



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**EFFECTO DE LA BIOFERTILIZACIÓN CON
Azospirillum SOBRE LA CALIDAD Y
PRODUCCIÓN DE JITOMATE**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA

LUIS HUMBERTO LÓPEZ HERNÁNDEZ



MÉXICO, D. F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

JURADO ASIGNADO:

Presidente. M. en C. María Guadalupe Tsuzuki Reyes.

Vocal. M. en C. Juan Diego Ortiz Palma Pérez

Secretario. M. en C. María del Carmen Urzúa Hernández

1^{er} Suplente. M. en C. María Elsa Escudero García

2^{do} Suplente. M. en C. María de Lourdes Osnaya Suárez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TRABAJO EXPERIMENTAL:

Laboratorio de Microbiología Experimental, Edificio A, Facultad de Química. UNAM.

ASESOR

M. en C. María del Carmen Urzúa Hernández

SUSTENTANTE

Luis Humberto López Hernández

Dedicatorias

A mis padres:

María de la Luz Hernández Reyes y Juan López; por haberme llevado hasta este punto de mi vida, por haber formado mi carácter y mi personalidad, por haber tenido siempre en mí la confianza de finalizar esto que ellos empezaron hace muchos años y yo finalmente concluyo, que más puedo agradecer si fueron ellos quienes me dieron todo lo que necesité: ¡¡¡Amor y una verdadera familia! ¡Gracias viejos!!!

A mis hermanos:

Juan Cairo, Teresa María y Miguel Angel; que de alguna forma siempre estuvieron conmigo cuando más necesite olvidar problemas y que no había momentos más padres que verlos sonreír para llegar a terminar este largo proceso en mi vida.

A mis familiares:

Tíos, tías, primos y primas; que siempre me ayudaron a levantarme cuando más me caía, que siempre estuvieron ahí para aconsejarme y más aún que me brindaron su hogar en gran parte de mi formación para llegar a cumplir mi meta.

A mi asesora de tesis:

¡Gracias *Carmen*! Por tenerme paciencia y confianza, por tu apoyo intelectual en el desarrollo de la tesis y moral por escucharme las veces que no tenía a quien decirle lo que me pasaba, por fin terminamos esta etapa!!!

A Maribel:

Por ser quien eres, por hacerme valorar más mi trabajo y formar una parte de mi carácter, por tu apoyo incondicional en todo momento, por el sueño que vamos cumpliendo juntos sin importar hasta donde lleguemos, gracias por ser mucho más que mi amiga y mi compañera...

Agradecimientos

Un especial agradecimiento a Dios, que de alguna forma no me ha olvidado y siempre me da calma e inteligencia para actuar, quien me dio mi Ser para ser quien soy ahora.

Gracias a la UNAM, la máxima casa de estudios de Latinoamérica, por todas las facilidades que me dio para completar mi formación.

A los académicos:

M. en C. Rosa María Ramírez Gama, por haberme dado la oportunidad de integrarme a su equipo de trabajo, para sacar adelante este trabajo.

A la M. en C. Guadalupe Tsuzuki Reyes por ayudarme en la redacción de la tesis y por su orientación en el trabajo experimental.

Al M. en C. Juan Diego Ortiz Palma Pérez, por ser parte de mi jurado revisor de tesis.

A todo el cuerpo docente de la Facultad de Química, que tuvo que ver en mi formación académica para llegar a cumplir una de las metas de mi vida.

A mis amigos y amigas:

- Claudia; por ser la primera amistad de valor en mi vida, por todo lo que compartimos juntos y por el apoyo que siempre me has brindado, tú y tu familia.
- A Leticia, Lorena, Mireya, Alejandra, Alejandro, Cristian y Angel, quienes fueron los primeros quienes conocí en la carrera y con quienes viví y experimente muchas cosas nuevas.
- A Edson, Angel, Diego, Enrique, Luis E, Leo, Israel, Demetrio, Beatriz, Gaby, Bárbara, Paty, Ana, Javier, Catya, Mariel, Basiliza, etc; (todos con sus respectivas), por los consejos y momentos de reflexión tomando un café, claro sin olvidar las tardes de mucho calor.

A todos mis demás amigos y compañeros que estuvieron en el transcurso de mi estancia en la facultad y fuera de ella, no es que los haya olvidado por no haberlos mencionado, de antemano saben que están presentes.

4.1	Objetivo general	36
4.2	Objetivos particulares	36
5.	MATERIALES Y MÉTODO	37
5.1.	Plan de trabajo	37
5.2.	Material biológico	38
5.2.1.	Jitomate	38
5.2.2.	Biofertilizantes	38
5.2.3.	Evaluación de la calidad del biofertilizante	38
5.3.	Sustratos para el cultivo	38
5.4.	Fertilizantes químicos	39
5.5.	Sitios de germinación y producción de jitomate	39
5.6.	Tratamientos	40
5.7.	Inoculación de semillas de jitomate	40
5.8.	Siembra de las semillas	41
5.9.	Determinación de la colonización de <i>Azospirillum</i> en la raíz de las plántulas	41
5.10.	Fertilización química	42
5.11.	Cuidado del cultivo de plantas de jitomate	42
5.12.	Desarrollo de la parte aérea y radical en las plántulas	43
5.13.	Variables a evaluar	43
5.14.	Metodología para la evaluación	44
5.14.1.	Producción	44
5.14.2.	pH del fruto	44
5.14.3.	Análisis bromatológico	44
5.14.3.1.	Ácido ascórbico	44

5.14.3.2.	Licopeno	44
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
6.1.	Calidad de los biofertilizantes	46
6.2.	Determinación de la colonización de <i>Azospirillum</i> en la raíz de las plántulas de jitomate	47
6.3.	Desarrollo de la parte aérea y radical en las plántulas de jitomate	48
6.4.	Producción de jitomate	51
6.4.1.	Registro del inicio de floración	51
6.4.2.	Peso del fruto	53
6.5.	Calidad del fruto de jitomate	55
6.5.1.	pH del fruto	55
6.5.2.	Análisis bromatológico	56
6.5.2.1.	Ácido ascórbico (Vitamina C)	56
6.5.2.2.	Licopeno	58
7.	CONCLUSIONES	60
8.	RECOMENDACIONES	61
9.	LITERATURA CITADA	62
9.1.	Citas electrónicas	70
10.	ANEXOS	71
10.1.	Preparación de biofertilizantes	71
10.2.	Preparación de medios de cultivo	71
10.3.	Cálculos para el análisis bromatológico	72
10.4.	Tablas estadísticas	72

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

CUADROS

2.3.1.	Situación hasta abril del 2007 de los 4 productos agrícolas de mayor producción en México	22
2.3.2.1.	Producción de jitomate en el ámbito mundial, 2005	23
2.3.3.1.	Producción de jitomate de los estados más representativos de la República Mexicana	24
2.3.6.1.	Composición nutrimental promedio del jitomate	28
2.3.7.1.	Propiedades funcionales de frutas y hortalizas	31
5.4.1.	Propiedades físicas y químicas del suelo y métodos empleados para su determinación	39
5.4.1.	Cantidad de azospirila presente en los biofertilizantes	46
6.2.1.	Cantidad de azospirila presente en la raíz de las plántulas de jitomate biofertilizadas y sin biofertilizar antes del transplante	47
6.3.1.	Efecto de la biofertilización con <i>Azospirillum</i> en el desarrollo de la parte aérea y radical de las plántulas de jitomate	50
6.4.1.1.	Seguimiento de la aparición de racimos florales en plantas de jitomate biofertilizadas con <i>Azospirillum</i>	52
6.4.2.1.	Producción total y peso promedio de frutos de jitomate	55
6.5.1.1.	Determinación de pH en frutos de jitomate	56
6.5.2.1.1.	Contenido de vitamina C determinada en frutos de jitomate	57
6.5.2.1.1.	Contenido de licopeno determinado en frutos de jitomate	59

FIGURAS

2.1.4.1.	Micrografía de <i>Azospirillum</i> en la primera fase de colonización de la raíz	16
2.1.4.2.	Micrografía de <i>Azospirillum</i> en la segunda fase de colonización de la raíz	17
2.3.3.1.	Participación de los estados de la República Mexicana en la producción de jitomate, 2002	25
5.1.1.	Diagrama general de trabajo	37
6.1.1.	Desarrollo típico de <i>Azospirillum</i> en agar nutritivo	47
6.2.1.	A) Tubos con desarrollo positivo para <i>Azospirillum</i> , B) Fotografía de <i>Azospirillum</i> en preparación en fresco	48
6.3.1.	Desarrollo observado en plántulas de jitomate	50
6.4.1.1.	A) Desarrollo de las plantas antes del inicio de la floración (56 días), B) Apariencia al inicio de la floración (64 días)	52
6.4.2.1.	A) Planta de jitomate biofertilizada con el tratamiento TG1:1, B) Misma planta al final del experimento	53
6.5.2.2.1.	Frutos de jitomate en estado de madurez adecuado para el consumo en fresco	59

ABREVIATURAS

Medios de cultivo:

Nfb ss Nitrogen Free Biotin semisolid. Medio semisólido sin fuente de nitrógeno.

SSI Solución Salina Isotónica.

Tratamientos:

T100 Testigo con 100% de fertilización química.

T50 Testigo con 50% de fertilización química.

TA Testigo Absoluto

TPAS Biofertilizante de Turba en Polvo Adherido a la Semilla

TPH Biofertilizante de Turba en Polvo aplicado en la Horadación

TGH Biofertilizante de Turba Granular aplicado en la Horadación

TG1:1 Biofertilizante de Turba Granular mezclada con turba sin esterilizar en proporción 1:1 p/p

TGC Biofertilizante de Turba Granular Comercial adherido a la semilla

Relaciones de fertilización química:

NK Nitrógeno-Potasio.

NP Nitrógeno-Fósforo.

PK Fósforo-Potasio.

NPK Nitrógeno-Fósforo-Potasio.

Otros:

DES Diferencias Estadísticamente Significativas.

NMP/g Número más probable de bacterias por gramo.

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

UFC/mL Unidades Formadoras de Colonias por mililitro.

1. INTRODUCCIÓN

Una de las aportaciones mexicanas más reconocidas en el exterior es la “domesticación” del Jitomate. Esta es una de las especies hortícolas más importantes de nuestro país debido al valor de su producción y su elevada demanda, además del gran número de empleos que genera este cultivo. Según la SAGARPA, en el 2007, el jitomate fue el principal producto hortícola de exportación, al representar el 37% del valor total de las exportaciones de legumbres y hortalizas y el 16% del valor total de las exportaciones agropecuarias, solo por debajo de la producción de ganado vacuno. Con la incorporación de México al Tratado de Libre Comercio de América del Norte, el nuevo panorama demandó la generación de nuevas estrategias para mantener la producción tanto en cantidad como en calidad para poder competir con los mercados extranjeros.

Este fruto tiene una gran aceptación en diversos países, motivo por lo cual ocupa el segundo lugar dentro de los productos hortícolas de mayor consumo mundial. A nivel mundial, las hortalizas junto con las frutas ocupan el segundo lugar de los productos agropecuarios en producción, muy por debajo de 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 indica el enorme valor que este último cultivo representa no solo en el comercio, sino también en el sistema alimentario mundial.

En los últimos años, este fruto ha cobrado mayor importancia al ser considerado un alimento funcional, debido a que su ingesta puede disminuir riesgos en la salud tanto a nivel cardiovascular como problemas de desarrollo de células cancerígenas. Aun cuando no

se ha logrado determinar cual es el principal componente activo, algunos estudios indican que hay cierta relación con su contenido de licopeno.

Para cubrir la demanda de producción y consumo de estos productos hortícolas, se requiere de grandes extensiones de terreno y el suministro de una gran cantidad de agroquímicos, que si bien han logrado mantener la producción intensiva también son fuente de contaminación (p.e. la erosión del suelo y la contaminación de mantos freáticos). Es por ello que se buscan alternativas que conduzcan a la sostenibilidad del ambiente así como a la disminución de costos en el sector agrícola; una de éstas son los llamados biofertilizantes.

Los biofertilizantes son productos agrícolas constituidos por un soporte y un concentrado de microorganismos que favorecen el desarrollo y la nutrición vegetal. La aplicación de estos asegura una producción de frutos o granos mayor, o al menos similar a la obtenida mediante fertilización química. Entre los diversos microorganismos que se emplean en la elaboración de biofertilizantes destaca *Azospirillum*, una bacteria promotora del crecimiento vegetal con diversos mecanismos de acción. En el Laboratorio de Microbiología Experimental de la Facultad de Química en la UNAM, se realizan estudios con esta bacteria para evaluar su efecto en el crecimiento y producción de diversos vegetales como son el maíz, trigo, sorgo, jitomate y pepino, en los cuales se ha observado y comprobado el incremento en éstos parámetros, así como la posibilidad de disminuir, hasta en un 50% la dosis recomendada del fertilizante nitrogenado y/o químico sin deterioro de la producción. Sin embargo, no existen reportes referentes a la calidad nutricional de los frutos sometidos a estos tratamientos, además del efecto que tiene el tipo de aplicación del biofertilizante.

2. ANTECEDENTES

2.1. El género *Azospirillum*

En 1925 Beijerinck descubrió a *Spirillum lipoferum*, una bacteria fijadora de nitrógeno, que permaneció olvidada por varias décadas (Becking, 1982); hasta que Peña-Cabriales y Döbereiner en 1973 iniciaron el estudio intensivo de esta bacteria (Döbereiner, 1983), sin embargo fueron Tarrand *et al* quienes, en 1978, la reclasificaron en un género nuevo: *Azospirillum* e identificaron dos especies *A. lipoferum* y *A. brasilense*.

Actualmente, con los avances en las técnicas de la genética, se reconocen diez especies pertenecientes al género *Azospirillum*: *A. lipoferum* y *A. brasilense*, que como se mencionó anteriormente fueron las dos primeras en ser descritas (Tarrand *et al*; 1978), y por lo tanto son las más estudiadas; posteriormente se describieron las especies *A. amazonense* (Magalhães *et al.*, 1983), *A. halopraeferans* (Reinhold *et al*; 1987), *A. irakense* (Khammas *et al*; 1989) y *A. largomobile* (Ben Dekhil *et al*; 1997) nombre que posteriormente se cambió por *A. largimobile* (Sly y Stackebrandt, 1999). En honor de quien impulsara los estudios de este género bacteriano y descubriera otros diazótrofos, se integró una especie más *A. doebereineriae* (Eckert *et al*; 2001). Xie y Yokota (2005) identificaron la especie *Azospirillum oryzae* y Peng *et al*; (2006) aislaron otra especie, *Azospirillum melinis* como un nuevo diazótrofo a partir de las plantas y suelo de la región tropical de China. La especie más reciente en ser clasificada es *A. canadense*, bacteria aislada de las raíces de maíz en Canadá (Mehnaz, 2007).

Pocos años después del redescubrimiento de *Azospirillum*, se promovieron numerosos estudios sobre la ecología, fisiología y genética de esta bacteria debido a su capacidad

para asociarse y estimular el crecimiento de diversas especies (Okon y Labandera-González, 1994; Bashan, 1998b; Bashan *et al*; 2002 y Glick *et al*; 2001). En la actualidad su uso comercial comienza a extenderse en diferentes países, incluido México.

2.1.1. Características microscópicas

El género *Azospirillum* pertenece a la subclase alfa de las proteobacterias (Okon e Itzigsohn, 1992), las características celulares más importantes en la identificación de esta bacteria son: su forma vibrioide, pleomorfismo y movilidad en espiral, misma que se pierde a las 72 horas en algunas especies (Döbereiner, 1992). Sus dimensiones oscilan entre 0.1µm de diámetro y de 2.1 a 3.8µm de longitud; es una bacteria Gram negativa a Gram variable, su temperatura óptima de desarrollo es de 35-37°C, es un microorganismo quimiorganotrófico y algunas cepas son autótrofas facultativas (Tarrand *et al*; 1978).

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

Las células presentan en su interior gránulos refringentes de poli-β-hidroxibutirato (PHB) que pueden constituir hasta un 50% del peso seco celular (Okon *et al*; 1976 y Caballero-Mellado, 2005). Dependiendo de la edad del cultivo y condiciones del medio, las células pueden cambiar de forma y producir cistos que desempeñan una

función importante en la sobrevivencia de las células (Tal y Okon, 1985, Okon e Itzigsohn, 1992).

2.1.2. Características metabólicas y culturales

Las especies de *Azospirillum* emplean como principales fuentes de carbono ácidos orgánicos como el málico y succínico. Sin embargo, estas bacterias poseen una amplia variedad de rutas metabólicas para obtener energía (ATP) a partir de diversos ácidos orgánicos, azúcares y aminoácidos (Okon, 1985). Además, se desarrollan bien a pH neutro, aunque algunas especies prefieren condiciones más ácidas (Holt *et al*; 1994).

Estas bacterias pueden fijar N₂ sólo si se cultivan en condiciones microaerófilas, por lo que para su aislamiento se utiliza un medio de cultivo selectivo, semisólido, libre de nitrógeno y con malato como fuente de carbono conocido como Nfb; el crecimiento se observa por la formación de una película blanca y densa a unos 2 ó 3mm debajo de la superficie del medio de cultivo, (zona que proporciona la cantidad de oxígeno adecuada para la fijación de nitrógeno) después la película migra hacia la superficie y ese momento ocurre el vire del indicador azul de bromotimol debido a la reducción del nitrógeno atmosférico a amonio (Okon y Labandera-González, 1994).

Entre los medios de cultivo que se emplean con mayor frecuencia para describir el crecimiento y desarrollo de las colonias de *Azospirillum* se encuentran los siguientes:

- Gelosa nutritiva: Después de 7 días se observan las colonias de forma circular, con consistencia seca, elevación umbonada, con bordes lobulados, superficie rugosa y una pigmentación rosa pálido característica (Tarrand *et al*; 1978).

- Agar rojo congo: Las colonias presentan una coloración rojo escarlata, que permite diferenciarla de otros géneros bacterianos, consistencia seca, diámetro entre 1.5 a 2mm, forma circular o irregular, borde ondulado y superficie rugosa con anillos concéntricos. También se pueden encontrar colonias mutantes de *Azospirillum* de color blanco, que no pueden producir un polisacárido aun no identificado (Rodríguez-Cáceres, 1982).
- Agar papa (BMS): Después de 1 a 2 semanas de incubación a 33-35°C, las colonias de *Azospirillum* presentan un color rosa, son opacas, de borde irregular, superficie rugosa y con elevación umbonada (Döbereiner y Day; 1976). La pigmentación se ve favorecida en agar BMS cuando estas son incubadas con luz; algunas cepas de *A. brasilense* forman colonias de coloración rosa intenso (Tarrand *et al*; 1978).

Otra de las características metabólicas por las que este género ha cobrado interés, es la capacidad de algunas cepas para producir fitohormonas como el Ácido Indol-Acético (AIA). Además se ha detectado la producción de otros compuestos indólicos y metabolitos relacionados como el ácido indol pirúvico, indol láctico, indol acetaldehído, indol etanol e indol metanol, triptamina y antranilato (Bartel, 1997 y Patten y Glick; 1996).

2.1.3. Características metabólicas de interés agronómico

Se han realizado diversos experimentos que permiten confirmar la capacidad de *Azospirillum* de promover el desarrollo y producción de gramíneas y cereales, principalmente; así como de otros vegetales tanto en campo como invernadero (Okon y Vanderleyden, 1997; Bashan, 1998b, Bashan *et al*; 2002; Glick *et al*; 2001; Dobbelaere

et al; 1999, Ramírez-Gama *et al*; 2001, Ramírez-Gama, 2002; Urzúa, 1997 y 2001; y Esquivel-Cote; 2002).

Debido a este efecto, las bacterias del género *Azospirillum* se incluyen dentro del grupo de las rizobacterias promotoras del desarrollo vegetal ó PGPR (por sus siglas en inglés). El aumento en el crecimiento de las plantas por parte de *A. brasilense* se explica por los siguientes mecanismos de acción (Bashan y de-Bashan, 2005):

- Fijación de N₂ atmosférico. Su reducción a amoníaco, le permite ser utilizado por las mismas bacterias y por los vegetales. Con el redescubrimiento de *Azospirillum*, se estudió con gran interés esta actividad metabólica como el principal mecanismo de acción por el que se logra un incremento en la producción de los vegetales. Sin embargo, estudios posteriores indican que estas bacterias no excretan cantidades significativas de amonio en crecimiento diazotrófico (Bashan *et al*; 1989; Döbereiner, 1992 y Okon y Labandera-González, 1994).
- Síntesis de fitohormonas. Está comprobado que estos compuestos incrementan la velocidad de desarrollo y el rendimiento de las plantas (Barea y Brown, 1974; Brown, 1976; Tien, *et al*; 1979; Okon y Kapulnik, 1986 y Lorence, 1999).
 - Producción de auxinas: La hormona más estudiada de este tipo es el ácido indol-3-acético (Lambrecht *et al*; 2000 y Vande Broek, 1999). Las auxinas estimulan el crecimiento de la radícula y raíces adventicias, previene la caída de flores y frutos, además de retrasar la senescencia y tropismo (Bartel, 1997; Patten y Glick, 1996), lo que se refleja en una

mayor absorción de agua y nutrientes; la auxina que se produce en mayor cantidad es el AIA. Entre los microorganismos que producen este compuesto se encuentran *Azospirillum* y *Klebsiella* (Glick, 1995; Bashan y Carrillo, 1996; El-Khawas, 1995; El-Khawas y Adachi, 1999; Torres-Rubio, *et al*; 2000).

- Producción de giberelinas: Estas hormonas pertenecen al grupo de los diterpenoides ácidos, presentan diversos efectos dependiendo del tipo de giberelina; las más comunes son: GA₁, GA₃, GA₄, GA₇ y GA₉ (BBSRC, 2003; Lorence, 1999); estas ocasionan la estimulación del crecimiento del tallo, la interrupción del período de latencia de las semillas (activan la germinación), la inducción de brotes (yemas) y el incremento en el desarrollo de los frutos. Entre los microorganismos productores de giberelinas se encuentran: *Azotobacter*, y dos especies del género *Azospirillum*, *A. lipoferum* y *A. brasilense* (Rademacher, 1994).
- Producción de citocininas: Actualmente se conocen más de 200 citocininas naturales y sintéticas, la más común en las plantas es la Zeatina (BBSRC, 2003). La primera citocinina descubierta fue la Kinetina, la cual es producida por algunas cepas de *Azospirillum*. Dentro de los efectos causados por estas hormonas están: la estimulación de la división celular, retraso en el envejecimiento de los órganos vegetales, promoción de la organogénesis en los callos celulares, el desarrollo de los cloroplastos, entre otros. (Rojas y Ramírez, 1993). Entre los microorganismos productores de algunas citocininas se encuentran: *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Paenobacillus* y *Pseudomonas* (García de Salamone *et al*; 2001).

- Solubilización de minerales y mineralización de materia orgánica. Se traduce en un aumento de nutrientes disponibles, además de asegurar la liberación de compuestos que son fácilmente asimilados por las plantas (Glick *et al*; 2001 y Díaz, *et al*; 2001).
- Producción de sideróforos. Compuestos orgánicos quelantes que acomplejan al hierro oxidado, el cual es reducido a la forma en que lo utilizan las bacterias y las plantas (Davis *et al*; 1996).
- Producción de nitritos: Estos iones al ser excretados por la bacteria, inducen e incrementan la formación de raíces laterales (Bothe *et al*; 1992). Este mecanismo es el menos estudiado (Bashan y Holguin, 1997).
- Cambio en la permeabilidad de la raíz: los microorganismos son capaces de excretar y transmitir señales moleculares aun no definidas, que se difunden por la pared celular de las plantas y son reconocidas por sus membranas, dando inicio a la activación de una serie de reacciones que provocan un cambio en la permeabilidad de la raíz (Bashan y Holguin, 1997).

Bashan y Levanony (1990) indican que estos mecanismos probablemente se lleven a cabo simultáneamente o de manera secuencial, lo que depende de las condiciones ambientales que predominen.

2.1.4. Asociación *Azospirillum*-planta

2.1.4.1. Colonización en raíz

La asociación de *Azospirillum* con las raíces de las plantas se efectúa en dos etapas independientes (Bashan y de-Bashan, 2005; Bacilio-Jiménez *et al*; 2001). La primera consiste en una adsorción rápida, débil y reversible (de 1-2h), dependiente de las proteínas de la superficie bacteriana del tipo de las adhesinas. (Figura 2.1.4.1).

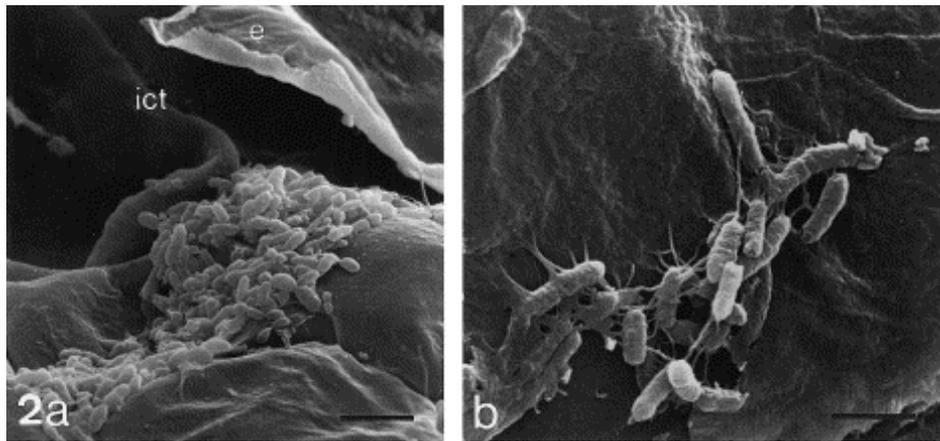


FIGURA 2.1.4.1. Micrografía de *Azospirillum* en la primera fase de colonización de la raíz (Bacilio-Jiménez *et al*; 2001).

La segunda fase consiste en un anclaje lento pero firme e irreversible que alcanza su máximo nivel 16 h después de la inoculación y parece ser dependiente de un polisacárido extracelular de la bacteria (Figura 2.1.4.2). En diversos casos se ha reportado la aparición de material fibrilar que contribuye al anclaje de *Azospirillum* a las raíces de diversas plantas (Zaady y Okon, 1990, Michiels *et al*; 1991; Steenhoutd y Vanderleyden, 2000).

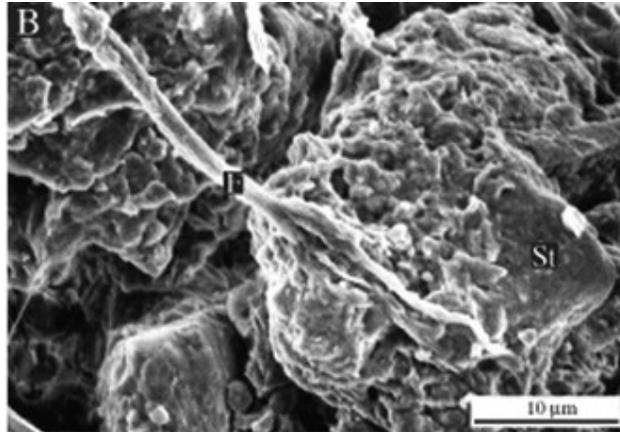


FIGURA 2.1.4.2. Micrografía de *Azospirillum* en la segunda fase de colonización de la raíz (Bacilio-Jiménez *et al*; 2001).

Posteriormente se lleva a cabo la multiplicación celular y se forman pequeños agregados. Esta forma de unión proporciona la ventaja de competir exitosamente por los nutrientes que libera la raíz, mejor que las que se unen de forma simple (Bashan y de-Bashan, 2005). En raíces de jitomate, pepino, algodón y soja solo se ha observado la segunda fase (Bashan *et al*; 1998a), probablemente este sea el principal factor para una colonización efectiva.

2.1.4.2. Efecto de la inoculación en diferentes vegetales

La inoculación con *A. brasilense* puede incrementar la producción de trigo y otros cultivos por arriba del 30% (Okon y Labandera-González, 1994). Resultados similares se obtuvieron con la inoculación y adición de fertilizantes, en este caso únicamente con niveles bajos de fertilizantes de nitrógeno (50-60kg N ha⁻¹), en tanto que, con niveles altos (110-170kg N ha⁻¹) los efectos no son estadísticamente significativos (Dobbelaere *et al*; 2001).

Durante los años 1999 al 2001 se realizaron diversos experimentos para evaluar la respuesta de diversas gramíneas a la aplicación de biofertilizantes a base de *Azospirillum brasilense*, estos trabajos realizados por el INIFAP en la región de la Meseta Central de México indican que en algunas localidades hubo incrementos en la producción sobre el testigo fertilizado, que fueron hasta del 60% en maíz, 85% en trigo, 74% en cebada y 25% en avena (Irizar *et al*; 2003).

2.2. Biofertilizantes

Se denomina biofertilizante a la mezcla de bacterias u hongos edáficos con un soporte inerte que al ser aplicado al suelo o semillas asegura una producción agrícola mayor, o al menos similar a la obtenida mediante fertilización química (Dobbelaere *et al*; 2001).

2.2.1. Presentación y aplicación de los biofertilizantes

El uso de cada tipo de inoculante depende de su disponibilidad en el mercado, costo, equipo utilizado para su aplicación y las necesidades del cultivo (Smith, 1992). Los biofertilizantes se comercializan en tres presentaciones:

- Líquidos. Son cultivos bacterianos cuyo soporte es un medio de cultivo líquido o aceite mineral. Se aplican sobre las semillas, directamente al suelo o en la raíz de la plántula (Bashan y Carrillo, 1996). La principal desventaja de este tipo de biofertilizantes es que para su almacenamiento y transporte requieren refrigeración (Ramírez-Gama, 2002; Bonifaz, 2005).
- Polvo. Es la forma más utilizada por su fácil aplicación; está constituida por partículas de un tamaño que oscila entre 0.075 y 0.25µm., se utiliza como soporte: turba o vermiculita sometida a molienda para reducir el tamaño de

partícula. Se aplican sobre las semillas o directamente al suelo o a la raíz de la plántula (Ramírez-Gama, 2002; Bonifaz, 2005).

- Granulares. La producción de éstos es más reciente. Al igual que los biofertilizantes en polvo, utilizan básicamente como soporte turba o vermiculita, sin embargo el tamaño de partícula oscila entre 0.35mm hasta 1.18cm. Su aplicación es directamente al suelo o como cama de germinación de 5 a 30kg ha^{-1} (Ramírez-Gama, 2002).

Actualmente está en desarrollo una nueva presentación:

- Perlas de alginato. En este caso el soporte es una matriz de alginato que brinda protección a los microorganismos y proporciona una liberación gradual de los mismos (Bashan, 1986 y Bashan *et al*; 2002). Las perlas pueden ser de tamaño:
 - a. Pequeño cuando son liofilizados cuyo tamaño de partícula oscila entre 100 a 200 μm ;
 - b. Grande cuando se emplean en fresco o deshidratadas con un tamaño que varía entre 1 a 3mm de diámetro. La principal desventaja para su producción está ubicada en los requerimientos de equipos más complejos para su producción, lo que incide en el incremento de su costo (Ramírez-Gama, 2002; Bonifaz, 2005).

En lo que respecta a la aplicación de los biofertilizantes, como se indicó anteriormente, éstos pueden colocarse en el suelo, directamente en la semilla o en la raíz de las plántulas. La forma y tiempo de inoculación depende sobretodo del equipo disponible.

La aplicación de los biofertilizantes en la semilla puede realizarse de cualquiera de las siguientes formas (Fages, 1992):

- a. Meses antes de la siembra: Cuando las semillas son inoculadas y almacenadas para su posterior venta.
- b. En el momento e *in situ*, se efectúa mediante cualquiera de los siguientes procedimientos:
 - i. Justo antes de la siembra. El biofertilizante se mezcla con las semillas y el adherente o bien, se coloca directamente en la cavidad del suelo preparada para depositar las semillas.
 - ii. En la raíz de las plántulas. Este tipo de aplicación requiere de mucho cuidado para evitar dañar la plántula. El biofertilizante se coloca alrededor del tallo a 2cm de separación de este sobre la superficie del sustrato.

Con lo expuesto anteriormente, se aprecia que el método de biofertilización que comúnmente se aplica es *in situ*, debido a su bajo costo y cantidad de biofertilizante empleado, no obstante presenta algunas desventajas como son:

- a) Trabajo adicional antes de la siembra o después de la germinación de las semillas,
- b) Posibles daños a las semillas durante el mezclado con el biofertilizante, lo que se refleja en un menor porcentaje de germinación,
- c) El efecto de la radiación UV y condiciones adversas del clima (sequía y heladas) y suelo (pH y pesticidas) ocasionan la disminución en la población bacteriana.
- d) Por otra lado, el empleo de semillas cubiertas con pesticida y/o fungicida, también ocasiona la disminución de la población de microorganismos inoculados (Fages, 1992).

2.3. El jitomate

El jitomate o "tomate rojo" es originario de América del Sur, aunque se considera a México como centro de su domesticación. El género *Lycopersicon* es nativo de la región de los andes peruanos y del noroeste de Chile, el nombre del género se refiere a su relativa toxicidad y la especie, *esculentum*, se refiere a sus características al ser consumido (Disagro, 2000). Los aztecas consumían una planta similar denominada *xitomatl* y se cree que este es el origen del nombre jitomate, que quiere decir tomate grande. Después de la llegada de los españoles dicho fruto se expandió al viejo continente y de ahí a todo el mundo; su incorporación gastronómica sólo es comparable a la realizada por Parmentier con la papa durante el siglo XVIII. El grado de aceptación que tiene en las diversas culturas del mundo se evidencia por el hecho de ser el segundo producto hortícola en el consumo mundial. En México, el jitomate se consume fresco o industrializado, ya sea en pastas, salsas, purés, jugos, etc; (Anónimo, 1998).

Las transformaciones y tecnologías que se vislumbran para el procesamiento, implican el establecimiento de normas precisas de control de calidad previos al proceso productivo, un detallado registro de los productos químicos a utilizar, la capacitación para el manejo de postcosecha en lo referente a selección, empaque, pre-enfriado y transporte del producto. Deberá darse un especial impulso a la innovación tecnológica en la cadena producción-comercialización, la investigación para el desarrollo y adaptación de variedades de alto rendimiento, larga vida de anaquel, sabor y presentación (Anónimo, 1998) para competir exitosamente a nivel mundial, especialmente si se considera que es el segundo vegetal con mayor producción, sólo por debajo de los cereales (ver Cuadro 2.3.1).

Cuadro 2.3.1 Situación hasta abril del 2007 de los 4 productos agrícolas de mayor producción en México.

Producto	Superficie (ha)		Producción (ton)	Rendimiento (ton/ha)
	Sembrada	Cosechada	Obtenida	Obtenido
Avena forrajera	103,440	55,991	1,370,807	24.483
Chile verde	36,783	23,644	617,545	26.119
Papa	28,649	20,700	540,952	26.133
Jitomate	36,545	27,277	980,535	35.948

Fuente: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), con información de las Delegaciones de la SAGARPA, 2007.

Los avances tecnológicos en su procesamiento y las modificaciones en los gustos y modas de las nuevas generaciones, propiciaron la exigencia de mejorar la calidad visual, esta se relaciona con el tamaño, forma, color, consistencia del fruto, así como con la calidad interna referida a su aporte nutricional, especialmente ahora que se le considera como un alimento funcional (Pelayo, 2003).

2.3.1. Características generales

El jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es una planta dicotiledónea perteneciente a la familia de las solanáceas, perenne, de porte arbustivo. La planta se desarrolla bien en un amplio intervalo de latitudes, tipos de suelo, temperaturas y diferentes métodos de cultivo. Es moderadamente tolerante a la salinidad, sin embargo se desarrolla mejor en ambientes cálidos, con buena iluminación y drenaje. La exposición prolongada a temperaturas inferiores a 10 °C, la escarcha, una iluminación diurna inferior a las 12 h, un drenaje deficiente o un abonado nitrogenado excesivo dañan el cultivo y en consecuencia al fruto.

Existen diversas variedades de jitomate clasificadas de acuerdo a su crecimiento, color o forma. Entre las principales variedades destacan el "jitomate bola y saladett o guajillo"

que son las de mayor talla y producción, y otras con menor tamaño y consumo como la variedad "cherry" (SIEA, 2002 y Disagro, 2000).

2.3.2. Producción mundial de jitomate

En los últimos años, la producción mundial se mantuvo estable, con un nivel promedio anual de 86 millones de toneladas. A nivel continental, según los reportes de FAO, Asia participa con poco más del 50%, seguida de América con 20%, Europa 15% y el resto proviene de Oceanía y África.

En la mayoría de los países productores de jitomate en el período 2004-2005 se registraron incrementos significativos, tal es el caso de Estados Unidos de América (23%), Italia (18%), Egipto (12%) y China (10%), mientras que México se ha mantenido con la misma producción (SIEA, 2002). 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 (Cuadro 2.3.2.1).

Cuadro 2.3.2.1 Producción de jitomate en el ámbito mundial, 2005.

País	Cantidad de Producción (1000 toneladas)
1. China	31,644.04
2. Estados Unidos de América	11,043.30
3. Turquía	10,050.00
4. India	8,585.57
5. Egipto	7,600.00
6. Italia	7,187.01
7. Rep. Islámica de Irán	4,781.02
8. España	4,651.00
9. Brasil	3,452.97
10. México	2,800.12

Fuente: FAOSTAT. Dirección de Estadística 18 julio 2007: www.fao.org.

2.3.3. Producción de jitomate en México

Como consecuencia de nuestra incorporación al TLC, el panorama impone nuevas estrategias que permitan no sólo crecer, sino también, mantener la permanencia en un mercado con exigencias para los productores. Existen dos retos fundamentales para cumplir con estas estrategias: una mayor integración de productores que permita exportar sus productos durante períodos más largos, y finalmente, la promoción del jitomate mexicano en otros mercados internacionales. Todo lo anterior significa adquirir una nueva cultura productiva y de comercialización, *“la historia ha dado cuenta de esta posibilidad, nos toca una vez más refrendarla”* (Anónimo, 1998).

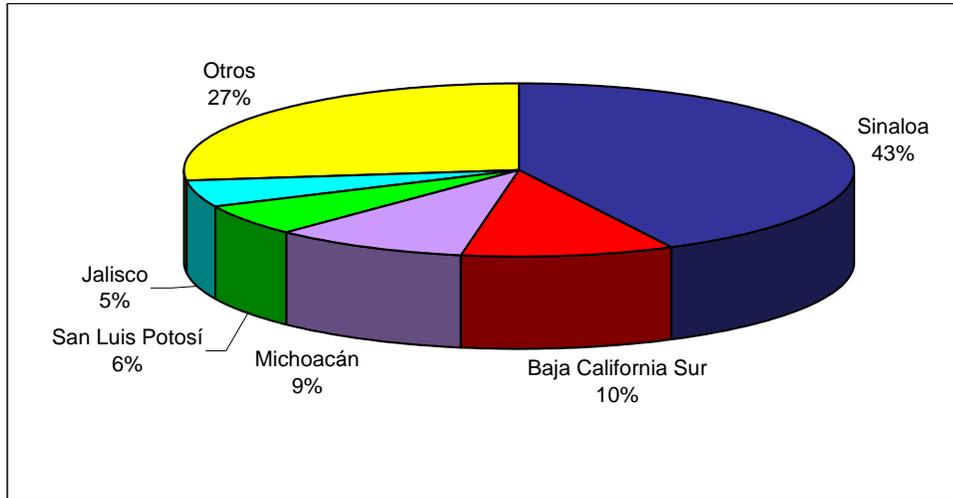
Existe una relación entre régimen de humedad y niveles de rendimiento, por lo que para el cultivo de jitomate se recomienda el régimen bajo riego; es por ello que en nuestro país el 85% de la superficie cultivada corresponde a este régimen y el 15% restante al de temporal (SIEA, 2002). Según cifras del Servicio de Información Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), la producción en el año 2006 hasta el mes de mayo fue de 855,228 toneladas (Cuadro 2.3.3.1).

Cuadro 2.3.3.1 Producción de jitomate de los estados más representativos de la Republica Mexicana.

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

Fuente: SAGARPA, Servicio de Información Estadística, Situación al 31 de Mayo 2006.

Por otro lado, de acuerdo con la SIAP (2007), la producción total de jitomate en México durante los últimos diez años (1991-2000) fue de 19 millones de toneladas, concentrándose el 70% de la producción en los estados de: Sinaloa (42.9%), Baja California (9.8%), San Luis Potosí (6.2%) y Michoacán (8.7%) ver Figura 2.3.3.1.



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

FIGURA 2.3.3.1 Participación de los estados de la República Mexicana en la producción de jitomate, 2002.

Durante el periodo analizado, la superficie de Sinaloa dedicada a la siembra de este cultivo representó el 33.5% respecto al total nacional, el destino de la producción de jitomate se orienta tanto al mercado nacional como al internacional, dependiendo de las condiciones prevalecientes al momento de la cosecha. Aproximadamente el 10% del producto se exporta y el resto es consumido por los mexicanos, quienes lo han integrado a su dieta alimentaria en forma abundante (SIEA, 2002). Sin embargo, la producción no ha crecido al ritmo esperado, tal vez debido a la saturación de los mercados tanto nacionales como internacionales y/o las desventajas a las que se enfrentan los campesinos de nuestro país en comparación con los productores de países del primer

mundo quienes aplican novedosas técnicas productivas, en tanto que los productores nacionales tienen recursos limitados y maquinaria obsoleta o carecen de ella.

La búsqueda del incremento en la calidad del producto que surta a ambos mercados es la tendencia actual del productor para lograr mayores nichos en el acomodo del producto (SIEA, 2002). A pesar de la producción y la importancia que el cultivo de esta hortaliza tiene para el país, la siembra de jitomate enfrenta diversos problemas entre los que destacan:

- a) Uso indiscriminado de agroquímicos.
- b) Vida de anaquel corta.
- c) Tecnología obsoleta e insuficiente en la preservación del fruto.
- d) Variación climática anual.

2.3.4. Sistemas de cultivo

En México existen dos sistemas principales para el cultivo, por siembra directa y por almácigo:

- El método de siembra directa, se basa en colocar las semillas directamente en el suelo o campo de siembra en horadaciones hechas a mano o con maquinaria, donde previamente el suelo fue acondicionado para el cultivo.
- El método de almácigo, consiste en sembrar las semillas en charolas de germinación con suelo u otro tipo de soporte como turba (peat moss), agrolita o vermiculita por mencionar algunas; una vez obtenidas las plántulas, se transplantan al lugar en el que crecerán hasta su madurez y producción ya sea en macetas, o en camas en campo o invernadero. En nuestro país, el uso de este último ha cobrado fuerza especialmente en los estados del norte de la República

Mexicana, en donde se cuenta con mayor nivel tecnológico y económico (SIEA, 2002).

2.3.5. Calidad externa del jitomate

La calidad visual o externa del jitomate, se basa en la forma, apariencia y 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. Algunas de las características que el consumidor busca al momento de adquirir el fruto dependiendo de la variedad son (Artes *et al*; 1999):

1. Forma. Redondo, globoso, globoso aplanado u ovalado, dependiendo de la variedad.
2. Color. Uniforme de anaranjado-rojo a rojo intenso; dependiendo del consumo que se le vaya a dar.
3. 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/o mecánico (magulladuras).
4. Firmeza. Al tacto, no debe estar muy suave ni se debe deformar fácilmente (Trevor *et al*; 2006).

2.3.6. Composición nutrimental

La composición química de los frutos del jitomate depende de factores tales como: la variedad, grado de madurez, condiciones de cultivo y ambientales durante la época de crecimiento y producción. La calidad externa del fruto, su valor nutritivo y sabor

dependerá de sus componentes químicos (Aguayo y Artés, 2004). En el Cuadro 2.3.6.1, se presenta la composición nutrimental de este fruto.

Cuadro 2.3.6.1 Composición nutrimental promedio del jitomate.

Constituyentes	Contenido (por 100g de porción comestible)
Energía (kJ)	56
Agua	94,7
Grasa	0,3
Fibra dietética	1,6
Carbohidratos (g)	
Glucosa	0,9
Fructosa	1,0
Ácidos orgánicos (g)	
Cítrico	0,43
Málico	0,08
Vitaminas y minerales (mg)	
Vitamina C	26
Tiamina	0,06
Riboflavina	0,04
Ácido nicotínico	0,7
Licopeno	1.5-2
β-Caroteno	0,34
Potasio	258
Sodio	3
Calcio	10
Magnesio	10
Hierro	0,6
Fósforo	24

Fuente: (Infojardín, 2006; Composición de Alimentos Mexicanos, 1999 y McGlasson, 1993).

El color es tal vez el índice más fiable e importante de madurez del jitomate (Campos *et al.*, 1997). Las clorofilas a y b son los principales pigmentos predominantes en el fruto hasta el estado verde maduro, mientras el típico color rojo de los jitomates maduros se debe al licopeno (Nguyen y Schwart, 1999; Fernández *et al.*; 2007). Se ha demostrado que el fruto verde maduro contiene sólo α y β -carotenos (Meredith y Purcell, 1996). En

los frutos rojos, el β -caroteno y el licopeno contribuyen en un 7% y 87% respectivamente a los carotenoides en el fruto del jitomate rojo normal (Ferrari y Benson, 1961). También se sabe que el color de los jitomates rojos depende de los carotenoides totales, además de la relación entre los pigmentos dominantes: el licopeno que proporciona el color rojo y el β -caroteno que proporciona el color amarillo (Salunkhe *et al.*: 1974; Salunkhe y Kadam, 2004).

Los sólidos solubles en los jitomates son predominantemente azúcares, mismos que contribuyen al sabor de forma importante. Aguayo y Artés (2004) consideran que para tener un aroma y un sabor óptimos, los jitomates deben tener un contenido en sólidos solubles (TSS) de entre 4 y 6 °Brix, una acidez entre 0,2 y 0,6% y un pH entre 4 y 5. En este sentido Baldwin *et al.* (1998) consideran que la relación entre el TSS y la acidez es un buen indicador del sabor y aroma de los jitomates, así mismo Mencarelli y Salveit (1988) señalaron que un valor bajo de TSS/acidez está asociado a tomates insípidos. En general, estos estudios indican que 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 característico sabor ácido del fruto del jitomate (Baldwin *et al.*; 1998).

El fruto del jitomate es una buena fuente de ácido ascórbico en la alimentación. El contenido promedio de vitamina C es de aproximadamente 25 mg/100 g; sin embargo, los valores dependen de la variedad del fruto. Así mismo, se ha encontrado que el nivel máximo de ácido ascórbico se presenta durante el proceso de maduración y que posteriormente ocurre un decremento cuando empieza a envejecer el fruto (Dalal *et al.*; 1965; Fryer *et al.*; 1954; Brown y Moser, 1941). Clutter y Miler (1961) descubrieron

que 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, además de que los frutos expuestos directamente a la luz solar contienen una concentración más elevada de este compuesto en comparación con aquellos madurados a la sombra.

El jitomate también contiene otros ácidos orgánicos entre los que se encuentran: el ácido fólico, ácido pantoténico y ácido nicotínico; al igual que vitaminas como: la biotina, vitamina K, riboflavina y tiamina (Salunkhe y Kadam, 2004). Aunque los minerales representan una pequeña fracción de la materia seca del fruto, juegan un importante papel en la composición nutricional de los frutos. En general, el contenido mineral aumenta durante el crecimiento y la maduración del jitomate. Además, debido a las grandes cantidades consumidas, los jitomates son una fuente importante de potasio en la dieta. (Salunkhe *et al.*; 1974; McGlasson, 1993).

El nitrógeno, fósforo y potasio suponen más del 90% del contenido de minerales en el fruto; durante el desarrollo de éste, el nitrógeno y el fósforo disminuyen del 3% al 0,6% y del 2% al 0,4% de materia seca, respectivamente, mientras el potasio permanece constante, alrededor del 3%. El potasio representa el 85% de los cationes en el fruto y su acumulación es proporcional a la de materia seca. Esta relación varía con la concentración de potasio en la solución nutritiva y las condiciones de cultivo. El aumento en el suministro de potasio incrementa la acidez y el color del fruto. La deficiencia en potasio produce un acortamiento en el periodo de crecimiento del fruto y aumenta al máximo la respiración climatérica (McGlasson, 1993).

2.3.7. El jitomate como alimento funcional

En la década de los ochenta, en Japón se desarrolló el concepto de alimento funcional. Este concepto se basa en consumir alimentos que no solo fueran más saludables e importantes en la dieta como se muestra en el cuadro 2.3.7.1, sino que además proporcionaran agentes bioactivos capaces de prevenir diversas enfermedades y/o fortalecer el sistema inmunológico del consumidor (Garduño, 2001) con el propósito de abatir los costos de los tratamientos de enfermedades de la población.

Cuadro 2.3.7.1 Propiedades funcionales de frutas y hortalizas.

Grupo	Propiedades funcionales
Frutas Cítricas	Reducen el riesgo de cáncer causado por carcinógenos químicos y la agregación de plaquetas (formación de coágulos), factor que propicia los ataques cardiacos y las embolias. Previenen la pérdida de la vista.
Melones y Bayas (además incluidos el kiwi, pepino, calabacita y calabaza)	Refuerzan el sistema inmunológico y reducen el colesterol de la sangre.
Uvas (variedades rojas y púrpuras)	Ayudan a resistir el efecto de los carcinógenos, protegen de alteraciones al ADN y previenen la agregación de plaquetas.
Familia Cruciferae (brócoli, col, coliflor, colecitas de Bruselas, col rizada, nabo, berro y hoja de mostaza)	Protegen de alteraciones al ADN, reducen el riesgo de algunos tipos de cáncer y refuerzan la habilidad del organismo para combatir el cáncer.
Hortalizas y Frutas anaranjadas o de color amarillo intenso. Hortalizas de hoja verde	Previenen cáncer, arteriosclerosis, coágulos y pérdida de la vista.
Jitomate y Berenjena	Evitan la formación de carcinógenos y protegen a las células de su acción. Destruyen especies reactivas como los radicales libres.
Cebolla, Ajo, Poro y Cebollines	Ayudan a que el organismo produzca menos colesterol, destruyendo carcinógenos, controlan células cancerosas y eliminan otros químicos tóxicos.
Otra Frutas y Hortalizas (alcachofa, durazno, nectarina, ciruela, cereza, pera, manzana, mango, plátano y aguacate)	Proporcionan folatos, potasio y otros nutrientes que reducen el riesgo de cáncer y otras enfermedades del corazón. Las grasas monoinsaturadas del aguacate, aceite de olivo y nueces pueden proteger de afecciones cardiovasculares.

Fuente: Servicio de Salud del Departamento de California, EUA (Pelayo, 2003).

Como un agregado a la importancia nutricional del jitomate, en años recientes se está investigando su papel como alimento funcional. En este sentido: Phyllis Bowen del Programa de Alimentos Funcionales para la Salud de la Universidad de Illinois menciona que:

"El licopeno, presente abundantemente en jitomates, toronja roja y pimientos rojos, es el carotenoide que se encuentra en las concentraciones más altas en el suero de sangre humana en Estados Unidos..., además el consumo de licopeno a partir de alimentos como pizzas y salsa de jitomate puede ayudar a reducir el riesgo de cáncer de próstata" (Garduño, 2001).

Nguyen y Schwartz (1999), Beecher (1998) y Steinmetz y Potter (1996) coinciden en que dietas ricas en jitomate aportan beneficios en la salud de los seres humanos como son la disminución de incidencia de cáncer de próstata o de otros tipos de cáncer. En este sentido otros estudios revelaron que el consumo de licopeno contenido en diez raciones de jitomate o subproductos de éste, redujo en un 45% la posibilidad de desarrollar cáncer en la próstata (Prior y Cao, 2000, Pszczola, 2001 y Turgut, 2001).

Otras investigaciones descubrieron que también reducen los niveles de colesterol en forma de lipoproteína de baja densidad que tienen incidencia en enfermedades cardiovasculares (Giovannucci *et al*; 2002). Anteriormente se pensaba que este efecto se debía al licopeno del jitomate, pero posteriores investigaciones demostraron que este compuesto por si solo, no da la respuesta máxima, si no que este debe de ser suministrado directo del jitomate y no como extracto, lo cual indica que se requiere de otros elementos coadyuvantes.

Los carotenoides también han cobrado gran importancia debido a que son antioxidantes que neutralizan los radicales libres que dañan a las células, entre ellos el licopeno posee propiedades antioxidantes mucho más potentes que el β -caroteno, y actúa protegiendo las células del estrés oxidativo producido por la acción de los radicales libres (Candelas *et al*; 2005), que corresponden a uno de los compuestos responsables de cáncer, enfermedades cardiovasculares y envejecimiento. Este carotenoide se encuentra en el jitomate fresco pero también en los productos procesados, como el jitomate deshidratado, pasta de tomate y en polvo (Clinton, 1998). Desde el punto de vista nutricional, el licopeno está más biodisponible cuando se somete a cocción (pasta de tomate) y es así cuando tiene un mayor efecto como antioxidante y anticancerígeno (Rao *et al*; 1998). Otras investigaciones descubrieron que el consumo regular de jitomate reduce los niveles de colesterol en forma de lipoproteína de baja densidad y que influye en la disminución de riesgo de enfermedades cardiovasculares (Giovannucci *et al*; 2002).

2.4. Interacción *Azospirillum*-Jitomate

Bashan *et al*; (1989) en estudios de invernadero en los cuales emplearon cepas Nif^+ y Nif^- de la cepa Cd de *A. brasilense*, observaron incrementos en la altura de plántulas de 34 días; 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*, como bacteria promotora del desarrollo vegetal, pero concluyeron que éste efecto no puede ser atribuido únicamente a la fijación de nitrógeno (Bashan y Holguin, 1997 y Glick *et al*; 2001). Otro estudio realizado con 5 especies de *Azospirillum* (*A. brasilense*, *A. lipoferum*, *A. amazonense*, *A. halopraeferens* y *A. irakense*) 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. Por otro lado, en este mismo trabajo se observó que las cepas pertenecientes a las especies *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, 1998b).

Medina *et al*; (2000) evaluaron la respuesta del cultivo de jitomate a la aplicación de inóculos basados en *Azospirillum* y *Azotobacter*. En este trabajo se evaluó el efecto de la biofertilización con estos microorganismos, ya sea solos o con fertilizantes químicos variando las relaciones NP, NK y PK en fase de semilleros y de transplante, sobre la altura, peso fresco de las plántulas al transplante, el número de frutos y rendimiento agrícola, 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 de semillas de jitomate con *Azospirillum brasilense* sobre el desarrollo del cultivo en invernadero, en este trabajo se observó que la aplicación del inóculo bacteriano favoreció el desarrollo del cultivo mostrando diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la altura, área foliar, volumen radical, número de inflorescencias y peso seco de la planta con respecto al testigo. Las plantas inoculadas mostraron mayor tamaño y uniformidad de frutos que los frutos del tratamiento sin inocular, lo que constituye una gran alternativa para la producción del jitomate.

En los últimos años, en la Facultad de Química de la UNAM, se realizaron experimentos con diferentes cepas de *Azospirillum*, en los cuales se empleó 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 reportó 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) Hay un incremento en el diámetro del tallo de las plantas inoculadas,
- d) Se presentan incrementos del 25% al 52% en la producción y
- e) Es posible reducir la fertilización química al 50%.

(Esquivel-Cote, 2002; Ramírez-Gama *et al.*, 2001; Urzúa, 1997 y 2001; Domínguez, 2006).

3. HIPÓTESIS

Si el tipo de soporte y la forma de aplicación del biofertilizante a base de *Azospirillum*, influyen en el desarrollo de la planta y la calidad del fruto de Jitomate, entonces se obtendrá un aumento en la producción y el contenido de Licopeno y Vitamina C, tomados estos dos últimos como parámetros de calidad nutricional del Jitomate, proveniente de al menos uno de los tratamientos biofertilizados.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Comparar el efecto de la inoculación con biofertilizantes a base de *Azospirillum* en la producción y calidad de los frutos de jitomate para seleccionar el mejor tratamiento.

4.2. Objetivos particulares

1. Comparar la calidad de dos biofertilizantes (polvo y granular) elaborados en la Facultad de Química con un biofertilizante (polvo) comercial.
2. Comparar el efecto de los biofertilizantes en el crecimiento, producción y calidad del fruto de plantas de jitomate.
3. Comparar el efecto de la presentación del soporte del biofertilizante.
4. Comparar el efecto de la forma de aplicación del biofertilizante.
5. Seleccionar el tratamiento que proporcione una mayor producción y calidad en los frutos de jitomate.

5. MATERIALES Y MÉTODO

5.1. Plan de trabajo

La estrategia planeada para la ejecución del experimento se resume en el diagrama de trabajo de la figura 5.1.1.

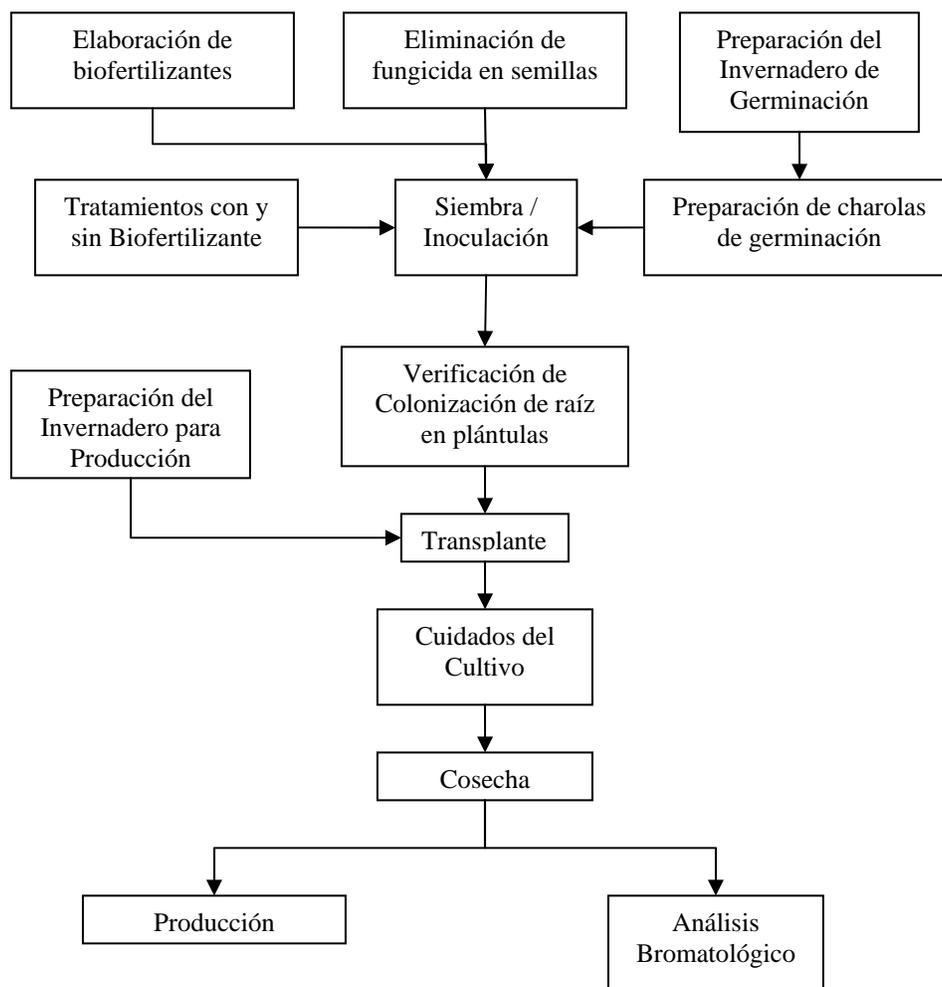


FIGURA 5.1.1. Diagrama general de trabajo para determinar el efecto de la inoculación con biofertilizantes a base de *Azospirillum* sobre la producción y la calidad del fruto de jitomate.

5.2. Material biológico

5.2.1. Jitomate

Se emplearon semillas de Jitomate (*Lycopersicon esculentum*) tipo Bola variedad “Caimán”, las que se lavaron 10 veces con agua estéril con el fin de eliminar el fungicida que las recubría.

5.2.2. Biofertilizantes

Se emplearon tres biofertilizantes: uno comercial y dos experimentales elaborados a partir de *Azospirillum brasilense* cepa VS9 (Flores, 1985) perteneciente a la colección del Laboratorio de Microbiología Experimental de la Facultad de Química de la UNAM (Anexo 10.1). El primero es un producto comercial de la marca “A si A”; está elaborado a base de *Azospirillum* con una concentración de 5×10^8 bacterias/g; los experimentales se elaboraron de acuerdo a lo descrito por Bonifaz (2005), cuyas presentaciones corresponden a:

- POLVO: turba molida en partículas finas y
- GRANULAR: turba en partículas gruesas.

5.2.3. Evaluación de la calidad del biofertilizante

Para cuantificar el número de células viables en los tres biofertilizantes, se empleó la técnica de dilución y vertido en placa, el proceso se efectuó por triplicado.

5.3. Sustratos para el cultivo

- Para la germinación de las semillas se empleó turba no estéril. Ésta se colocó en charolas de germinación con capacidad para 50 plántulas.
- Para el transplante se utilizó una mezcla de suelo tamizado (procedente del poblado Amayuca, Morelos) con agrolita en proporción 70:30 p/p, en bolsas de polietileno negras de 12L de capacidad.

5.4. Fertilizantes químicos

Previo a la aplicación del fertilizante químico, se realizó el análisis fisicoquímico del suelo cuyos resultados se presentan en el Cuadro 5.4.1., de acuerdo con estos datos se decidió utilizar la fórmula 120-70-300 recomendada para el cultivo de jitomate por López (1994), los fertilizantes empleados fueron: Superfosfato triple 17, Sulfato de amonio y Cloruro de potasio. En una segunda etapa de fertilización se emplearon: Sulfato de Potasio y Manganeseo.

Cuadro 5.4.1. Propiedades físicas y químicas 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 en el Laboratorio Central Universitario de la Universidad Autónoma de Chapingo.
Departamento de Suelos.

5.5. Sitios de germinación y producción de jitomate

Se emplearon dos invernaderos, uno para la germinación y el segundo para mantener las plantas a partir del trasplante hasta la producción.

- Invernadero para germinación y trasplante: Se empleó un invernadero con cubierta de fibra de vidrio con un paso de luz del 20%. Este se lavó con agua y jabón, posteriormente se desinfectó con una mezcla de Formaldehído/permanganato de

potasio. Para eliminar residuos del agente desinfectante, se ventiló por 24 hrs., y se ajustó a la temperatura y humedad requerida (18/30°C noche/día y 70% HR).

- Invernadero para producción de jitomate: Se ocupó un invernadero rústico cubierto con plástico para invernadero con entrada de luz del 80%. Este se lavó con agua y jabón y se ajustó la humedad relativa al 70% y temperatura del día 30-35°C y noche 13-15°C.

5.6. Tratamientos

Los tratamientos que se emplearon en este trabajo corresponden a:

- 1) Testigo absoluto [TA]
- 2) Testigo con 50% de fertilización química [T50]
- 3) Testigo con 100% de fertilización química [T100]
- 4) Biofertilizante de Turba en polvo adherido a la semilla* [TPAS]
- 5) Biofertilizante de Turba en polvo aplicado en la horadación* [TPH]
- 6) Biofertilizante de Turba granular aplicado en la horadación* [TGH]
- 7) Biofertilizante de Turba granular mezclada con Turba sin esterilizar en proporción 1:1 p/p* [TG1:1]
- 8) Biofertilizante de Turba granular Comercial adherido a la semilla* [TGC]

* Tratamientos con 50% de fertilización química.

5.7. Inoculación de semillas de jitomate

La inoculación de las semillas se realizó, de acuerdo a la presentación del soporte y forma de aplicación del biofertilizante, como se indica a continuación:

- Tratamientos 1, 2 y 3. Testigos sin inocular.
- Tratamientos 4 y 8: las semillas se sumergieron en el adherente (goma arábica) y posteriormente se impregnaron con el biofertilizante.

- Tratamientos 5 y 6: se pesaron 0.05g del biofertilizante y se colocaron en la horadación de 1.5cm de profundidad, en los que posteriormente se depositaron las semillas.
- Tratamiento 7: se mezcló la turba (sustrato para las charolas de germinación) con el biofertilizante, en proporción 1:1 p/p. Con esta mezcla se llenaron los contenedores, antes de la siembra.

5.8. Siembra de las semillas

Para todos los tratamientos se sembraron 20 semillas, las cuales se colocaron en las charolas con turba, dentro de horadaciones de 1.5cm de profundidad previamente realizadas. Se empleó una charola por cada tratamiento para evitar contaminación.

5.9. Determinación de la colonización de *Azospirillum* en la raíz de las plántulas

La presencia de *Azospirillum* en la raíz se determinó en tubos con NFbss (Anexo 10.2) mediante la cuantificación del número más probable por gramo de raíz (NMP/g raíz). A los 35 días se tomaron al azar 3 plántulas por tratamiento (en el caso de los tratamientos 1, 2 y 3 se consideró como uno solo). A cada una de ellas se le cortó la raíz, la cual se pesó y manipuló en condiciones asépticas siguiendo los pasos que se exponen a continuación: primero la raíz se desinfectó con hipoclorito al 3%, posteriormente se enjuagó con agua destilada estéril, inmediatamente después se maceró, dentro de tubos de ensaye con 9 mL de SSI, con ayuda de un agitador de vidrio; después se efectuaron diluciones decimales y se sembraron 5 tubos con NFbss por cada dilución. Los tubos se incubaron a 35°C por 48 hrs., a partir de este tiempo, se observó la aparición de una película blanca y el característico vire del indicador (Tarrand *et al*; 1978). Se contabilizó el número de tubos positivos por dilución y tratamiento, se obtuvo el número característica y mediante tablas de NMP se calculó el tamaño de la población de *Azospirillum* en la raíz.

Con el fin de confirmar la presencia de *Azospirillum*, se tomaron muestras de los tubos con desarrollo positivo y se realizaron preparaciones en fresco y tinción de Gram para verificar las características microscópicas típicas del microorganismo.

5.10. Fertilización química

La fertilización química se aplicó en 2 tiempos: antes del trasplante y durante la floración.

- Antes del trasplante: el suelo tamizado se colocó en las bolsas y una semana antes del trasplante se adicionaron los fertilizantes mencionados en la sección 5.4 de acuerdo con López (1994), con el fin de que comenzaran a solubilizarse y estuvieran disponibles para la planta.
- Durante la floración: Desde el inicio de la floración y cada 20 días se aplicaron los fertilizantes indicados en la 2ª etapa de la sección 5.4, alrededor del tallo de la planta.

5.11. Cuidado del cultivo de plantas de jitomate

- Riego: Durante los primeros 42 días de germinación, se regó con agua de filtro, dos veces al día, después del trasplante se regó con agua de la red local con la misma frecuencia. El volumen de agua varió con la etapa de crecimiento de la planta.
- Entutorado: Aproximadamente a los 60 días después de la siembra, las plantas se sostuvieron con cuerdas de hilo, amarradas desde el techo del invernadero hasta la base del tallo. Para evitar la estrangulación, se enroscó la cuerda por debajo de una hoja consistente en el sentido de las manecillas del reloj.
- Poda: De manera manual se eliminaron los chupones cuando estos alcanzaron una longitud de 2cm.
- Cosecha: Los frutos se cortaron al alcanzar su talla máxima y en la etapa de “turning” (coloración naranja-rosa-rojo).

5.12. Desarrollo de la parte aérea y radical en las plántulas

Para determinar el desarrollo de la parte aérea y radical en las plántulas con 42 días de desarrollo, se tomaron 3 plántulas de cada tratamiento, las cuales fueron segmentadas en parte aérea (tallo + hojas) y parte radical (raíz), se pesaron por separado y se colocaron en bolsas de papel, previamente secadas en estufa a 110°C hasta peso constante. Las bolsas con la raíz o parte aérea de la plántula se colocaron en la estufa a 110°C hasta obtener un peso constante. Se efectuó un análisis estadístico ANOVA (one-way), para encontrar Diferencias Estadísticamente Significativas (DES) entre los tratamientos se utilizó la prueba de Tukey con $p \leq 0.5$, mediante el software estadístico SPSS v.12.0 para Windows.

5.13. Variables a evaluar

Las variables a evaluar para determinar el efecto de la inoculación con biofertilizantes a base de *Azospirillum* sobre la producción y la calidad del jitomate fueron:

- Producción de jitomate:
 - Registro del inicio de floración y
 - Peso por fruto.
- Calidad del fruto de jitomate
 - pH del fruto.
 - Análisis Bromatológico, determinación de :
 - ◆ Ácido Ascórbico (AOAC, 1990) y
 - ◆ Licopeno (Martínez-Valverde *et al*; 2001; Sadler *et al*; 1990; Sharma y Le Moguer, 1996).

5.14. Metodología para la evaluación

5.14.1. Producción

➤ Registro del inicio de floración:

Se observó el desarrollo de las plantas semanalmente, con el fin de registrar el tiempo (en días) de la aparición del primer racimo floral, así como los racimos subsiguientes, hasta la aparición del cuarto racimo.

➤ Peso por fruto:

Se midió el peso de cada fruto en una balanza granataria OHAUS con una sensibilidad de 0.01g.

5.14.2. pH del fruto

Se maceró el fruto en un mortero, para después verter el extracto en un vaso de precipitados de 250mL y medir el pH con un potenciómetro OAKTON modelo WD-35615 con una precisión de 0.01.

5.14.3. Análisis Bromatológico

5.14.3.1. Ácido Ascórbico (Vitamina C)

Se pesaron 10g del fruto macerado (utilizado para la determinación de pH), y se colocaron en un matraz aforado de 100mL, que contenía 50mL de ácido acético glacial al 5%, y se aforó con agua destilada. Se agitó por 30 segundos, posteriormente se tomó una alícuota de 2mL y se efectuó la titulación con la solución valorada de 2,6-diclorofenol-indol (D.I.), hasta que se observó una coloración rosa que persistía durante 15s. Esta determinación se expresó en mg de ácido ascórbico/100g de Jitomate ver Anexo 10.3 (AOAC, 1990).

5.14.3.2. Licopeno

Se colocaron 10g de jitomate en un matraz Erlenmeyer forrado con papel aluminio (para evitar la descomposición del licopeno por la luz), se adicionó una mezcla de disolventes

compuesta por hexano:acetona:alcohol metílico (2:1:1); dicho matraz se colocó en una agitadora (cubierta también al paso de la luz) y se agitó a 200 rpm durante 30 minutos. Después, el contenido del matraz se vertió a un embudo de separación. Se dejó reposar un instante para permitir la separación de las fases orgánica y acuosa; la fase acuosa se desechó en tanto que la orgánica se colocó en tubos de ensaye forrados con papel aluminio (Martínez-Valverde *et al*; 2001). Por último se midió la absorbancia a 472nm; utilizando como blanco solo hexano. Con el valor de absorbancia obtenido y el coeficiente de extinción molar reportado en la literatura ($3.450 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$); de acuerdo a Sadler *et al.* (1990) y Sharma y Le Moguer (1996) se obtuvieron las concentraciones de licopeno en los extractos, las que se expresan en mg de licopeno/100 g de Extracto de Jitomate (Anexo 10.3). Cuando se tuvieron lecturas muy altas de absorbancias, la muestra se diluyó en proporción 1:10 con hexano (1mL de fase orgánica con 9mL de hexano).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Calidad de los biofertilizantes

A) Biofertilizantes experimentales.

En el cuadro 6.1.1., se muestran los resultados de la población de *Azospirillum* presentes en los biofertilizantes, los cuales cumplen con lo recomendado en la literatura (Ramírez-Gama, 2002).

B) Biofertilizante comercial.

Con respecto a TGC, en el cuadro 6.1.1., se observa que la cantidad de microorganismos es ligeramente inferior a la señalada en la etiqueta del producto (5×10^8 UFC/g), sin embargo su calidad es baja debido a que en las cajas se observaron algunos contaminantes.

Cuadro 6.1.1. Cantidad de azospirila presente en los biofertilizantes.

Biofertilizantes*	UFC/g de Biofertilizante
Turba en Polvo	2×10^8
Turba Granular	2×10^9
Turba Granular 1:1	2×10^7
Turba Granular Comercial	2×10^8

* Cantidad determinada en tres repeticiones.

En todos los tratamientos se comprobó la presencia de *Azospirillum* mediante observaciones microscópicas (Tinción de Gram y Preparación en Fresco) y macroscópicas (forma, borde, color, textura, etc.) de las colonias desarrolladas en las placas (Figura 6.1.1.).

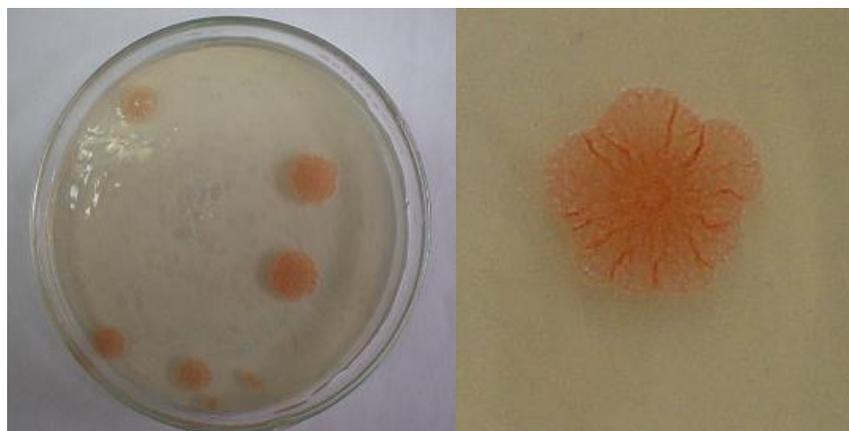


FIGURA 6.1.1. Desarrollo típico de *Azospirillum* en placa, observar las características de crecimiento en agar nutritivo (borde ondulado, consistencia seca, superficie rugosa, elevación umbonada, color rosa-salmón).

6.2. Determinación de la colonización de *Azospirillum* en la raíz de las plántulas de jitomate

Los resultados del cuadro 6.2.1; confirman la capacidad de *Azospirillum* para colonizar las raíces de jitomate (Bashan, 1998a, Bashan *et al*; 2002; Urzúa, 2001 y Esquivel-Cote, 2002). Por otro lado, es evidente la mayor capacidad colonizadora del biofertilizante comercial, sin embargo al verificar la morfología microscópica, se detectaron algunas bacterias contaminantes.

Cuadro 6.2.1. Cantidad de azospirila presente en la raíz de las plántulas de jitomate biofertilizadas y sin biofertilizar antes del transplante.

Tratamiento	NMP/g de raíz*
Testigo	0
TPAS	8.9×10^2
TPH	4.9×10^3
TGH	1.2×10^3
TG1:1	6.1×10^3
TGC	$>> 1 \times 10^5$

* Promedio de 3 muestras para cada tratamiento con 5 repeticiones.

Los tratamientos TPH, TGH y TG1:1 presentaron una colonización similar entre ellos y superior a TPAS; en tanto que en los testigos se confirmó la ausencia de la bacteria. La presencia de *Azospirillum* en las raíces de las plántulas se comprobó al observarse tanto la morfología macroscópica como la microscópica (Figura 6.2.1.) de las bacterias encontradas.

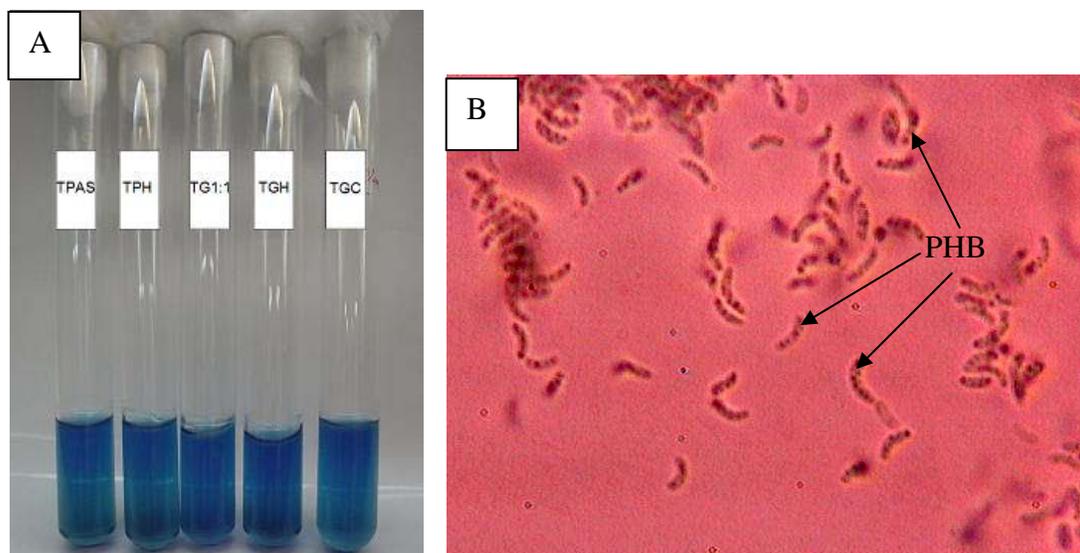


FIGURA 6.2.1. A) Tubos con desarrollo positivo para *Azospirillum*, observar la formación de la película en la superficie y color del vire del indicador B) Fotografía de *Azospirillum* en preparación en fresco, note la morfología típica de la bacteria, célula vibrioide y presencia de gránulos de PHB.

6.3. Desarrollo de la parte aérea y radical en las plántulas de jitomate

Una de las características del empleo de Biofertilizantes en cultivos, es el incremento en masa de la parte aérea en las plantas (Okon y Kapulnik, 1986; Umali-García *et al*; 1980), esto se confirmó en el presente experimento debido a que se encontró:

- A) Un mayor peso fresco de la parte aérea de TG1:1 y TPH con DES e incrementos superiores al 46% con respecto al testigo (Cuadro 6.3.1.),

- B) Incrementos superiores al 81% con DES en el peso seco de la parte aérea en los tratamientos TG1:1, TPH y TPAS con respecto al tratamiento no inoculado.
- C) En el caso del producto comercial (TGC), en ambos parámetros se obtuvieron los resultados más bajos (decremento del 7.5% en cuanto a peso fresco de la parte aérea y un 27.3% en el peso seco de la parte aérea) sin mostrar DES con el testigo, esto puede deberse a la presencia de organismos contaminantes cuyo efecto sobre el cultivo de estudio no se conoce.

Otra característica de la inoculación de *Azospirillum*, es el mejor desarrollo de la raíz, debido a que este microorganismo es capaz de sintetizar fitohormonas, que fomentan el desarrollo de la parte radical (Okon y Kapulnik, 1986; Umali-García *et al*; 1980; Bashan, 1998b, Bashan *et al*; 2002; Esquivel-Cote, 2002). En este estudio se observó que:

- A) El tratamiento TG1:1 incrementó el peso fresco de raíz en un 58% con DES respecto al tratamiento no inoculado.
- B) TPH incrementó significativamente el peso seco de raíz con DES en un 170%. Cabe destacar que este tratamiento presentó un valor de peso fresco de raíz similar al testigo, esto probablemente se debe al tipo de desarrollo que tuvo, su raíz central fue muy pequeña, pero presentó numerosos pelos radiculares, de forma tal que contenía poca agua y mayor biomasa.
- C) Nuevamente el tratamiento TGC obtuvo valores inferiores al testigo en peso fresco y seco de raíz, sin DES con TPAS y TGH por debajo del testigo.

En las cuatro variables de estudio, TG1:1 y TPH fueron los tratamientos más consistentes en su efecto. En el caso de TG1:1, aunque no se presentaron DES en peso seco de raíz con respecto al testigo, si hubo un incremento del 60% con respecto a este. Con TPH únicamente en peso fresco de raíz no hubo DES, sin embargo presentó un incremento del 16% en esta variable.

Cuadro 6.3.1. Efecto de la biofertilización con *Azospirillum* en el desarrollo de la parte aérea y radical de las plántulas de jitomate.

Tratamientos*	Peso (g)			
	Parte Aérea		Parte Radical	
	Fresca	Seca	Fresca	Seca
Testigo	0.404 ^{cd}	0.044 ^c	0.310 ^{bc}	0.020 ^{bc}
TPAS	0.342 ^d	0.080 ^b	0.114 ^d	0.014 ^c
TPH	0.590 ^b	0.116^a	0.360 ^{ab}	0.054^a
TGH	0.486 ^{bc}	0.048 ^{bc}	0.324 ^{bc}	0.012 ^c
TG1:1	0.938^a	0.128^a	0.490^a	0.032 ^b
TGC	0.374 ^{cd}	0.032 ^c	0.178 ^{cd}	0.010 ^c

^{a, b, c, d} Letras diferentes en columnas entre tratamientos presentan DES. (ANOVA con Tukey HSD^a, p ≤ 0.05).

* El peso promedio se obtuvo a partir de 10 plántulas por tratamiento.



FIGURA 6.3.1. Desarrollo observado en plántulas de jitomate en charolas de germinación (durante el transplante) y bolsas de polietileno (transplantadas) a los 42 días.

6.4. Producción de jitomate

6.4.1. Registro del inicio de floración

Como se observa en el Cuadro 6.4.1.1, a los 64 días de crecimiento de las plantas, comenzó la formación de racimos florales en todos los tratamientos inoculados y con fertilización química. Destacan los tratamientos TGH y TG1:1, en los cuales todas las plantas presentaron un racimo floral, TPAS y TGC cuatro plantas, mientras que en TPH y el testigo con dosis completa de fertilización solo tres plantas presentaron un racimo. Posteriormente se continuó el registro de la aparición de los racimos; los tratamientos después de los 120 días generaron lo siguiente:

- A) TGH y TG1:1 a los 120 días completaron los cuatro racimos florales contemplados para este trabajo en las cinco plantas que se observaron.
- B) Los tratamientos TA50, TA100, TPAS, TPH y TGC llegaron a la producción de los cuatro racimos florales por planta hasta los 128 días.
- C) Finalmente, TA después de 136 días completó su producción de los cuatro racimos florales en todas las plantas de estudio.

Se observó el adelanto en la floración de todos los tratamientos a base de biofertilizantes con respecto al testigo sin fertilización química (TA) y al que tenía la misma dosis de fertilización (TA50) según lo reportado por algunos autores (Esquivel-Cote, 2002; Ramírez-Gama *et al.*, 2001; Urzúa, 1997 y 2001), dando por consiguiente un adelanto en la cosecha de los frutos.

Cuadro 6.4.1.1. Seguimiento de la aparición de racimos florales en plantas de jitomate biofertilizadas con *Azospirillum* o fertilizadas químicamente durante el periodo de producción.

Días	Promedio acumulativo de Racimos Florales*							
	TA	TA50	TA100	TPAS	TPH	TGH	TG1:1	TGC
64	NF	0.2	0.6	0.8	0.6	1.0	1.0	0.8
72	NF	1.2	1.6	1.8	1.6	2.0	2.0	1.8
80	0.2	1.8	2.2	2.6	2.2	2.2	2.8	2.4
88	0.6	2.0	2.6	2.8	2.4	2.4	3.0	2.8
96	1.2	2.2	2.8	3.0	2.8	2.8	3.2	3.0
104	1.8	2.6	3.0	3.2	3.0	3.2	3.4	3.2
112	2.0	3.0	3.2	3.6	3.2	3.6	3.8	3.4
120	3.0	3.4	3.4	3.8	3.6	4.2	4.2	3.8
128	3.2	4.0	4.2	4.2	4.2	F	F	4.2
136	4.0	F	F	F	F	F	F	F
Total de racimos Florales	4.0	4.0	4.2	4.2	4.2	4.2	4.2	4.2

* Racimos promedio acumulados de 5 plantas por tratamiento.

Todos los tratamientos fueron observados hasta que cada planta produjo 4 racimos florales.

NF no hubo floración

F fin de muestreo

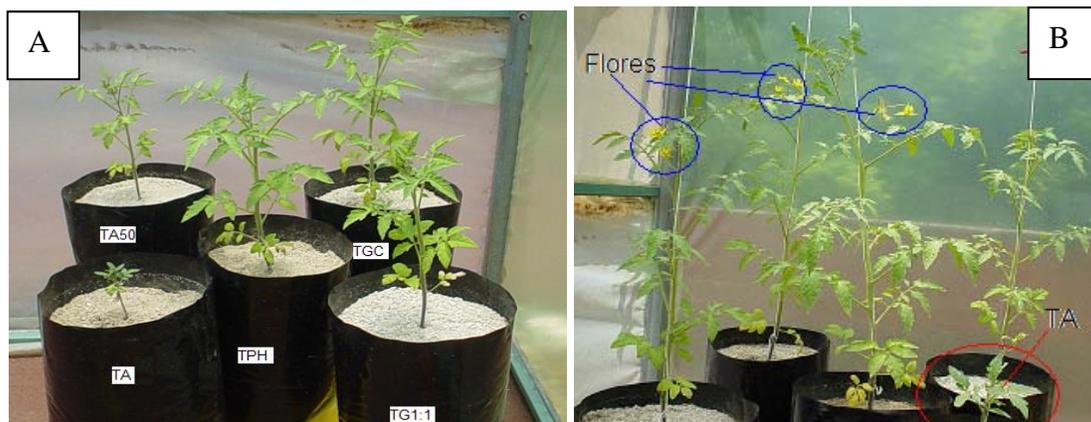


FIGURA 6.4.1.1. A) Desarrollo de las plantas antes del inicio de la floración (56 días), observar el tamaño de las plantas de los tratamientos TA y TA50 que presentan menor talla que los tratamientos inoculados y B) Apariencia al inicio de la floración (64 días), observar en los círculos azules los racimos florales y en la parte inferior derecha una planta del tratamiento TA.

6.4.2. Peso del fruto

De acuerdo con la literatura, el tiempo de cosecha del jitomate inicia a los 90 días, pero en el caso de las plantas inoculadas con *Azospirillum* esta acción se adelanta (Esquivel-Cote, 2002; Ramírez-Gama *et al.*, 2001; Urzúa, 1997 y 2001).

En este experimento la cosecha comenzó en los tratamientos biofertilizados, entre 10 y 15 días antes con respecto al tratamiento que no llevaba ningún tipo de fertilización (TA). En la Figura 6.4.2.1., se presenta la aparición del 2do racimo floral en los tratamientos con biofertilizante (TG1:1) y de frutos en pleno desarrollo, en tanto que con los tratamientos TA50 y TA100 a los 90 días se observaron solo dos plantas con frutos.

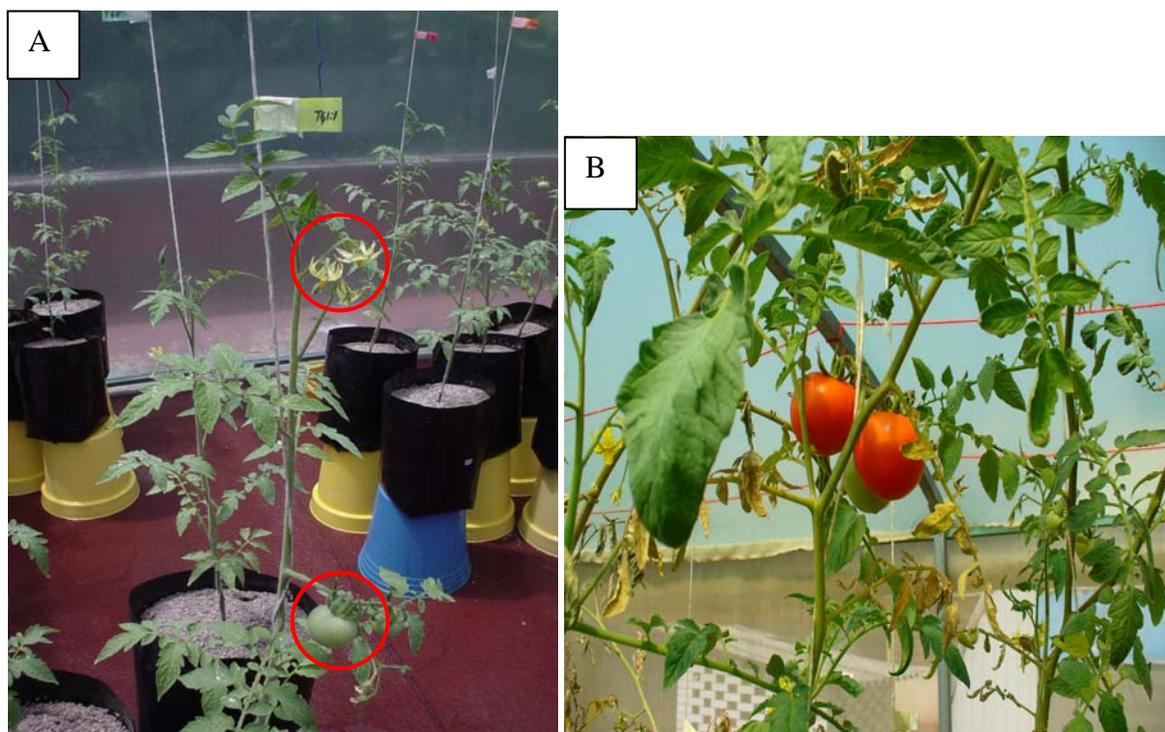


FIGURA 6.4.2.1. A) Planta de jitomate biofertilizada con el tratamiento TG1:1, observar el fruto en la parte inferior y el 2do racimo floral; B) misma planta al final del experimento, notar el tamaño de los frutos y su color.

En el cuadro 6.4.2.1., se presentan los resultados de producción total, en los que destacan:

- A) El tratamiento TG1:1 fue el que mayor producción generó, entre 68-69 frutos cosechados con DES entre los demás tratamientos; produjo 93% más que el TA, 23% más que TA50 y 14% más con respecto al TA100; además de ser uno de los tratamientos que más rápidamente produjo sus 4 racimos florales.
- B) Todos los tratamientos incrementaron como mínimo en un 57% la producción con respecto al TA.
- C) Los biofertilizantes comparados contra el tratamiento con la misma dosis de fertilización (TA50) produjeron un incremento entre 8-23%.
- D) TGC presentó DES comparada con los tratamientos TA y TA50, sin embargo, la aplicación de este producto condujo a una producción similar al TA100. Este comportamiento también se observó con TPH.

Estos resultados coinciden con lo reportado por Medina *et al* (2000) y Díaz e Iglesias (2002), respecto al incremento en producción, debido a que todos los tratamientos inoculados incrementaron o igualaron la producción obtenida con la fertilización química completa (TA100), se confirma su potencial agrícola en la producción de jitomate.

En cuanto al peso promedio de los frutos producidos por las plantas en experimentación podemos observar (Cuadro 6.4.2.1) que:

- A) TPAS fue el tratamiento con mayor peso promedio en frutos y aun cuando su producción fue la tercera (por debajo de TG1:1 y TGH) el peso promedio por fruto cosechado comparado contra el TA50 se incrementó en un 17% y con respecto al TA100 en un 8%, en ambos casos con DES.
- B) TPH fue el tratamiento que produjo los frutos de menor peso entre los biofertilizantes experimentales.

C) TGC generó los frutos de menor peso promedio, superando únicamente a los frutos del TA con DES y un incremento del 1.2%.

Cuadro 6.4.2.1. Producción total y peso promedio de frutos de jitomate, cosechados de plantas biofertilizadas con *Azospirillum* o fertilizadas químicamente.

Tratamiento*	Peso total de jitomates (kg)	Peso promedio de los frutos (g)
TA	3.94 ^f	101.2 ^g
TA50	6.19 ^e	114.6 ^b
TA100	6.69 ^d	109.8 ^d
TPAS	7.18 ^c	118.7^a
TPH	6.70 ^d	106.6 ^e
TGH	7.46 ^b	110.9 ^c
TG1:1	7.60^a	111.4 ^c
TGC	6.70 ^d	102.4 ^f

^{a, b, c, d, e, f, g} Letras diferentes en columnas para cada tratamiento presentan DES. (ANOVA con Tukey HSD^a, $p \leq 0.05$).

* Los datos reportados fueron hasta los frutos del 4to racimo floral para cada planta.

6.5. Calidad del fruto de jitomate

6.5.1. pH del fruto

En el Cuadro 6.5.1.1, se observa la variación del pH en los frutos producidos por los tratamientos, observando que TA generó los frutos más ácidos y TA100 el mayor valor de pH (4.56), con excepción de TA, el pH de los frutos de los tratamientos se encuentra en el intervalo de 4 a 5 considerado el óptimo por Aguayo y Artés (2004). Para esta variable, la fertilización química no tiene un efecto considerable comparado con la biofertilización.

Organolépticamente, los frutos de los tratamientos con biofertilizantes experimentales (excepto TGC), eran ligeramente dulces, con menor nota ácida y/o amarga en comparación con TA100.

Cuadro 6.5.1.1. Determinación de pH en frutos de jitomate provenientes de plantas biofertilizadas con *Azospirillum* o fertilizadas químicamente.

Tratamiento	pH*
TA	3.87
TA50	4.19
TA100	4.56
TPAS	4.21
TPH	4.27
TGH	4.32
TG1:1	4.27
TGC	4.24

* pH promedio de 8 frutos por tratamiento.

6.5.2. Análisis bromatológico

6.5.2.1. Ácido ascórbico (Vitamina C)

Como se mencionó anteriormente, el fruto del jitomate es una buena fuente de ácido ascórbico. El contenido medio de vitamina C está en torno a 25 mg/100 g de jitomate; sin embargo, los valores dependen de las variedades del fruto; así mismo, se ha encontrado que alcanza su máximo nivel durante el proceso de maduración y ocurre un decremento cuando empieza a envejecer el fruto (Dalal *et al*; 1965; Fryer *et al*; 1954; Brown y Moser, 1941).

En el Cuadro 6.5.2.1.1., se observa el comportamiento de la calidad interna de los frutos generados a partir de las plantas sometidas a experimentación, en donde:

- A) El tratamiento TPAS es el que mayor contenido de Vitamina C tuvo, observándose DES respecto a TA, TA50, TA100, con incrementos de 35%, 19% y 13% respectivamente.

- B) El tratamiento experimental que menor contenido de Vitamina C tuvo fue TGH, sin embargo se observó un incremento de esta variable en un 16% con respecto a TA y un 2% con respecto al TA50, observándose también un decremento de aproximadamente 3% con respecto a la producción del tratamiento fertilizado al 100%. El tratamiento TG1:1 comparte DES y un comportamiento similar a TGH.
- C) Cabe señalar que TGC solo logró incrementar el contenido de ácido ascórbico con respecto a TA y TA50 en un 19 y 5% respectivamente a pesar de haber compartido DES con los tratamientos TPH, TGH y TG1:1. Por otro lado, tampoco se observó un incremento en el contenido de Vitamina C comparado contra el TA100, aún cuando tuvo un mejor efecto que los biofertilizantes experimentales a base de turba granular.

Cuadro 6.5.2.1.1. Contenido de vitamina C determinada en frutos de jitomate provenientes de plantas biofertilizadas con *Azospirillum* o fertilizadas químicamente.

Tratamiento	mg de Vitamina C/100g de Jitomate*
TA	11.78 ^c
TA50	13.38 ^{bc}
TA100	14.04 ^b
TPAS	15.89^a
TPH	15.03 ^{ab}
TGH	13.64 ^b
TG1:1	13.84 ^b
TGC	14.00 ^b

^{a, b, c} Literales diferentes entre tratamientos presentan DES. (ANOVA con Tukey HSD³, $p \leq 0.05$).

* Contenido promedio de 15 frutos por tratamiento.

6.5.2.2. LICOPENO

Según McGlasson (1993) y Nguyen y Schwart (1999), los niveles de licopeno se deben encontrar entre 1.5 a 2mg por cada 100g de jitomate; en el Cuadro 6.5.2.2.1, se observa que los frutos cosechados:

- A) De los tratamientos TPAS y TG1:1 incrementaron el contenido de licopeno por arriba del 57% con respecto al TA, en un 19% por arriba del testigo fertilizado al 50% y que solo TPAS incrementó en un 10% esta variable con respecto a TA100 a pesar de no mostrar DES con respecto a este.
- B) De todos los tratamientos inoculados con los biofertilizantes experimentales mostraron un incremento por arriba del 47% en el contenido de licopeno con respecto a TA e incrementos que van del 11 al 30% con respecto al tratamiento con la misma dosis de fertilización química, siendo TPAS el único que presenta DES.
- C) De TPAS incrementan el contenido de licopeno comparado con TA100, aún cuando la diferencia no es estadísticamente significativa.
- D) Del tratamiento a base de turba granular comercial, se comportaron de igual forma que los tratamientos TPH y TGH. Sin embargo este tratamiento aportó los menores incrementos en el contenido de licopeno de los frutos generados de plantas inoculadas con este biofertilizante, con respecto a TA (40.5%) y TA50 (6%); además de ser el que mayor decremento (-10%) tuvo con respecto a TA100 en el contenido de licopeno.

Cuadro 6.5.2.2.1. Contenido de licopeno determinado en frutos de jitomate provenientes de plantas inoculadas con *Azospirillum* o fertilizadas químicamente.

Tratamiento	mg Licopeno/100 g de Jitomate*
TA	1.0457 ^c
TA50	1.3812 ^b
TA100	1.6301 ^{ab}
TPAS	1.7934^a
TPH	1.5460 ^{ab}
TGH	1.5340 ^{ab}
TG1:1	1.6446 ^{ab}
TGC	1.4694 ^b

^{a, b, c} Letras diferentes entre tratamientos presentan DES. (ANOVA con Tukey HSD^a, $p \leq 0.05$).
* Contenido promedio de 15 frutos por tratamiento.



FIGURA 6.5.2.2.1. Frutos de jitomate en estado de madurez adecuado para el consumo en fresco (solo los rojos).

7. CONCLUSIONES

1. La calidad de los biofertilizantes producidos en la Facultad de Química cumplen con lo establecido para este tipo de productos, en tanto que, el biofertilizante comercial fue deficiente.
2. Se verificó la afinidad de *Azospirillum brasilense* para colonizar la raíz de plantas de Jitomate.
3. Los tratamientos biofertilizados, excepto con el producto comercial, con dosis de 50% de fertilización química favorecieron el desarrollo de las plantas, la floración, el rendimiento y la calidad de frutos, este efecto fue similar y en algunos casos superior al testigo con 100% de fertilización química.

Lo anterior indica la factibilidad de reducir la aplicación de fertilizantes químicos mediante el uso de biofertilizantes.

4. El tipo de soporte de los biofertilizantes, que mejores resultados arrojó en cuanto a cantidad de ácido ascórbico y licopeno fue la turba en polvo y la mejor forma de aplicación corresponde al biofertilizante en polvo adherido a la semilla, como se maneja en los productos comerciales que es por medio de un adherente aplicado a la semilla.

De acuerdo con lo anterior, se considera el aporte de la biotecnología agrícola como punto crucial para la obtención de alimentos con mayor contenido nutricional, que cubran con los requerimientos básicos en cuanto a normativas así como el aporte de un “plus” como alimentos funcionales para disminuir la incidencia de enfermedades; sin dejar de lado que el uso de los biofertilizantes disminuirá considerablemente la aplicación de agroquímicos, teniendo un gran impacto benéfico al medio ambiente.

8. RECOMENDACIONES

1. Efectuar más estudios sobre la calidad interna del jitomate con otras variedades de este vegetal y tipos de suelo empleando el tratamiento (TPAS) que mejores resultados arrojó en este trabajo.
2. Considerando que el tratamiento TG1:1 generó la mayor producción total y que su forma de aplicación corresponde a la más sencilla para el productor, se recomienda efectuar más estudios con otras variedades de jitomate para aprovechar sus ventajas a nivel comercial.
3. Llevar a cabo estudios acerca de las propiedades funcionales del jitomate para conocer más de su posible utilización en la prevención y/o tratamiento de enfermedades humanas.

9. LITERATURA CITADA

AOAC. (1990). Official Methods of Analysis of AOAC International, 15^a Edición, Vol. II, Estados Unidos. Pp. 1058-1059.

Aguayo, E. y Artés, F. (2004). Elaboración del tomate mínimamente procesado en fresco. Compendios de Horticultura. 15. Ediciones de Horticultura S.L. Reus, España.

Artes, F., Conesa, M. A., Hernández, S. y Gil, M. I. (1999). Keeping quality of fresh-cut tomato. *Postharvest Biology and technology*. 17: 153–162.

Bacilio-Jiménez, M., Aguilar-Flores, S., del Valle, M. V., Pérez, A., Zepeda, A. y Zentenof, E. (2001). Endophytic bacteria in rice seeds inhibit early colonization of roots by *Azospirillum brasilense*. *Soil Biology & Biochemistry*. 33: 167-172.

Baldwin, E. A., Scott, J. W., Malundo, T. M. M., Shewfelt, R. L. y Tandom, K. S. (1998). Relationship between sensory and instrumental analysis for tomato flavor. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 123(5): 900-915.

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.

Bartel, B. (1997). Auxin biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 49–64.

Bashan, Y. (1986). Alginate bed as syntetic inoculant carriers for slow release of bacteria that affect plant growth. *Applied and Enviromental Microbiology*. 51: 1089-1098.

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

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. y Carrillo, A. (1996). Inoculantes microbianos para la agricultura sostenible. En: Pérez-Moreno J. y Ferrera-Cerrato R. *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: Enviromental and Physiological Advances (1990-1996). *Can. J. Microbiol.* 43: 03-121.

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

- Bashan, Y. (1998b). Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnology Advances*. 16: 729-770.
- Bashan, Y., Hernández, J. P., Leyva, L. A. y 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 Enviromental*. (Ed.) D. Hillel, Elsevier, Oxford, U.K. 1: 103-115.
- Becking, I. H. (1982). *Azospirillum lipoferum*-A reappraisal. En Klingmüller, W. *Azospirillum* Genetics, physiology, ecology, Berk Häuser Verlag, basel. Pp. 130-149.
- Beecher, G. (1998). Food, phytonutrients, and health forum and workshops. USDA, Beltsville, MD.
- Beijerinck, M. W. (1925). Über ein *Spirillum*, welches freien Stickstoff binden kann? *Zentralbl Bakteriol Parasitenkd Infektionskr Abt.* 63: 353-359.
- 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. A. (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 the growth of the roots of wheat. *Symbiosis*. 13: 167-179.
- Brown, A. P. y Moser, F. (1941). Vitamin C content of tomatoes, *Food Res.* 6: 45.
- Brown, M. E. (1976). Role of *Azotobacter paspali* in asociación with *Paspalum notanum*. *J. Appl. Bacteriol.* 40: 341-348.
- Candelas, M. G., Alanís, M. G., Bautista, M., Del Río, F. y García, C. (2005). Contenido de licopeno en jugo de tomate secado por aspersión. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 4: 299-307.
- Campos, J., Hita, E., Romero, J., Melgosa, M., Artigas, J. M., Capilla, P., Felipe, A., Verdú, F. M., Pujol, J., Negueruela, I. y Jiménez Del Barco, L. (1997). Avances y tendencias recientes en colorimetría. *Óptica Pura y Aplicada*. 30: 1-35.
- Clinton, S. K. (1998). Lycopene. Chemistry, biology and implications for human health and dissuade, *Nutr. Rev.* 56(2): 35-51.

- Clutter, M. E. y Miller, E. V. (1961). Ascorbic acid and ripening time of tomatoes, *Econ. Bot.* 15: 218.
- Córdova, U. R. (1985). Evaluación de la turba nacional como soporte para inoculantes de leguminosas con cepas de *Rhizobium japonicum*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM, México, D.F.
- Dalal, K. B., Salunkhe, D. K., Boe, A. A. y Olson, L. E. (1965). Certain physiological and biochemical changes in the developing tomato fruit (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *J. Food Sci.* 30: 504.
- Davis, D. B., Dulbecco R., Eisen N. H. y Ginsberg S. H. (1996). Tratado de Microbiología. 4ª edición. Ed. Masson S. A. Pp. 61- 80.
- 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.
- Díaz, V. P., Ferrera-Cerrato R., Almaraz S. y Alcántar G. G. (2001). Inoculación de Bacterias Promotoras de Crecimiento en Lechuga. *Terra.* 19: 327-335.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Vande Broek, A. y Vanderleyden, J. (1999). Phytostimulatory effects of *Azospirillum brasilense* wild type and mutants strains altered in IAA production on wheat. *Plant Soil.* 212: 155–164.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Vanderleyden, J., Dutto, P., Labandera-Gonzalez, C., Caballero-Mellado, J., Aguirre, J. F., Kapulnik, Y., Brener, S., Burdman, S., Kadouri, D., Varig, S. y Okon, Y. (2001). Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. *Aust. J. Plant Physiol.* 28: 871–879.
- Döbereiner, J. y Day, J. M. (1976). Associative symbioses in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In proceedings of the first International Symposium on Nitrogen Fixation. 2: 518-538.
- Döbereiner, J. (1983). Ten years *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. (2006). Producción y calidad de jitomate inoculado con tres biofertilizantes a base de *Azospirillum brasilense*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM. México, D.F.

- Eckert, B., Weber, O. B., Kirchhof, G., Halbritter, A., Stoffels, M. y Hartmann, A. (2001). *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51: 17–26.
- El-Khawas, H. M. (1995). Indoleacetic acid production by natural soil micro-residents. *Egypt J. Appl. Sci.* 10: 575–582.
- El-Khawas, H. y Adachi, K. (1999). Identification and quantification of auxins in culture media of *Azospirillum* and *Klebsiella* and their effect on rice roots. *Biol Fertil Soils.* 28: 377–381.
- 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.
- Fages, J. (1992). An industrial view of *Azospirillum* inoculants: formulation and application technology. *Symbiosis.* 13: 15-16.
- Fernández, C., Pitre, A., Lobregat, M. J. y Rondón, Y. (2007). Determination of the Lycopene Content in Different Commercial Tomato Pastes. *Información Tecnológica.* 18(3): 31-38.
- Ferrari, R. A. y Benson, A. (1961). The path of carbon on Photosynthesis of lipids, *Arch. Biochem. Biophys.* 93: 185.
- Flores, A. A. (1985). Aislamiento y caracterización de *Azospirillum* sp; de la rizósfera de sorgo en Valle de Santiago, Guanajuato. Tesis de licenciatura. Facultad de Química, UNAM. México, D.F.
- Fryer, H. C., Ascham, L., Cardwell, A. B., Frazier, J. C. y Wills, W.W. (1954). Effect of fruit cluster position on the ascorbic acid content of tomatoes. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 64: 360.
- García de Salamone, Hynes, R. K. y Nelson, L.M. (2001). Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Can. J. Microbiol.* 47: 404-411.
- Garduño, T. (2001). El desarrollo de alimentos funcionales: tarea de romanos?. *Industria Alimentaria.* 23(4): 7-9.
- Giovannucci, E., Rimm, E. B., Stampfer, M. J y Willett, W. C. (2002). A prospective study of tomato products, lycopene and prostate cancer risk. *Journals of the national cancer institute.* 94(5): 391-398.
- Glick, B. R. (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can J Microbiol.* 41: 109–117.

- Glick, B. R., Penrose, D. M. y Wenbo, M. (2001). Meeting report. Bacterial promotions of plant growth. *Biotechnology Advances*. 19: 135-138.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. y Williams, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9a ed. William & Wilkins. Pp. 754.
- Irizar, G. M. B., Vargas, V. P., Garza, G. D., Tut y Couoh, C., Rojas, M. I., Trujillo, C. A., García, S. R., Aguirre, M. D., Concepción, M. G., Alvarado, J. M. S., Grageda, C. O., Valero, G. J. y Aguirre, M. J. F. (2003). Respuesta de cultivos agrícolas a los biofertilizantes en la meseta central de México. *Agricultura Técnica en México*. 29(2).
- Khammas, K. M., Ageron, E., Grimont, P. A. D. y Kaiser, P. (1989). *Azospirillum irakense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. *Res. Microbiol.* 140: 679-693.
- Lambrecht, M., Okon, Y., Vande Broek, A. y Vanderleyden, J. (2000). Indole-3-acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacteria-plant interactions. *Trends in Microbiology*. 8: 298-300.
- López, M. (1994). *Horticultura. Trillas*. México. Pp. 386.
- Lorence, Q. A. (1999). *Agro-biológicos. Cuaderno de Vigilancia Biotecnológica No 5*. Ed. CamBioTec., Dirección de Investigación y Posgrado Universidad Autónoma de Chihuahua, México. Pp. 3-21.
- Magalhães, F. M., Baldani, J. I., Souto, S. M., Kuykendall, J. R. y Döbereiner, J. (1983). A new acid-tolerant *Azospirillum* species. *An. Acad. Brasil. Cienc.* 55: 417-430.
- Martinez-Valderde, I., Periago, M. J., Provan, G. y Chensson, A. (2001). Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum*). Society of Chemical Industry.
- McGlasson, B. (1993). Tomatoes, en: *Encyclopedia of Food Science, Food Technology, and Nutrition*. 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.
- Mehnaz, S., Weselowski, B., y Lazarovits, G. (2007). *Azospirillum canadense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from corn rhizosphere. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 57: 620-624.
- Mencarelli, F y Saltveit, M. E. Jr. (1988). Ripening of mature-green tomato fruit slices. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 113(5): 742-745.
- Meredith, F. I. y Purcell, A. E. (1996). Changes in the concentration of carotenes of ripening Homestead tomatoes, *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 89: 544.

- 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.
- Nguyen, M. y Schwart, S. (1999). Lycopene: chemical and biological properties en "Food Technology", 58(2): 38-44.
- 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. (1985). *Azospirillum* as a potential Inoculant for Agriculture. *Trends Biotechnol.* 3: 223-228.
- Okon, Y. y Kapulnik. (1986). Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. *Plant Soil.* 90: 3-16.
- Okon, Y., y Itzigsohn, R. (1992). Poly- β -hydroxybutyrate metabolism in *Azospirillum brasilense* and the ecological role of PHB in the rhizosphere. *FEMS Microbiol. Rev.* 103: 131-140.
- Okon, Y., y Labandera-Gonzalez, 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.
- Patten, C. L. y Glick, B. R. (1996). Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Can. J. Microbio.* 42: 207-220.
- Pelayo, Z. C. (2003). Las frutas y hortalizas como alimentos funcionales. Departamento de Biotecnología, División CBS, UAM-I. *ContactoS*, 47: 12-19.
- Peng, G., Wang, H., Zhang, G., Hou, W., Liu, Y., Wang, E., y Tan, Z. (2006). *Azospirillum melinis* sp. nov., a group of diazotrophs isolated from tropical molasses grass. *Int J Syst Evol Microbiol.* 56: 1263-1271.
- Prior, R. L. y Cao, G. (2000). Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. *HortScience.* 35(4): 588-592.
- Pszczola, D. E. (2001). Antioxidants: From preserving food quality to quality life. *Food Technology.* 55(6): 51-59.
- Rademacher W. (1994). Gibberellin formation in microorganisms. *Plant Growth Regulation.* 15: 303-314.

Ramírez-Gama, R. M., Tsuzuki-Reyes, M. G., Arreguin-Espinoza de los Monteros, R., Ferrera-Cerrato, R., Urzúa, M. C., Esquivel-Cote, R., Gonzalez, D., Hernández-Bautista, M., Tenorio, M. E., Rodríguez, J. L., Castillo, N. D., Franco-Mendoza, M., 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.

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.

Rao, V.S., Waseem, Z. y Agarwal, S. (1998). Lycopene content of tomatoes and tomato products and their contribution to dietary lycopene. Food Research International. 31: 737–741.

Reinhold, B., T. Hurek, I., Fendrik, B., Pot, M., Gillis, K., Kersters, S., Thielemans y 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.

Rojas, M. G., y Ramírez, H. (1993). Control hormonal del desarrollo de las plantas. Fisiología Tecnología Experimentación. 2da. Edición. Limusa. Noriega editores. México.

Rodríguez-Cáceres, E. A. (1982). Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp. Applied and Environmental Microbiology. 44: 990-991.

Sadler, G., Davis, J. y Dezman, D. (1990). Rapid extraction of lycopene and β -carotene from reconstituted tomato paste and pink grapefruit homogenate. Journal of Food Science. 55: 1460–1461.

Sharma, S. K. y Le Maguer, M. (1996). Lycopene in tomatoes and tomato pulp fractions. Italian Journal of Food Science. 2: 107–113.

Salunkhe, D. K., Jadhav, S. J. y Yu, M. H. (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.

Sly, L. I., and Stackebrandt, E. (1999). Description of *Skermanella parooensis* gen. nov., sp. nov. to accommodate *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *parooensis* following the transfer of *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *largomobilis* to the genus *Azospirillum*. 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.
- Steinmetz, K. A. y Potter, J. D. (1996). Vegetables, fruit and cancer prevention: A review. *Journal of the American Dietetic Association*. 96(10).
- 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.
- Tien M., Gaskins H. y Hubell H. (1979). Plant growth. Substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of Pearl Millet (*Pennisetum americanum* L.). *Appl. Environ. Microbiol.* 37: 1016-1024.
- Torres-Rubio M. G., Valencia-Plata S. A., Bernal-Castillo J. y Martínez-Nieto P. (2000). Isolation of Enterobacteria, *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp., Producers of Indole-3-Acetic Acid and Siderophores, from Colombian Rice Rhizosphere. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 42: 171-176.
- Turgut, D. N. (2001). Health benefits and processing of lipid-based nutritionals. *Food Technology*. 55(11): 38-44.
- Umali-García, M., Hubel, D. H., Gaskins, M. H. y Dazzo, F. B. (1980). Association of *Azospirillum* with grass roots. *Appl. Environ. Microbiol.* 39: 219-226.
- Urzúa, 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, 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.
- Vande Broek, A. (1999). Auxins upregulate expression of the indole-3-pyruvate decarboxylase gene in *Azospirillum brasilense*. *J. Bacteriol.* 181: 1338-1342.
- Xie, C. H. y Yokota, A. (2005). *Azospirillum oryzae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from the roots of the rice plant *Oryza sativa*. *Int J Syst Evol Microbiol* 55: 1435-1438.
- Zaady, E. y Okon, Y. (1990). Cultural Conditions affecting *Azospirillum brasilense* cell aggregation and adsorption to maize roots. *Soil. Biol. Biochem.* 22: 1103-1107.

9.1. Citas electrónicas

- Anónimo. (1998). El jitomate, la hortaliza de excelencia en exportación. Revista Claridades Agropecuarias. México. 62: 3-18. <http://www.infoserca.gob.mx/claridades/revistas.asp>, página ingresada el 30 de junio del 2007.
- BBSRC. (2003). <http://www.plant-hormone.info>, página ingresada el 03 de agosto del 2007.
- Caballero-Mellado, J. (2005). El género *Azospirillum*. <http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios/Cap10/>, página ingresada el 4 de abril del 2007.
- Composición de Alimentos Mexicanos. (1999). Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, tabla de la composición química del jitomate. <http://www.innsz.mx/alimentos/cd.html>, página ingresada el 1 de febrero del 2007; además de contar con el CD, regalo de la M. en C. Julieta Sandoval, FQ.
- DISAGRO. (2000). Plan de manejo para el cultivo del tomate. Grupo Disagro-Publicaciones. <http://www.disagro.com-tomate-tomate3.htm>, página ingresada el 27 de junio del 2007.
- FAO. (2005). Dirección de estadística del 2007. <http://faostat.fao.org/site/340/DesktopDefault.aspx?PageID=340>, página ingresada el 18 de julio del 2007.
- Infojardín. (2006). Tabla de composición nutrimental del tomate. <http://fichas.infojardin.com/hortalizas-verduras/tomate-tomatera-jitomate.htm>, página ingresada el 10 de julio del 2007.
- SIAP, SAGARPA. (2007). Servicio de información agroalimentaria y pesquera. <http://www.siap.gob.mx/>, página ingresada, 01 de mayo del 2007.
- SIEA, SAGARPA. (2002). Breve análisis respecto al comportamiento de la producción y consumo del jitomate mexicano, así como su participación en el comercio internacional. <http://www.siea.sagarpa.gob.mx/InfOMer/analisis/antomate.html#intro>, página ingresada el 25 de junio del 2007.
- Trevor, V. Suslow, S. y Marita, C. (2006). Recomendaciones para mantener la calidad postcosecha del jitomate. <http://www.postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/Espanol/Tomate.shtml>, página ingresada el 8 de julio del 2007.

10. ANEXOS

10.1. Preparación de biofertilizantes.

○ *Preparación del soporte sólido.*

- Polvo (Turba molida en partículas finas). Se molieron 1000g de turba en un molino de martillos (Micro Pulverizer) con lo que se obtuvieron partículas de 0.075 a 0.025mm de diámetro. Posteriormente se neutralizó con 200g de carbonato de calcio; se esterilizó en autoclave a 121°C, presión de 15lb/in² durante 2h, se distribuyeron en bolsas de polietileno con 20g en cada una.
- Granular (turba en partículas gruesas). Se emplearon 1000g de turba. La neutralización, esterilización y distribución, se efectuó siguiendo el procedimiento antes indicado.

○ *Mezcla del cultivo bacteriano con el soporte.*

- Polvo (Turba molida en partículas finas) y Granular (turba en partículas gruesas). A cada bolsa con 20g de turba se le adicionaron 20mL del inóculo estandarizado con *Azospirillum brasilense*, cepa VS9 según Córdova (1985) y Bonifaz (2005), inmediatamente después se homogeneizó y selló herméticamente para su maduración (incubación a 28°C por siete días).

10.2. Preparación de 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	5.0g
K ₂ HPO ₄	0.5g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2g
NaCl	0.1g
CaCl ₂ · H ₂ O	0.02g
Na ₂ MoO ₄ · H ₂ O	0.002g
MNSO ₄ · 2H ₂ O	0.1g
FeCl ₃	0.002g
KOH	4.5g
Azul de bromotimol	2.0mL
Agar	4.0g
H ₂ O	1L
pH	6.8

○ *Medio Agar nutritivo.*

Componente	Cantidad
Extracto de carne	3.0g
Peptona de carne	5.0g
H ₂ O	1L
Agar	17.0g
pH	7.0

10.3. Cálculos para el análisis bromatológico.○ *Determinación de Vitamina C.*

El contenido en mg de ácido ascórbico / 100g de jitomate (AOAC, 1990), está dado por la fórmula:

$$X \text{ mg de ácido Ascórbico/ 100g} = \frac{(a) (100)}{(b) (10) (c)} \times 100$$

En la que:

a = mL de NaOH gastados en la valoración de Vitamina C.

b = mL de solución estándar de Vitamina C.

c = g de muestra.

○ *Determinación de Licopeno.*

Los valores de concentración fueron expresados en mg de Licopeno / 100g de extracto de jitomate (Martínez-Valverde *et al*; 2001, Sadler *et al*; 1990; Sharma y Le Moguer, 1996).

Ley de Beer-Lambert.

$$A = kCl$$

En la que:

A = Absorbancia (a 472nm).

k = Coeficiente de extinción ($3.450 \text{Lmol}^{-1} \text{cm}^{-1}$).

C = Concentración de la sustancia.

l = Es la distancia que recorre la luz en la celda (1 cm).

En el despeje queda:

$$X \text{ mg de Licopeno/ 100g} = kl / A$$

10.4. Tablas estadísticas.○ *Desarrollo de la parte aérea y radical en las plántulas.***Peso del tallo fresco determinado en plántulas de jitomate**

Tukey HSD^a

Tratamientos	N	Probabilidad ≤ 0.05			
		1	2	3	4
TPAS	10	.3420			
TGC	10	.3740	.3740		
Testigo	10	.4040	.4040		
TGH	10		.4860	.4860	
TPH	10			.5900	
TG1:1	10				.9380
Sig.		.629	.070	.112	1.000

Media armónica para el tamaño de muestra = 10.0

Media para grupos se observan.

Peso del tallo seco determinado en plántulas de jitomateTukey HSD^a

Tratamientos	N	Probabilidad ≤ 0.05		
		1	2	3
TGC	10	.0320		
Testigo	10	.0440		
TGH	10	.0480	.0480	
TPAS	10		.0800	
TPH	10			.1160
TG1:1	10			.1280
Sig.		.703	.060	.887

Media armónica para el tamaño de muestra = 10.0

Media para grupos se observan.

Peso de la raíz fresca determinado en plántulas de jitomateTukey HSD^a

Tratamientos	N	Probabilidad ≤ 0.05			
		1	2	3	4
TPAS	10	.1140			
TGC	10	.1780	.1780		
Testigo	10		.3100	.3100	
TGH	10		.3240	.3240	
TPH	10			.3600	.3600
TG1:1	10				.4900
Sig.		.791	.053	.914	.112

Media armónica para el tamaño de muestra = 10.0

Media para grupos se observan.

Peso de la raíz seca determinado en plántulas de jitomateTukey HSD^a

Tratamientos	N	Probabilidad ≤ 0.05		
		1	2	3
TGC	10	.0100		
TGH	10	.0120		
TPAS	10	.0140		
Testigo	10	.0200	.0200	
TG1:1	10		.0320	
TPH	10			.0540
Sig.		.360	.178	1.000

Media armónica para el tamaño de muestra = 10.0

Media para grupos se observan.

○ *Peso del fruto.***Producción total de frutos de jitomate a partir de las plantas experimentales**Tukey HSD^a

Tratamientos	N	Probabilidad ≤ 0.05					
		1	2	3	4	5	6
TA	39	3939.3000					
TA50	54		6187.0000				
TA100	61			6685.7000			
TGC	65			6702.6000			
TPH	63			6703.4000			
TPAS	60				7177.9000		
TGH	67					7457.0000	
TG1:1	68						7599.3000
Sig.		1.000	1.000	.840	1.000	1.000	1.000

Media armónica para el tamaño de muestra variable

Media para grupos se observan.

Peso promedio de los frutos cosechados a partir de las plantas experimentalesTukey HSD^a

Tratamientos	N	Probabilidad ≤ 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
TA	39	101.2000						
TGC	65		102.4000					
TPH	63			106.6000				
TA100	61				109.8000			
TGH	67					110.9000		
TG1:1	68					111.4000		
TA50	54						114.6000	
TPAS	60							118.7000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.078	1.000	1.000

Media armónica para el tamaño de muestra variable

Media para grupos se observan.

- *Ácido ascórbico (Vitamina C).*
mg de Vitamina C determinada en 100g de jitomate para cada tratamiento
 Tukey HSD^a

Tratamientos	N	Probabilidad ≤ 0.05		
		1	2	3
TA	15	11.775700		
TA50	15	13.377967	13.377967	
TGH	15		13.645009	
TG1:1	15		13.836764	
TGC	15		13.998583	
TA100	15		14.039627	
TPH	15		15.053322	15.053322
TPAS	15			15.888169
Sig.		.137	.103	.855

Media armónica para el tamaño de muestra = 15.0
 Media para grupos se observan.

- *Licopeno.*
mg de Licopeno determinado en 100g de jitomate para cada tratamiento
 Tukey HSD^a

Tratamientos	N	Probabilidad ≤ 0.05		
		1	2	3
TA	15	1.045733		
TA50	15		1.381168	
TGC	15		1.469364	
TGH	15		1.533960	1.533960
TPH	15		1.546033	1.546033
TA100	15		1.630060	1.630060
TG1:1	15		1.644567	1.644567
TPAS	15			1.793420
Sig.		1.000	.051	.058

Media armónica para el tamaño de muestra = 15.0
 Media para grupos se observan.