPR (Okon y Labandera-González, 1994; Okon y Vanderleyden, 1997). Se han realizado diversos experimentos que permiten confirmar la capacidad de *Azospirillum* para promover el desarrollo de las plantas tanto en campo como en invernadero (Bashan y Levanony, 1990).

El aumento del crecimiento de las plantas por *A. brasilense* no se limita únicamente al efecto de la fijación de nitrógeno, sino que existen otros mecanismos propuestos para explicar estos efectos benéficos:

- a) Fijación de nitrógeno: se presenta un incremento en el número de compuestos nitrogenados y la actividad de la nitrogenasa, no obstante este género no excreta cantidades significativas de amonio en crecimiento diazotrófico (Bashan *et al.*, 1989).
- b) Producción de fitohormonas: las auxinas y giberelinas son moléculas que se sintetizan en las plantas y actúan a muy bajas concentraciones regulando su crecimiento, desarrollo y metabolismo; está comprobado que éstas incrementan la velocidad de crecimiento mejorando el rendimiento de las plantas (Barea, 1974; Brown, 1976).

c) Producción de nitritos: los nitritos excretados por *Azospirillum* provocan un incremento en la formación de raíces laterales (Bothe *et al.*, 1992). Este mecanismo se ha propuesto en los últimos años y está poco estudiado (Bashan y Holguin, 1997).

d) Alteración de la permeabilidad de la raíz: las bacterias son capaces de excretar y transmitir señales moleculares indefinidas que pasan a través de la pared celular de las plantas y son reconocidas por sus membranas, en donde se activa una serie de reacciones que provocan la alteración de la permeabilidad (Bashan y Holguin, 1997).

La inoculación con esta bacteria mejora el desarrollo de las raíces (Okon y Kapulnik, 1986; Umali-García *et al.*, 1980), aumentado el aprovechamiento de minerales (Barton *et al.*, 1986; Lyn *et al.*, 1983) y agua por el sistema radical (Sarig *et al.*, 1988).

Para que se lleven a cabo uno o más de los mecanismos de acción, es indispensable que la bacteria colonice las raíces.

Azospirillum ha desarrollado dos formas de unión a la raíz: la primera (fase de adsorción) es débil y se alcanza en corto tiempo de 1-2 h después de incubación en esta etapa la bacteria migra hacia las raíces por quimiotaxis o aerotaxis, o bien, la raíz al crecer alcanza el sitio de aplicación del inoculante. La segunda (fase de anclaje) es más fuerte e irreversible, comienza desde las 8 h y hasta un máximo de 16 h de incubación, esta involucra la elaboración de una red de polisacáridos-proteínas, la cual ancla a la bacteria permanentemente a la superficie de la raíz (Zaady y Okon, 1990, Michiels *et al.*, 1991; Steenhoutd y Vanderleyden, 2000). Posteriormente se lleva a cabo la multiplicación bacteriana formando pequeños agregados, esta forma de unión proporciona la ventaja de competir por los nutrimentos que libera la raíz (Bashan y de-Bashan, 2005).

Todas las propuestas son válidas, no obstante no se ha definido cual de estos mecanismos es el más importante. En este sentido Bashan y Levanony, (1990) indican que estos probablemente se llevan a cabo simultáneamente o de manera secuencial, lo que depende de las condiciones ambientales que predominen.

5.3 El jitomate

El jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es una planta dicotiledónea perteneciente a la familia de las solanáceas. Es un vegetal perenne de porte arbustivo que se cultiva anualmente. La planta se desarrolla bien en un amplio rango de latitudes, tipos de suelos, temperaturas y métodos de cultivo, siendo moderadamente tolerante a la salinidad. Prefiere ambientes cálidos, con buena iluminación y drenaje. La exposición prolongada a temperaturas inferiores a 10 °C, la escarcha, una iluminación diurna inferior a las 12 h, un drenaje deficiente o un abonado nitrogenado excesivo le afectan desfavorablemente.

El jitomate o "tomate rojo" es originario de América del Sur, aunque se considera a México como centro de su domesticación. Con la llegada de los españoles se expandió al viejo continente y de ahí a todo el mundo; gracias a su comercialización y a la difusión lograda, actualmente forma parte de la dieta alimenticia de varias culturas en el globo terráqueo.

En México, como en otras partes del mundo, se prefiere consumir el jitomate fresco, pero también es utilizado como producto industrializado para elaborar pastas, salsas, purés, jugos, etc. Gracias a los avances tecnológicos para su procesamiento y a las modificaciones en los gustos y costumbres de las nuevas generaciones, se exige calidad en cuanto a su distribución y venta en fresco, determinando y condicionando nichos de mercado.

Existen varias clasificaciones del jitomate, en nuestro país ha predominado para su comercialización: su forma, color y tamaño. Entre las variedades destacan principalmente el jitomate "bola", "saladett" o "guajillo" que son las de mayor producción, sin olvidar algunas como el "cherry" cuya participación es reducida.

En México el principal método de siembra utilizado es el de almácigo, que consiste en colocar las semillas en charolas de germinación para transplantarlas posteriormente al sitio destinado para su crecimiento. Últimamente el uso del invernadero ha cobrado fuerza sobre todo en los estados del norte de la República Mexicana, debido a que cuentan con un mejor nivel tecnológico (SIAP, 2006).

5.3.1 Producción a nivel mundial

Según informes de la FAO en el año 2005, la producción mundial de jitomate alcanzó 77,124, 939 toneladas, los principales países productores fueron: China, Estados Unidos de América (EUA) y Turquía, México ocupó el 10^o sitio (Tabla 5-1).

Tabla 5-1 Producción anual de jitomate en el ámbito mundial.

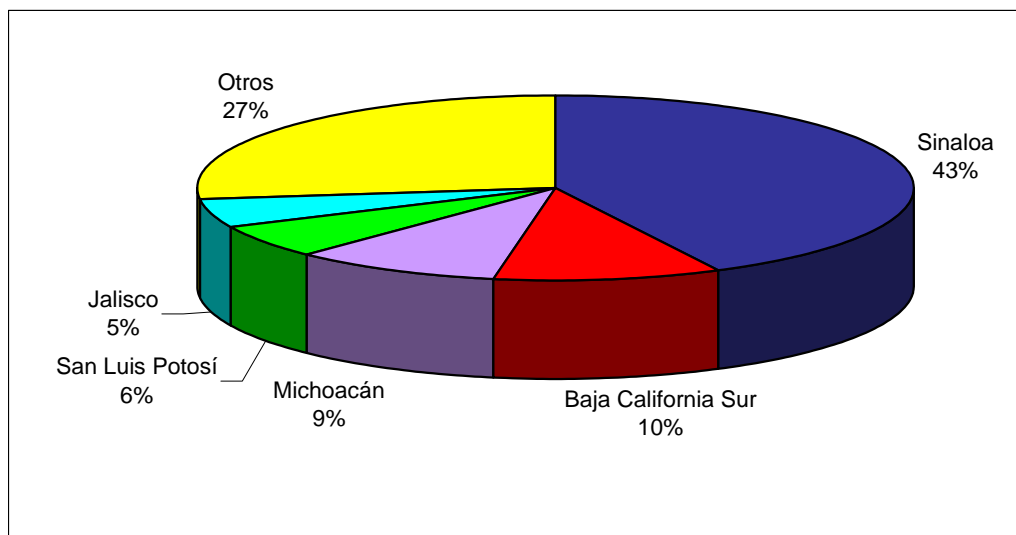
País	Producción (Ton/m ²)		
	2003	2004	2005
1 China	28,842,743	30,143,929	31,644,040
2 EUA	10,382,000	12,766,000	12,766,000
3 Turquía	9,820,000	9,440,000	9,700,000
4 Italia	6,651,505	7,682,504	7,814,899
5 India	7,600,000	7,600,000	7,600,000
6 Egipto	6,780,000	7,640,818	7,600,000
TOTAL	70,076,248	75, 273,251	77,124,939
México	2,148,130	2,148,130	2,148,130

Fuente: Base de Datos FAO. Página de Internet: www.fao.org.

La producción mundial ha tenido un comportamiento positivo durante el periodo de 2003 a 2005, al pasar de 70,076,248 Ton a 77,124, 939 Ton producidas; reflejándose un crecimiento porcentual del 10%. En la mayoría de los países productores de jitomate se registran incrementos significativos, en el caso de Estados Unidos de América de 23%, Italia de 18%, Egipto de 12% y China de 10%, mientras que México se ha mantenido con la misma producción.

5.3.2 Producción en México

En el 2001, el estado con mayor producción de jitomate fue Sinaloa, con casi la mitad de la producción total del país, seguido por Baja California Sur, Michoacán y San Luis Potosí respectivamente (Figura 5-1).



Fuente: SAGARPA, Servicio de Información Estadística y Agropecuaria y Pesquera.

Figura 5-1 Participación de los estados de la República Mexicana en la producción de jitomate, 2001.

Según cifras del Servicio de Información Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) y de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), la producción mexicana de jitomate de los estados más representativos del país es hasta el momento de 855,228 toneladas (Tabla 5-2).

Tabla 5-2 Producción de jitomate de los estados más representativos.

Estado	Producción (Ton)
Sinaloa	749,541
Baja California Sur	51,584.8
Sonora	33,322.5
Michoacán	20,459.2
San Luis Potosí	320.0

Situación al 31 de Mayo 2006.

Fuente: SAGARPA, Servicio de Información Estadística Agropecuaria y Pesquera.

Es importante destacar que del total de la producción de exportación de jitomate en los últimos diez años, poco más del 50% de la producción total se produjo en Sinaloa (Tabla 5-3).

Tabla 5-3 Exportación por año (Ton/m²).

México	2002	2003	2004
Cantidad	848,294	903,384	895,126

Fuente: Base de Datos FAO. Página de Internet: www.fao.org.

La situación geográfica del país y el uso intensivo de tecnologías de producción permite la explotación en dos ciclos agrícolas: primavera-verano (PV) y otoño-invierno (OI). La mayor producción se obtiene durante el último ciclo, aún y cuando en los últimos años la superficie cosechada tiende a ser similar en ambos ciclos (SIAP, 2006).

La información presentada en los párrafos anteriores expone la importancia que el cultivo de esta hortaliza tiene para el país. A pesar de ello, es importante destacar que el cultivo del jitomate enfrenta diferentes problemas entre los cuales destacan:

- a) Uso excesivo de agroquímicos: se calcula que se necesitan 115 diferentes tipos para su producción.
- b) Corta vida de anaquel: el uso de sistemas sofisticados como las atmósferas modificadas, para alargar la vida de anaquel implica un elevado costo.
- c) Régimen de humedad: el cultivo de jitomate en nuestro país es predominantemente de riego alrededor del 85%, siendo el restante 15% de temporal (SIAP, 2006).

5.3.3 Valor nutrimental

La composición química de los frutos del jitomate depende de factores tales como la variedad, madurez, condiciones ambientales y de cultivo. Los constituyentes químicos son importantes para evaluar la calidad con respecto a color, textura, apariencia, valor nutritivo, gusto y sabor de los frutos. En la Tabla 5-4 se presenta la composición química de este fruto para su comercialización en fresco.

Tabla 5-4 Composición nutrimental promedio de jitomate.

Constituyentes	Contenido (por 100 g de porción comestible)
Energía (kJ)	56
Constituyentes brutos (g)	
Agua	94,7
Grasa	0,1
Fibra dietética	1,6
Carbohidratos (g)	
Glucosa	0,9
Fructosa	1,0
Ácidos orgánicos (g)	
Cítrico	0,43
Málico	0,08
Vitaminas (mg)	
Vitamina C	18
Tiamina	0,04
Riboflavina	0,02
Ácido nicotínico	0,7
Licopeno	1.5-2
B-Caroteno (equivalente)	0,34
Minerales (mg)	
Potasio	200
Sodio	6
Calcio	8
Magnesio	10
Hierro	0,3
Cinc	0,2

Fuente: (McGlasson, 1993).

Los sólidos solubles en los jitomates son predominantemente azúcares, los cuales contribuyen al sabor de forma importante. En general, el sabor del fruto llega a ser más intenso cuando el contenido de azúcares alcanza su máximo. No obstante los ácidos cítrico y málico son los ácidos orgánicos que más contribuyen al típico sabor del fruto del jitomate.

El fruto del jitomate es una buena fuente de ácido ascórbico en la dieta. El contenido medio de vitamina C está en torno a 25 mg/100 g de sustancia seca; sin embargo, los valores dependen de las variedades del fruto, asimismo se ha encontrado que se presentan incrementos en el contenido de ácido ascórbico durante la maduración. Las variedades de jitomate que maduran a mayor velocidad contienen mayores cantidades de Vitamina C cuando se comparan con aquellos que maduran a una velocidad más lenta. Los frutos expuestos directamente a la luz solar contienen una concentración de este compuesto más alta que aquellos madurados a la sombra. El jitomate también contiene ácido fólico, ácido pantoténico, biotina y vitamina K, además de ácido nicotínico, riboflavina y tiamina (Salunkhe y Kadam, 2004).

En lo que respecta a la textura del fruto la pectina contribuye significativamente, el contenido y composición depende del grado de maduración de los frutos.

El color es tal vez el índice más fiable e importante de madurez del jitomate. Las clorofilas a y b son los principales pigmentos del fruto del jitomate hasta el estado verde maduro, mientras el típico color rojo de los jitomates maduros es principalmente debido al licopeno. Se ha demostrado que el fruto verde maduro contiene sólo α y β -carotenos. El β -caroteno y el licopeno contribuyen en un 7% y 87% respectivamente a los carotenoides en el fruto de jitomate rojo normal. También se mostró que el color de los jitomates rojos dependía de los carotenoides totales además de la relación entre los pigmentos dominantes licopeno (color rojo) y β -caroteno (color amarillo) (Salunkhe y Kadam, 2004).

Aunque los minerales representan una pequeña fracción de la materia seca del fruto (Tabla 5-4), juegan un importante papel en la composición nutrimental de los frutos. En general, el contenido mineral aumenta durante el crecimiento y la maduración de los frutos del jitomate. Además, debido a las grandes cantidades consumidas, los jitomates son importantes fuentes de potasio en la dieta. (McGlasson, 1993; Salunkhe *et al.*, 1974).

5.3.4 Índices de calidad

La calidad del jitomate estándar se basa principalmente en la forma y en la ausencia de defectos de crecimiento y manejo. El tamaño no es un factor que defina el grado de calidad, pero puede influir de manera importante en las expectativas de su calidad comercial.

Forma. Bien formado redondo, forma globosa, globosa aplanada u ovalada. (Dependiendo del tipo).

Color. Color uniforme (anaranjado-rojo a rojo intenso; amarillo claro).

Apariencia. Lisa y con las cicatrices correspondientes a la punta floral y al pedúnculo. Ausencia de grietas de crecimiento, cara de gato (catfacing), sutura (zippering), quemaduras de sol, daños por insectos y daño mecánico (magulladuras).

Firmeza. Firme al tacto. No debe estar suave ni se debe deformar fácilmente debido a sobremadurez. (Trevor *et al.*, 2006).

5.4 Biofertilización de jitomate con *Azospirillum*

En estudios de invernadero con cepas Nif⁺ y Nif⁻ realizados por Bashan *et al.*, (1989) se observaron incrementos en la altura de plantas de 34 días, mayor diámetro del tallo, número de hojas y peso seco en plantas de 45 días con ambas cepas ($p < 0.05$) con lo que se confirmó el efecto de *Azospirillum*, pero concluyeron que éste no puede ser atribuido únicamente a la fijación de nitrógeno.

En otro estudio realizado con 5 especies de *Azospirillum* (*A. brasilense*, *A. lipoferum*, *A. amazonense*, *A. halopraeferens* y *A. irakense*) se demostró que este microorganismo no causa síntomas de enfermedad visible en raíces y hojas de jitomate, tampoco inhibe la germinación ni reduce el peso seco de las plantas cuando se inoculan por técnicas estandarizadas para patógenos. *A. amazonense*, *A. halopraeferens* y *A. irakense* no tienen efecto sobre el crecimiento de las plantas, en tanto que *A. brasilense* y *A. lipoferum* incrementan el peso seco de las mismas (Bashan, 1998).

Medina *et al.*, (2000) evaluaron la respuesta del cultivo de jitomate a la aplicación de inóculos basados en bacterias rizosféricas. En este trabajo se evaluó el efecto de la biofertilización con bacterias PGPR solas y con fertilizantes químicos variando las relaciones NP, NK y PK en fase de semilleros y de transplante, teniendo efecto sobre la altura, masa fresca de las plántulas al transplante, el número de frutos y rendimiento agrícola en el cultivo del jitomate, comparado con un testigo fertilizado y un control sin fertilizar. Los resultados manifestaron el mejor comportamiento con el tratamiento *A. brasilense* más NK en semilleros y la relación nutricional NPK en transplante.

Díaz e Iglesias (2002), analizaron el efecto de la inoculación con *Azospirillum brasilense* en el desarrollo del cultivo en invernadero, donde se observó que la práctica de inoculación con esta bacteria favoreció el desarrollo del cultivo, siendo promisorio para reforzar la producción del jitomate.

En la Facultad de Química de la UNAM, se han realizado experimentos con diferentes cepas de *Azospirillum* utilizando un soporte líquido (medio de cultivo Malato Sales), con una densidad poblacional entre 10^5 y 10^8 UFC/mL, en cultivos de jitomate. En éstos se reporta que: a) Se requiere diferente densidad poblacional para obtener efectos positivos cuando se emplea el biofertilizante en sistemas hidropónicos o suelo; b) En ambos casos la floración se anticipa en los tratamientos inoculados con respecto al control sin inocular, c) Ocurre un incremento en el diámetro del tallo de las plantas, d) Se presentan incrementos de 25% a 52% en la producción y e) Es posible reducir la fertilización química al 50% (Esquivel-Cote *et al.*, 2004; Ramírez-Gama *et al.*, 2001; Urzúa, 1997; Urzúa, 2001).

Estos resultados proveen la evidencia experimental para considerar segura y promisorio la inoculación de *Azospirillum* en jitomate.

6.- MATERIALES Y MÉTODOS

Para el cumplimiento de los objetivos planteados en la realización de este trabajo, se siguió la metodología mostrada en la Figura 6-1.

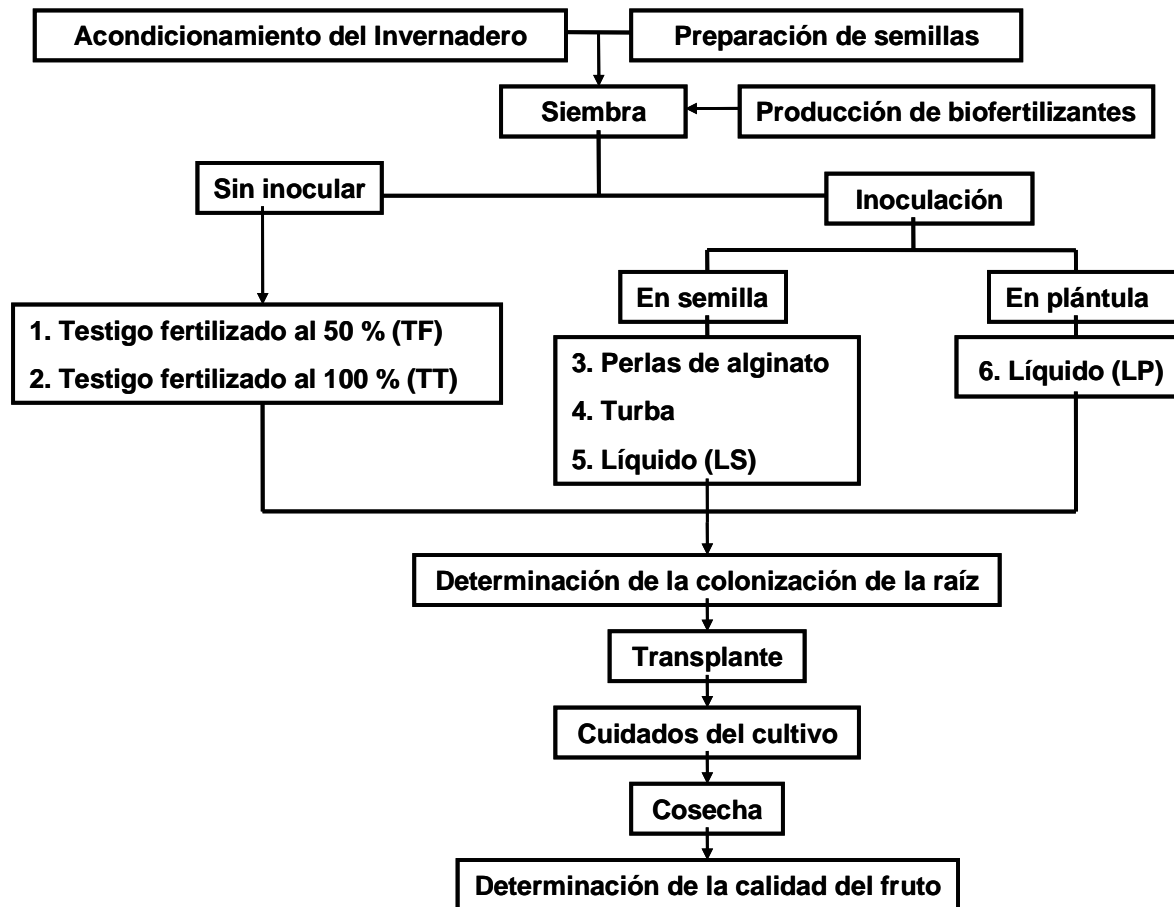


Figura 6-1 Programa General de trabajo.

6.1 Material biológico

- a) Semillas. Se utilizaron semillas certificadas de jitomate (*Lycopersicon esculentum*), tipo bola, variedad caimán.
- b) Bacteria. Para la producción de biofertilizantes se empleó la cepa VS9 de la especie de *Azospirillum brasilense* perteneciente a la colección del Laboratorio de Microbiología Experimental de la Facultad de Química de la UNAM.

6.2 Acondicionamiento del invernadero

El invernadero se lavó con agua y jabón, para después desinfectarlo con los vapores producidos por una mezcla de formaldehído y permanganato de potasio (combinación que se recomienda para la fumigación gaseosa de recintos cerrados). Posteriormente se ventiló por 24 h para eliminar los vapores residuales y se prosiguió al ajuste de los valores de temperatura y humedad requeridos que corresponden a 18/30 °C (noche/día) y 70% humedad relativa. Estas condiciones se mantuvieron durante todo el experimento.

6.3 Preparación de semillas

Las semillas se colocaron en un matraz con agua estéril y se agitaron vigorosamente (con un vortex) para eliminar el fungicida con el que se encontraban recubiertas, debido a que éste inhibe el desarrollo de *Azospirillum*. Este paso se repitió hasta eliminar el fungicida por completo.

6.4 Producción de biofertilizantes

Se prepararon tres presentaciones de biofertilizantes, uno en forma líquida y dos en forma sólida. Uno de los sólidos fue el tradicional a base de turba y el otro con un soporte novedoso, perlas de alginato.

PREPARACIÓN DE SOPORTES.

Líquido.

El soporte empleado corresponde al medio de cultivo caldo nutritivo que también se usa para la propagación del microorganismo. El pH del medio se ajustó entre 6.8-7.0 y se esterilizó en autoclave a 121 °C, con una presión de 15 lb/in² durante 15 minutos.

Sólidos.

Turba molida. Se pesaron 1000 g de turba la cual se pulverizó en un molino de martillos (Micro Pulverizer) con lo cual se obtuvieron partículas de 0.075 a 0.25 mm de diámetro. Posteriormente se neutralizó el pH con carbonato de calcio, y se esterilizó en autoclave a 121 °C, presión de 15 lb/in² durante 2 h.

Perlas de alginato de sodio. Se pesaron 15 g de alginato de sodio de 3500 cps y 5 g de alginato de sodio de 14 000 cps (Sigma), los cuales se disolvieron en 800 mL de agua destilada. Esta mezcla se esterilizó en autoclave a 121 °C, presión de 15 lb/in² por 15 minutos.

PREPARACIÓN DEL INÓCULO.

Activación. A partir del cultivo stock en el que se verificó la pureza, se efectuó una resiembra en tres tubos que contenían 10 mL de medio Nfb ss, los cuales se incubaron a 35 °C por 72 h.

Adaptación. La adaptación de la cepa se llevó a cabo en un nuevo medio de cultivo, para ello se transfirieron cinco asadas del cultivo anterior en matraces de 250 mL con 125 mL de CN. Los matraces se incubaron a 35 °C en una incubadora orbital con una velocidad de agitación de 150 rpm por 72 h.

Propagación. Del cultivo anterior se transfirieron alícuotas de 5 mL a matraces con 125 mL de CN, se incubó a 35 °C a 150 rpm por 24 h. Tiempo en el cual la cepa se encuentra en la fase logarítmica.

Estandarización de la densidad poblacional. Con base en la densidad óptica recomendada para las diferentes presentaciones de biofertilizantes, a los cultivos de propagación se les adicionó el medio CN para ajustar su densidad celular a las indicadas en la Tabla 6-1:

Tabla 6-1 Densidad celular recomendada para la preparación de diferentes tipos de biofertilizantes.

Biofertilizante	A ₅₆₀	Referencias
Líquido	0.009	0.008 (Urzúa, 2001; Esquivel 2002)
Turba en polvo	0.013	0.015 (Hernández y Ruíz 1987)
Perlas de alginato	1.951	1.0 – 2.0 (Bashan, 1986)

PREPARACIÓN DE BIOFERTILIZANTES.

Biofertilizante líquido. La suspensión de la población bacteriana estandarizada constituye el biofertilizante (Bashan y Carrillo, 1996).

Biofertilizante a base de turba. Mezcla 1:1 turba:inóculo, envasado y madurado por 7 días a temperatura ambiente (Córdova, 1985).

Biofertilizante en perlas de alginato de sodio. 200 mL de la suspensión bacteriana estandarizada se mezclaron con el alginato de sodio estéril. Para la producción de las perlas, la suspensión anterior se goteó en una solución de cloruro de calcio al 2.0% en agitación, posteriormente las perlas se lavaron con SSI estéril, posteriormente se realizó un enriquecimiento de la población al agregarles CN e incubando durante 24 h a 35 °C y a una agitación de 200 rpm. El medio se drenó y las perlas se deshidrataron colocándolas en una campana de flujo laminar durante 12 h (Bashan *et al.*, 2002).

6.5 Siembra e inoculación de semillas

SUSTRATOS.

- a) Almácigo. Se empleó turba sin esterilizar ni moler en charolas de germinación.
- b) Transplante. A partir del transplante se utilizó suelo no estéril procedente de Amayuca, Morelos (Figura 6-2), ajustado a un pH 6.8 y mezclado con agrolita en una proporción de 70:30 P/P. Esta mezcla se distribuyó en bolsas negras de 12 L de capacidad.



Figura 6-2 Ubicación de la zona de origen de la muestra de suelo.

TESTIGOS.

Las semillas tratadas se colocaron directamente en las charolas de germinación.

1. Tratamiento sin inocular (testigo fertilizado al 50%).
2. Tratamiento sin inocular (testigo fertilizado al 100%).

La fertilización realizada se describe en la página 31 en el apartado de fertilizantes químicos.

TRATAMIENTOS CON BIOFERTILIZANTES SÓLIDOS.

Estos tratamientos fueron fertilizados al 50% de la dosis recomendada con fertilizantes químicos en las cantidades mencionadas en la página 31.

3. Perlas de alginato: En cada cavidad de las charolas de germinación se colocó a 1 cm de profundidad en el soporte o sustrato una semilla y junto a ésta 0.5 g de perlas de alginato con el microorganismo inmovilizado de acuerdo con lo recomendado por Bashan y Carrillo, (1996) para este tipo de inoculantes.

4. Turba: En una caja Petri estéril se colocó un gramo de semillas previamente lavadas, se agregaron 5 mL de adherente (goma arábiga 40%) y 0.005 g del biofertilizante, posteriormente se agitaron hasta lograr el recubrimiento de las semillas y se distribuyeron en charolas de germinación (Bashan y Carrillo, 1996).

TRATAMIENTOS CON BIOFERTILIZANTE LÍQUIDO.

5. Inoculación en semilla: Las semillas se embebieron en 20 mL del biofertilizante durante una hora a temperatura ambiente. Posteriormente se sembraron 20 semillas en charolas de germinación colocando una en cada cavidad.

6. Inoculación en plántulas: Se colocó una semilla en cada cavidad de las charolas de germinación. A los 15 días de crecimiento de las plántulas se agregaron 20 μ L del inoculante cerca de la raíz (Bashan y Carrillo, 1996).

6.6 Colonización de raíz

A los 35 días se seleccionaron al azar cinco plántulas de cada tratamiento. A las raíces se les eliminó el soporte adherido mediante lavados superficiales, se colocaron en cajas de Petri, se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante un minuto y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril. Se tomó un gramo de raíz y se maceró en 9 mL de agua destilada estéril y a partir de esta suspensión se realizaron diluciones decimales hasta 10^{-5} . Posteriormente se inocularon series de cinco tubos con Nfb ss con 1 mL de las diluciones 10^{-3} hasta 10^{-5} de cada uno de los tratamientos. Los tubos se incubaron a 37 °C y la lectura se realizó a las 72 hrs.

6.7 Transplante

Después de haber verificado la colonización en las raíces se procedió a la selección de las plántulas más vigorosas. A los 42 días, las plantas fueron sacadas del contenedor en condiciones de baja luminosidad y temperatura para evitar la deshidratación y se transplantaron a bolsas con suelo mezclado con agrolita. A la mezcla contenida en las bolsas previamente se les adicionó un riego pesado de pretransplante, después se procedió a

realizar una cavidad de aproximadamente 10 cm de profundidad en el sustrato. Enseguida se depositó una planta por cavidad, se acomodó y ajustó con suelo húmedo hasta llenar el hueco. Inmediatamente después se dio un riego muy ligero para evitar que las plantas resintieran el transplante. (SARH, 1984).

6.8 Cuidados del cultivo

Riego. Del momento de la siembra hasta los 42 días se regó con agua estéril cada tercer día. Posteriormente el riego se aplicó de acuerdo con el clima y el desarrollo de la planta.

Fertilización. Conforme con los resultados del análisis fisicoquímico del suelo (Tabla 6-2) se eligió la dosis de fertilización adecuada, la cual se aplicó antes del transplante de acuerdo con lo indicado: fertilización al 50% (testigo y tratamientos inoculados) y fertilización al 100%.

Tabla 6-2 Propiedades físicas y químicas analizadas del suelo y métodos empleados para su determinación.

Determinación	Método	Resultado
Materia orgánica	Walkley y Black	1.61 %
Nitrógeno	Arrastre de vapor	37.10 mg/kg
Fósforo	Olsen-Bray P-1	11.16 mg/kg
Calcio	Absorción Atómica con llama de N ₂ O y C ₂ H ₂	1399 mg/kg
Capacidad de intercambio catiónico	Acetato de amonio 1.0 N pH= 7.0 Centrifugación	10.84 C mol (+) kg ⁻¹

Realizados por el Laboratorio Central Universitario de la Universidad Autónoma de Chapingo. Departamento de Suelos.

Fertilizantes químicos.

Superfosfato triple, cloruro de potasio y sulfato de amonio. Antes del trasplante y de acuerdo con los resultados del análisis de contenido de nitrógeno y fósforo en el suelo, se decidió emplear la dosis de fertilización en el testigo con el 100% (100-150-300) recomendada por López, (1994). La mitad del fertilizante pesado se empleó para la dosis al 50% aplicada en TF y tratamientos inoculados.

Durante la fructificación y recolección de los frutos se aplicaron cada 20 días los siguientes fertilizantes:

Sulfato de potasio. Para la fertilización química al 50% y los tratamientos inoculados se utilizaron 0.628 g, para la fertilización al 100% se utilizaron 1.256 g adicionados en 50 mL de agua para cada planta.

Sulfato de magnesio. Para la fertilización química al 50% y los tratamientos inoculados se utilizaron 0.1256 g, para la fertilización al 100% se utilizaron 0.2512 g adicionados en 50 mL de agua para cada planta.

Entutorado. Con el fin de evitar la ruptura de los tallos, a los 60 días las plantas se fijaron a cuerdas de hilaza colgadas del techo procurando que quedaran bajo un par de hojas consistentes.

Poda. El corte de los brotes axilares o chupones se efectuó cuando éstos alcanzaron la longitud de una pulgada.

6.9 Cosecha

La calidad del jitomate al momento de cosechar, depende de la eficiencia con que se hayan realizado las prácticas de cultivo, además de las condiciones del clima durante el ciclo.

Para cosechar se tomaron las siguientes medidas que determinan la calidad del fruto obtenido:

a) Los frutos se cortaron cuando alcanzaron la etapa de madurez conocida como “turning”, puesto que los frutos maduros están más expuestos a los daños mecánicos por su menor resistencia.

b) Se evitó la exposición directa al sol del jitomate cosechado, con el fin de no acelerar la maduración. Inmediatamente después del corte, los frutos se llevaron a refrigeración a 4 °C; para posteriormente realizar las determinaciones de la calidad (SARH, 1984).

6.10 Calidad del fruto

Peso del fruto. Se midió el peso de cada fruto en una balanza granataría marca OHAUS con una sensibilidad de 0.01- 2610 g.

Selección y Clasificación por peso. Se realizó la selección y clasificación del fruto mediante intervalos de peso arbitrarios: tipo A 180 – 121 g, tipo B 120 – 61 g y tipo C < 60 g.

pH del fruto. Se maceró el fruto en un mortero con pistilo de porcelana, para después verter el extracto en un vaso de precipitados de 250 mL donde se midió su pH utilizando un potenciómetro marca OAKTON modelo WD-35615-Serie con una precisión de 0.01.

Determinación de ácido ascórbico (Vitamina C). Método de titulación descrito en la AOAC (1990). A continuación se detalla la preparación de las soluciones:

SOLUCIÓN DE EXTRACCIÓN. Se disolvieron 15 g de ácido fosfórico en 40 mL de ácido acético y 200 mL de agua destilada. La solución anterior se aforó con agua destilada hasta completar un volumen de 500 mL y posteriormente se filtró.

SOLUCIÓN ESTÁNDAR. Se disolvieron 0.05 g de ácido ascórbico en 45 mL de la solución de extracción y se aforó a un volumen 50 mL con agua destilada.

SOLUCIÓN ESTÁNDAR DE INDOFENOL. Se disolvieron 0.05 g de 2,6-diclorofenolindofenol (sal sódica) en 50 mL de agua la cual contenía 42 mg de bicarbonato de sodio. Posteriormente se diluyeron en 200 mL de agua destilada. Esta solución se filtró y

estandarizo por titulación con 2 mL de solución estándar de ácido ascórbico añadidos a 5 mL de la solución de extracción.

INDICADOR. Se disolvieron 0.1 g de azul de timol en 10.75 mL de solución de hidróxido de sodio 0.02 N, a continuación se aforó con 250 mL de agua de destilada.

Para llevar acabo esta técnica se pesaron 10 g de fruto macerado, los cuales se colocaron en un matraz aforado de 100 mL, añadiéndose 50 mL de solución de extracción, esto con el fin de inactivar a la enzima ascorbato oxidasa endógena, para posteriormente aforar con agua destilada. Se tomó una alícuota de 5 mL y se valoró con la solución estándar de indofenol hasta que se obtuvo una coloración rosa durante 15 s, el valor obtenido fue corregido con un blanco el cual contenía una cantidad equivalente de la solución de extracción usada en la muestra. Esta determinación se realizo por triplicado y los resultados se expresan en mg/100 g. Los cálculos se presentan en el Anexo 2.

Determinación de licopeno. Se realizó un extracto de 10 g de tejido de jitomate, éste se colocó en un embudo de separación para agregar el disolvente orgánico, el cual consistió en una mezcla de hexano: acetona en una proporción 1:2 agitando fuertemente para favorecer la separación y disolución de los pigmentos de las membranas (la reacción se llevó a cabo en condiciones de oscuridad). A continuación se realizó la separación de la fase acuosa (más densa) de la orgánica (menos densa, en la parte superior). La fase orgánica se separó en tubos de ensaye, tomando la lectura de la absorbancia a 502 nm en un espectrofotómetro UV/visible Ultrospec 3000, manejándose como blanco hexano. La concentración de licopeno se calculó con el coeficiente de extinción ($E\%$) = 3.450. Los resultados se expresan en mg/100 g de tejido (González, 2004). Los cálculos se presentan en el Anexo 2.

El análisis estadístico de ácido ascórbico y licopeno se realizó con el software SPSS v.12.0, para lo cual se empleó el análisis de varianza simple (ANOVA una vía) con un nivel de significancia del 95 % ($p < 0.05$). En las variables donde hubo DES se aplicó la prueba de comparación de medias Tukey.

7.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Colonización bacteriana en la raíz

En la Tabla 7-1 se observa que en las raíces procedentes de los testigos no se detectó la presencia de *Azospirillum*, además se confirmó la presencia del microorganismo en las raíces de las plantas biofertilizadas. También se destaca una mayor presencia microbiana en las raíces procedentes de los biofertilizantes a base de perlas de alginato y LS. Esto coincide con lo reportado por Bashan (1998), Esquivel (1997) y Urzúa (2001), quienes demostraron la colonización de raíces de jitomate por *Azospirillum* cuando se aplicaron biofertilizantes líquidos; y con lo reportado por Domínguez-Calderón *et al.*, (2006) quienes reportan una mayor colonización en raíces de pepino inoculadas con perlas de alginato en comparación con aquellas tratadas con un biofertilizante líquido.

Tabla 7-1 Colonización de *A. brasilense* en raíces de plantas de jitomate a los 35 días de germinación.

Tratamientos	NMP de <i>A. brasilense</i> / g de raíz
TF	0
TT	0
Perlas	$>10^5$
LS	9297
Turba	543
LP	638

7.2 Formación de racimos florales

Los primeros racimos florales se formaron en los tratamientos inoculados con perlas de alginato y LS a los 55 días después de la siembra Tabla 7-2 y Figura 7-1a, en tanto que en las plantas no inoculadas ocurrió 10 días después, período en el cual algunas de las plantas inoculadas ya presentaban dos racimos florales o bien ya tenían frutos Figura 7-1b.

La aparición temprana de racimos florales en plantas inoculadas con *Azospirillum* fue reportado por Okon y Labandera-González (1994) al emplear cereales y pastos forrajeros, así como por Esquivel (1997) y Urzúa (1997 y 2001) en estudios con jitomate tipo “saladette”.

Urzúa (2001) y Esquivel (2002) destacan que la formación de racimos florales se refleja en un adelanto de 15 días en la producción; en tanto que en el presente trabajo el período fue de 10 días.

El adelanto en la producción y cosecha, económicamente representa una gran ventaja para el agricultor, por la temprana entrada al mercado de frutos recién cortados, en temporadas con mayor demanda, cuando el producto alcanza su máximo precio de comercialización.

Tabla 7-2 Período de formación del primer racimo floral.

Tratamientos	Tiempo (días)
TF	65
TT	65
Perlas	55
LS	55
Turba	60
LP	60

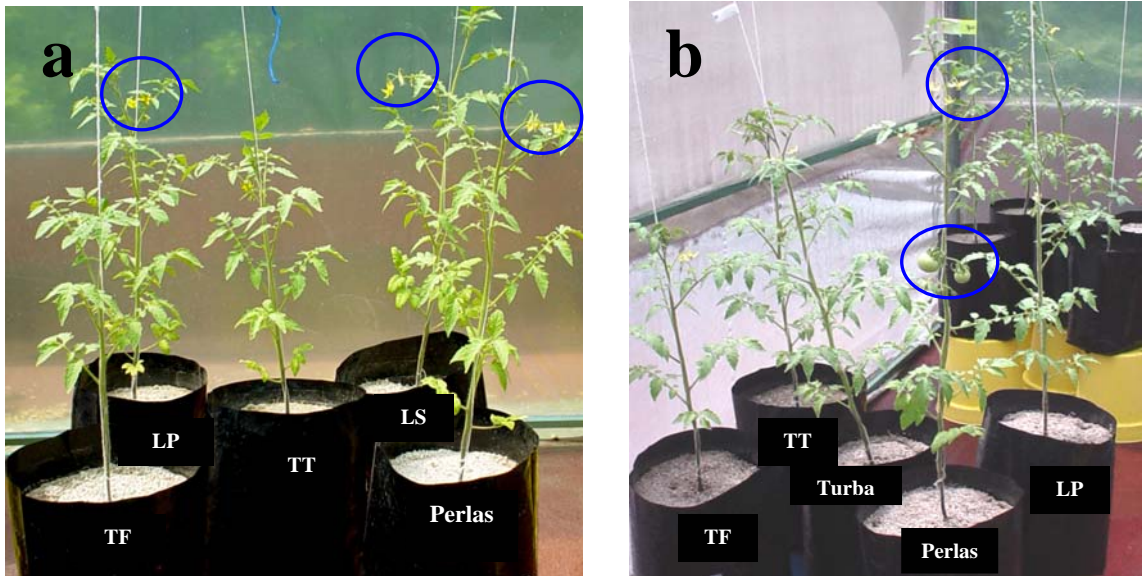


Figura 7-1 Aparición temprana de racimos florales y formación de los primeros frutos en plantas de jitomate: a) tratamientos LS, perlas de alginato y LP; b) tratamiento con perlas de alginato.

7.3 Producción

La Figura 7-2 presenta los resultados de producción de frutos de los primeros cuatro racimos florales por cada tratamiento, en ella se aprecia que:

- a) El tratamiento con la mayor producción es el inoculado con perlas de alginato, el cual presentó incrementos del 1.3% y del 5.5% con respecto al testigo con 100% y 50% de fertilización respectivamente.
- b) El tratamiento LS presenta un incremento del 1.9% con respecto a su testigo (TF), pero es inferior al testigo (TT).
- c) Los tratamientos inoculados con turba y LP presentaron la menor producción de todos los tratamientos.

Diferentes estudios (Bashan, 1997; Urzúa, 2001 y Esquivel, 2002) reportan incrementos entre el 5% y 30% en diferentes vegetales inoculados con *Azospirillum*. Sin embargo, Bashan y Levanony (1990) también mencionan que es posible, aunque poco frecuente, obtener efectos negativos o no observar efecto alguno.

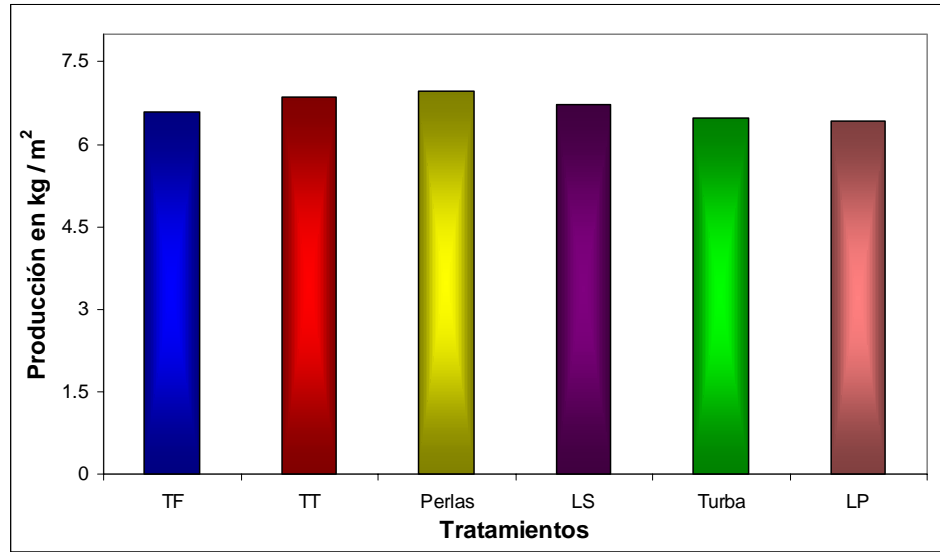


Figura 7-2 Producción de frutos en los primeros cuatro racimos florales de cada tratamiento.

7.4 Clasificación del fruto

En la Tabla 7-3 se observa que los tratamientos inoculados produjeron una mayor cantidad de frutos con respecto a su testigo (TF) y que únicamente el tratamiento inoculado con turba produjo más frutos que el tratamiento con la dosis óptima de fertilización (TT).

Los tratamientos perlas, LS y TF tuvieron el mayor número de frutos tipo A, los dos primeros obtuvieron un número semejante de frutos tipo B de menor calidad comercial y precio, en tanto que el resto de los tratamientos produjo un mayor número de frutos de este tipo. Es importante destacar la baja cantidad de frutos tipo C producidos en la mayoría de los tratamientos, sobresaliendo perlas que no produjo ninguno.

De esta forma, los biofertilizantes reflejan un buen efecto sobre la calidad comercial de los frutos obtenidos en este experimento. El predominio de frutos tipo A y B es muy importante para el agricultor, ya que éstos generalmente se destinan para su exportación, en tanto que los jitomates de tipo C se comercializan en el territorio nacional para consumo local o su industrialización.

Tabla 7-3 Efecto de los tratamientos en el peso del fruto.

Tratamiento	Número de frutos			
	Tipo A 180 – 121 g	Tipo B 120 – 61 g	Tipo C <60 g	Total
TF	24	29	1	54
TT	21	36	1	58
Perlas	28	28	0	56
LS	27	26	2	55
Turba	14	47	1	62
LP	22	31	3	56
Total	136	197	8	341

7.5 Calidad nutrimental

En la literatura revisada no existe información sobre el efecto de los biofertilizantes preparados a base de este organismo, sobre la calidad nutrimental de los jitomates, por lo que este trabajo constituye una de las primeras contribuciones al respecto.

En el análisis estadístico del contenido de la Vitamina C en frutos (Tabla 7-4), se señala que existen DES entre los tratamientos turba, LS, LP y TF con respecto al TT, y que entre turba y LP se presentan incrementos superiores al 13% con respecto a su testigo (TF). Debido a que en la literatura se menciona que este parámetro depende de la variedad, sería necesario experimentar con variedades diferentes para comprobar si el efecto se debe al tipo de presentación e inoculación del biofertilizante.

En la determinación de licopeno se encontraron DES con el biofertilizante a base de turba con respecto a los demás tratamientos (Tabla 7-4). Cabe destacar que la biofertilización con turba incrementa el contenido de licopeno en un 49% con respecto a su testigo (TF), mientras que con los otros tratamientos se mantienen valores semejantes a los testigos. De esta forma se puede afirmar que, con excepción de la turba, los demás biofertilizantes utilizados no influyen en la cantidad de licopeno. En la literatura se cita que el contenido de este pigmento en frutos frescos es de 1.5-2 mg por cada 100 g (Namesny, 2004) en algunas variedades. Esto indica que el contenido de licopeno obtenido en este experimento es bajo de acuerdo con lo reportado en la literatura, sin embargo no se puede asegurar este

comportamiento debido a la falta de información para esta variedad. Además, el hecho de que el mayor contenido se presenta en un solo tratamiento indica un efecto específico de éste en la síntesis del pigmento. Para confirmar esto es necesario realizar un mayor número de experimentos.

En lo que respecta al pH del fruto en la literatura se menciona que debe estar entre 4 y 5 (Namesny, 2004), por lo que se puede decir que los biofertilizantes no influyen en este parámetro como se puede apreciar en la Tabla 7-4.

Tabla 7-4 Calidad nutrimental del fruto.

Tratamientos	Vitamina C (mg/100g)	Licopeno (mg/100g)	pH
TF	11.8384 ^{ab}	0.6945 ^b	4.25
TT	11.4150 ^c	0.6693 ^b	4.29
Perlas	11.6232 ^{bc}	0.7659 ^b	4.28
LS	12.1103 ^{ab}	0.7240 ^b	4.22
Turba	13.6213 ^a	1.0333 ^a	4.27
LP	13.3882 ^{ab}	0.6599 ^b	4.29

Tratamientos con letras idénticas no presentan DES. (Tukey, $\alpha = 0.05$).

8.- CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación se llegó a las siguientes conclusiones:

◇ Se confirmó que *Azospirillum brasilense* acelera la formación de racimos florales y frutos en plantas de jitomate.

◇ Se presentaron diferentes respuestas con los biofertilizantes probados en los parámetros de estudio, estos resultados dependieron del soporte y del método de aplicación empleado, de manera general se encontró que los biofertilizantes no afectan la acidez del fruto y de modo particular sobresalieron por su respuesta en producción y calidad nutrimental los siguientes tratamientos:

◇ El biofertilizante a base de turba presentó mejores resultados en lo que respecta en la calidad nutrimental del fruto al incrementar en un 15% el contenido de ácido ascórbico y en un 49% el licopeno con respecto a su testigo.

◇ Con el biofertilizante a base de perlas de alginato, se obtuvo la mayor producción, así como el mayor número de frutos del tipo A en comparación con su testigo.

◇ Los tratamientos LP y LS se pueden emplear indistintamente, ya que con los dos se obtuvieron buenos resultados tanto en la clasificación comercial como en la calidad nutrimental del producto, por ejemplo LP incrementó en un 13% el contenido de ácido ascórbico, en tanto que LS presentó la segunda mejor producción de frutos del tipo A.

◇ Es posible recomendar el uso de biofertilizantes para la producción de jitomate tipo Bola, ya que con su aplicación se mantienen o mejoran las características comerciales y nutrimentales del fruto.

RECOMENDACIONES

- ◇ Se recomienda efectuar experimentos con otras variedades de jitomate, presentaciones de biofertilizantes y diferente porcentaje de fertilización.

- ◇ Incluir en futuros estudios otras determinaciones importantes para la evaluación de la calidad de jitomate como son: color, textura y la realización de un análisis sensorial.

9. LITERATURA CITADA

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of AOAC International, 15^a Edition, Vol. II, Estados Unidos, pp. 1058-1059.

Barea, J. M., y Brown, M. E. 1974. Effects on plant growth produced by *Azotobacter paspali* related to synthesis of plant growth regulated substances. J. Appl. Bacteriol. 40:583-593.

Barton, L. L., Johnson, G. V. Orbuck Miller, S. 1986. The effect of *Azospirillum brasilense* on iron absorption and translocation by *Sorghum*. J. Plant. Nutr. 557-565.

Bashan, Y. 1986. Alginate bed as synthetic inoculant carriers for slow release of bacteria that affect plant growth. Applied and Environmental Microbiology. 51:1089-1098.

Bashan, Y. 1998. *Azospirillum* plant growth-promoting strains are non-pathogenic on tomato, pepper, cotton and wheat. Can. J. Microbiol. 44:168-174.

Bashan, Y. y Carrillo, A. 1996. Microbial inoculants for sustainable agriculture. En: Pérez-Moreno J. y Ferrera-Cerrato R. (eds). Nuevos Horizontes en Agricultura: Agroecología y Desarrollo Sostenible. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Montecillo, México, pp. 125-155.

Bashan, Y. y Holguin, G. 1997. *Azospirillum*-Plant Relationships: Environmental and Physiological Advances (1990-1996). Can. J. Microbiol. Vol. 43.pp. 103-121.

Bashan, Y. y Levanony, H. 1990. Current Status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a Challenge for Agriculture. Can. J. Microbiol. 36:591-598.

Bashan, Y., Singh, M. y Levanony, H. 1989. Contribution of *Azospirillum brasilense* Cd to growth of tomato seedlings is not through nitrogen fixation. Can. J. Bot. 67: 2429-2439.

Bashan, Y., Hernández, J. P., Leyva, L. A., Bacilio, M. 2002. Alginate microbeads as inoculant carriers for plant growth-promoting bacteria. *Biol. Fertil. Soils*. 35:359-368.

Bashan, Y., y de-Bashan, L. E. 2005. Bacteria/Plant growth-promotion. In: *Encyclopedia of soils in the Environmental*. (Ed.) D. Hillel, Elsevier, Oxford, U.K. Volume 1. pp. 103-115.

Ben Dekhil, S., Cahil, M., Stackebrandt, E., y Sly L.I. 1997. Transfer of *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *largomobilis* to the genus *Azospirillum* as *Azospirillum largomobile* comb. nov., and elevation of *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *parooensis* to the new type species of *Conglomeromonas*, *Conglomeromonas parooensis* sp. nov. *Syst. Appl. Microbiol.* 20:72-77.

Bonifaz-Gutiérrez, J. 2005. Biofertilizantes: viabilidad y características fisiológicas de *Azospirillum* en diferentes soportes. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. México, D. F.

Bothe, H., Körsgen, H., Lehmacher, T. y Hundeshagen, B. 1992. Differential effects of *Azospirillum*, auxin and combined nitrogen on the growth of the roots of wheat. *Symbiosis*. 13:167-179.

Brown, M. E. 1976. Role of *Azotobacter paspali* in association with *Paspalum notanum*. *J. Appl. Bacteriol.* 40:341-348.

Caballero-Mellado, J. El género *Azospirillum* [en línea, disponible en http://www.microbiologia.org.mx/microbiosenlinea/CAPITULO_14/Capitulo14; internet; accesado el 15 de febrero del 2006]. 14.

Córdova, U. R. 1985. Evaluación de la turba nacional como soporte para inoculantes de leguminosas con cepas *Rhizobium japonicum*. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. UNAM, México D. F.

Díaz, I. e Iglesias, M. C. 2002. Inoculación con *Azospirillum* sp. En cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* vr. *Coloso*), bajo invernadero. XIII Reunión de Comunicaciones Científicas y Técnicas. Facultad de Cs. Agrarias-UNNE.

Döbereiner, J. 1983. Ten years of *Azospirillum*. En W. Klingmüller (ed.), *Azospirillum* II: Genetics, physiology, and ecology. Birkhauser, Basel Switzerland. (Experientia supplementum, 48). pp. 9-23.

Döbereiner, J. 1992. The genera *Azospirillum* and *Herbaspirillum*. En A. Balows, H. G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder and K. H. Schleider (ed). The Prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications. Springer-Verlag. New York. pp. 2236-2253.

Domínguez-Calderón, I., Bonifaz-Gutiérrez, J. A., García-Paredes, M., López-Hernández, L. H., Urzúa-Hernández, M. C., Ramírez-Gama, R. M. 2006. Efecto en la producción de pepino poinsett inoculado con *Azospirillum* y un agente de control biológico. Memorias del XXXV Congreso Nacional de Microbiología. 3-6 abril de 2006, en Oaxtepec, Mor. México.

Esquivel-Cote, R. 1997. Efecto de la fertilización biológica con *Azospirillum* y la fertilización simultanea sobre el desarrollo de jitomate (*Lycopersicon esculentum*) bajo condiciones de invernadero. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D. F.

Esquivel-Cote, R. 2002. Selección e identificación de rizobacterias promotoras del desarrollo vegetal aisladas de cultivos regados con aguas residuales y su efecto sobre el desarrollo del jitomate. (*Lycopersicon esculentum*). Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F.

Esquivel-Cote, R., Jiménez-Flores, F., Jiménez-Olivares, P., Tsuzuki-Reyes, G., Ramírez-Gama, R. M. 2004. Reducción de la fertilización nitrogenada química en jitomate mediante biofertilización con *Azospirillum*. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. 8-10 noviembre de 2004, en León, Gto. México.

Fages, J. 1992. An industrial view of *Azospirillum* inoculants: formulation and application technology. *Symbiosis*. 13:15-16.

Glick, B. R., Penrose, D. M. y Wenbo, M. 2001. Meeting report. Bacterial promotions of plant growth. *Biotechnology Advances*. 19:135-138.

González-Platteau, R. 2004. Evolución de pigmentos en frutos de tomate larga vida sometidos a estrés térmico durante poscosecha. Tesis de Maestría. Facultad de Agronomía e Ingeniería forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. [en línea, disponible en http://www.uc.cl/agronomia/f_postgrados/TesisMagister/; internet; accesado el 20 julio del 2006].

Hartmann, A., M. Stoffels, B. Eckert, G. Kirchhof y M. Schlöter. 2000. Analysis of the presence and diversity of diazotrophic endophytes, p. 727. *En* E. W. Triplett (ed.), *Prokaryotic nitrogen fixation: a model system for analysis of a biological process*. Horizon Scientific Press, Wymondham, UK.

Hernández P., S. y Ruíz S., H. 1987. Evaluación del comportamiento de cepas de *Azospirillum* en turba. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. México, D.F.

Holt, J.G. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9ed. Baltimore, Williams & Wilkins, Baltimore. pp. 40.

Khammas, K. M., Ageron, E., Grimont, P. A. D., and Kaiser, P. 1989. *Azospirillum irakense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. Res. Microbiol. 140:679-693.

López, M. 1994. Horticultura. Trillas. México. pp. 386.

Lyn, W., Okon, Y., Hardy, R. W. F. 1983. Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculated with *Azospirillum brasilense*. Appl. Environ. Microbiol. 45:1775-1779.

Magalhães, F. M., Baldani, J. I., Souto, S. M., Kuykendall, J. R. and Döbereiner, J. 1983. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. An. Acad. Brasil. Cienc. 55:417-430.

McGlasson, B. 1993. Tomatoes, in *Encyclopedia of Food Science, Food Technology, and Nutrition* (R. MaCrea, R.K. Robinson, and M.J. Sandler, eds.) Academic Press, New York, pp. 4579.

Medina, B. N., Cuevas, P. F., Díaz, L. G. y Morejón, R. R. 2000. Efecto de la biofertilización con bacterias rizosféricas en el cultivo del tomate. Ciencia Tecnología y Medio Ambiente. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. CIGET. Pinar del Río. Vol. 2. No.2. [en línea, disponible en <http://www.ciget.pinar.cu/No.202000-2/TOMATE.htm> internet; accesado el 22 junio del 2004].

Michiels, K. W., Croes, C. L. y Vanderleyden, J. 1991. Two different modes of attachment of *Azospirillum brasilense* Sp7 to wheat roots. J. Gen. Microbiol. 137:2241-2246.

Namesny A. 2004. TOMATES. Producción y comercio. Ediciones de horticultura, S. L. Barcelona, España. pp. 125-136.

Okon, Y. 1985. *Azospirillum* as a potential Inoculant for Agriculture. Trends Biotechnol. 3:223-228.

Okon, Y., Albrecht, S. L. y Burris, R. H. 1976. Factors affecting growth and nitrogen fixation of *Spirillum lipoferum*. J. Bacteriol. 127:1248-1254.

Okon, Y., e Itzigsohn, R. 1992. Poly-b-hydroxybutyrate metabolism in *Azospirillum brasilense* and the ecological role of PHB in the rhizosphere. FEMS Microbiol. Rev. 103:131-140.

Okon, Y., y Kapulnik. 1986. Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. Plant Soil. 90:3-16.

Okon, Y., y Labandera-González, C. 1994. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. Soil Biol. And Biochem. 26:1591-1601.

Okon, Y., y Vanderleyden, J. 1997. Root associated *Azospirillum* species can stimulate plants. ASM News. 63:366-370.

Ramírez-Gama, R. M. 2002. Producción y control de calidad de inoculantes agrícolas bacterianos. Agricultura Técnica en México. INIFAP, Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, S. I. R. C. E. y Sociedad Mexicana de la Ciencia del suelo, México, pp. 67-86.

Ramírez-Gama, R. M., Tsuzuki-Reyes, M. G., Arreguin-Espinoza de los Monteros, R., Ferrera-Cerrato, R., Urzúa, M. C., Esquivel-Cote, R., González, D., Hernández-Bautista, M., Tenorio, M. E., Rodríguez, J. L., Castillo, N. D., Franco-Mendoza, V., Quiroga, M. A. 2001. Estudio comparativo del efecto de bacterias promotoras del desarrollo vegetal sobre el crecimiento y rendimiento de jitomate. Informe final del proyecto 27972B. CONACYT.

Reinhold, B., Hurek, T., Fendrik, I., Pot, B., Gillis, M., Kersters, K., Thielemans, S., and De Ley J. 1987. *Azospirillum halopraeferens* sp. nov., a nitrogen-fixing organism

associated with roots of Kallar grass (*Leptochloa fusca* (L.) Kunth). Int. J. Syst. Bacteriol. 37:43-51.

Salunkhe, D.K., S.J. Jadhav y M.H. Yu. 1974. Quality and nutritional composition of tomato fruit as influenced by certain biochemical and physiological changes, *Qual. Plant.* 24:85.

Salunkhe D. K. y Kadam S.S. 2004. Tratado de ciencia y tecnología de las hortalizas. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. pp. 186.

SARH, 1984. Guía para la asistencia técnica agrícola. Área de influencia del campo agrícola experimental “Valle del Mayo”. pp. 272.

Sarig, S., Blum, A. Okon, Y. 1988. Improvement of the water status and the yield of field growth sorghum (*Sorghum bicolor* L.) by inoculation with *Azospirillum brasilense*. J. Agric. SCI. 110:271-277.

SIAP (2006). El informar presenta un breve análisis respecto al comportamiento de la producción y consumo del jitomate mexicano así como de su participación en el comercio internacional [en línea, disponible en <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/InfOMer/analisis/>; internet; accesado el 10 de febrero del 2006].

Sly, L.I. y E. Stackebrandt. 1999. Description of *Skermanella parooensis* gen. nov., sp. nov. to accommodate *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *parooensis* following the transfer of *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *largomobilis* to the genus *Azospirillum*. Int. J. Syst. Bacteriol. 49:541-544.

Smith, R.S. 1992. Legume inoculant formulation and application. Can. J. Microbiol. 38: 485-492.

Steenhoudt, D. y Vanderleyden J. 2000. *Azospirillum* a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. FEMS Microbiology Reviews 24:487-506.

Tal, S. y Okon, Y. 1985. Production of the reserve material poly- β -hydroxybutyrate and its function in *Azospirillum brasilense*. Cd. Can. J. Microbiol. Releases. 31:608-613.

Tarrand, J. J., N. R. Krieg y J. Döbereiner. 1978. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. Can. J. Microbiol. 24:967-980.

Trevor V. S. and M. Cantwell. 2006. Recomendaciones para mantener la calidad postcosecha de jitomate. [En línea, disponible en <http://www.postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Espanol/Tomate.shtml> internet, accesado el 11 de mayo del 2006].

Umali-García, M., Hubel, D. H. Gaskins, M.H., Dazzo, F.B. 1980. Association of *Azospirillum* with grass roots. Appl. Evirom. Microbiol. 39:219-226.

Urzúa, H.M. del C. 1997. Evaluación del efecto de *Azospirillum* sobre el rendimiento de *Lycopersicon esculentum* (bajo condiciones controladas). Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala. UNAM. México.

Urzúa, H.M. del C. 2001. Selección de la concentración óptima de *Azospirillum* y su combinación con diferentes dosis de fertilización en dos sistemas de cultivo de jitomate (*Lycopersicon esculentum*). Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D. F.

Zaady, E. y Okon, Y. 1990. Cultural Conditions affecting *Azospirillum brasilense* cell aggregation and adsorption to maize roots. Soil. Biol. Biochem. 22:1103-1107.

10.- ANEXOS

ANEXO 1. MEDIOS DE CULTIVO.

Medio Nfb semisólido.

Medio recomendado por Tarrand *et al.*, (1978) para el aislamiento y caracterización primaria de *Azospirillum*.

Componente	Cantidad
Ácido succínico	5.0 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
MgSO ₄ 7 H ₂ O	0.2 g
NaCl	0.1
CaCl 2 H ₂ O	0.02 g
Na ₂ MoO ₄ . H ₂ O	0.002 g
MNSO ₄ 2 H ₂ O	0.1 g
FeCl ₃	0.002 g
KOH	4.5 g
Azul de bromotimol (solución alcohólica 05%)	2.0 mL
Agar	4.0 g
Agua destilada	1 L
pH	6.8

Caldo nutritivo.

Componente	Cantidad
Extracto de carne	3 g
Peptona de carne	5 g
Agua destilada	1 L
pH	7.0

ANEXO 2. ECUACIONES Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

A continuación se muestran las ecuaciones y tablas estadísticas de las determinaciones de la calidad nutrimental.

Determinación de Vitamina C.

El contenido en mg de vitamina C por 100 g está dado por la fórmula:

$$\frac{\mathbf{(a) (100)}}{\mathbf{(b) (10) (c)}} \quad \mathbf{X 100}$$

en la que:

a = mL gastados en la valoración de Vitamina C.

b = mL de solución estándar de Vitamina C.

c = g de muestra.

Tukey HSD

Tratamientos	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
TT	20	11.4150		
Perlas	20	11.6232	11.6232	
TF	20	11.8384	11.8384	11.8384
LS	20	12.1103	12.1103	12.1103
LP	20		13.3882	13.3882
Turba	20			13.6213
Sig.		.875	.060	.056

Determinación de licopeno.**Método espectrofotométrico.**

Ley de Beer-Lambert.

$$A = kCl$$

Despejando:

$$C = \frac{A}{kl}$$

A = Absorbancia. A 502 nm.**k** = Coeficiente de extinción (3.450).**C** = Concentración de licopeno.**l** = Es la distancia de la luz que atraviesa un cuerpo.

Los valores de concentración de licopeno fueron expresados en mg/100 g.

Tukey HSD

Tratamientos	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
LP	20	.6599	
TT	20	.6693	
TF	20	.6945	
LS	20	.7240	
Perlas	20	.7659	
Turba	20		1.0333
Sig.		.742	1.000