

252826



BIBLIOTECA
INSTITUTO DE ECOLOGIA

UNAM

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

EFEECTO DE LA FERTILIZACION BIOLOGICA CON
Azospirillum Y LA FERTILIZACION QUIMICA
SIMULTANEA SOBRE EL DESARROLLO DE
JITOMATE (*Lycopersicon esculentum*) BAJO
CONDICIONES DE INVERNADERO.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :
ROSALBA ESQUIVEL COTE

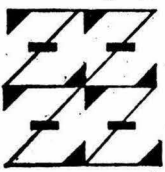
DIRECTOR DE TESIS:

M. EN C. ROSA MARIA RAMIREZ GAMA

ASESOR INTERNO:

BIOL. MA. DE JESUS SANCHEZ COLIN

U.N.A.M.
FES
ZARAGOZA



LO HUMANO EJE
DE NUESTRA REFLEXION

MEXICO, D. F.

JULIO DE 1997

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

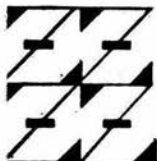
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

EFFECTO DE LA FERTILIZACION BIOLOGICA CON
Azospirillum Y LA FERTILIZACION QUIMICA
SIMULTANEA SOBRE EL DESARROLLO DE
JITOMATE (*Lycopersicon esculentum*) BAJO
CONDICIONES DE INVERNADERO.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :
ROSALBA ESQUIVEL COTE

DIRECTOR DE TESIS:
M. EN C. ROSA MARIA RAMIREZ GAMA
ASESOR INTERNO:
BIOL. MA. DE JESUS SANCHEZ COLIN

U.N.A.M.
FES
ZARAGOZA



LO HUMANO EJE
E NUESTRA REFLEXION

MEXICO, D. F.

JULIO DE 1997

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

DEDICATORIA

En un reconocimiento a quienes permitieron que existiera en el seno de una bonita familia creada para mí y mis hermanos.

Y por haberme dado lo mejor de su herencia: la educación.

Gracias papás.

Catalina Cote Soto

y

Jorge Esquivel Xazquez

Que el amor, esfuerzo y sacrificio que han depositado en nosotros comience a ser recompensado.

Rosalba.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a las siguientes personas que de alguna u otra forma intervinieron para la satisfactoria terminación de este trabajo:

A quienes fungieron como sinodales, que amablemente aportaron sus valiosas sugerencias para incrementar la calidad del trabajo:

M. en C. Rosa Maria Ramirez Gama.
Biol. Ma. de Jesus Sanchez Colin.
Q.F. B. Araceli Garcia del Valle.
M. en C. Gerardo Cruz Flores.
Biol. Ruben Zulbaran Rosales.

M. en C. Rosa Maria Ramirez Gama.

Por dirigir la tesis, por haberme aceptado a formar parte de su equipo de trabajo y porque siempre me brindo su apoyo, confianza y amistad.

M. en C. Guadalupe Truzuki Reyes.

Por su amistad, ayuda y asesoramiento en los análisis microbiológicos y de suelo. Y por su interés para la mejor realización de este trabajo.

Biol. Ma. de Jesus Sanchez Colin

Quien me mostró el interesante mundo de la microbiología edáfica.

Mtra. Ma. Eugenia Ceballos.

Por su asesoría técnica en la parte estadística.

M. en C. Gerardo Cruz Flores.

Por su colaboración en la realización e interpretación de los análisis estadísticos.

Carmen Urzua Hernandez.

Por haber permitido compartir con ella los pormenores del trabajo desde el inicio, y a quien agradezco su amistad y ayuda en el estudio de los microorganismos.

Anibal Rodrigo Esquivel Cote.

Por su importante apoyo y asesoría en el manejo de la paquetería correspondiente para la mejor presentación del trabajo. Y por tener siempre una crítica constructiva hacia mí y mi trabajo.

A la persona que me acompañó en las buenas y en las malas dentro y fuera del laboratorio. Quien siempre tuvo una palabra de aliento y quien trató constantemente de que me sintiera alguien capaz e importante. Porque siempre me dio "lata" y por haberme dado la oportunidad de llamarme su amiga...
gracias *Vale.*

A todos mis maestros por haberme soportado e instruido. En especial a quien me transmitió el amor por la biología:

Biol. Yolanda Origel Arenas.

Y

A mis compañeros de escuela, que compartieron conmigo todos los traumas, triunfos y emociones de ser estudiante.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES	5
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	16
METODOLOGIA	17
RESULTADOS Y ANÁLISIS	27
CONCLUSIONES	37
SUGERENCIAS	38
BIBLIOGRAFÍA	39
ANEXOS	44
APÉNDICE	50

RESUMEN

Es absolutamente claro, que para lograr los mayores rendimientos en los cultivos se requiere de fertilizantes nitrogenados, los cuales no necesariamente tienen que ser químicos puesto que han creado varias desventajas en el transcurso del tiempo, sino que existen alternativas aplicando la biotecnología, como lo es el uso de numerosos microorganismos que poseen la capacidad de fijar nitrógeno, lo que constituye una opción para la elaboración de biofertilizantes.

Desde el redescubrimiento de *Azospirillum* en la década de los setentas esta bacteria de vida libre y fijadora de nitrógeno ha sido objeto de amplios estudios en su asociación con plantas, especialmente gramíneas, y ha sido usada a pequeña escala comercial como inoculante. En la literatura se han reportado incrementos del 10 - 30 % en el rendimiento de cultivos. Pocos reportes indican valores extremadamente altos del 50 - 270 % en comparación con los controles no inoculados. Además se ha reportado que las producciones más altas se obtuvieron cuando se aplicaron niveles subóptimos de fertilización química con nitrógeno para el máximo rendimiento.

El jitomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) es una de las hortalizas más importantes en muchos países, ocupa el segundo lugar en la producción mundial de hortalizas. Como ejemplo tenemos que en México en el período de 1986 - 1995 se produjeron 17 millones de toneladas de jitomate, generando 3,195 millones de dólares por concepto de exportación.

En el presente trabajo se planteó como objetivo general evaluar el efecto de la fertilización biológica con *Azospirillum* y la fertilización química simultánea sobre el crecimiento y rendimiento de *Lycopersicon esculentum*.

Para su cumplimiento se procedió a realizar las determinaciones físicas y químicas del suelo sin esterilizar, y se realizó una fertilización química de NPK dejando un testigo. Para la siembra se utilizaron semillas de jitomate certificada variedad bola, las cuales se inocularon con cepas heterólogas de *Azospirillum* (C4, Cd, VS1, VS7 y VS9), dejando un testigo fertilizado sin inocular. Durante el desarrollo de las plantas se midieron los siguientes parámetros: altura de la parte aérea (24 días), altura de la parte aérea, longitud de la raíz y prueba de infección (35 días), altura de la parte aérea y número de racimos florales (60 días), determinación de clorofila en hojas (180 días), altura, peso fresco, peso seco, nitrógeno y fósforo total de la parte aérea, área foliar, diámetro del tallo, longitud y peso de la raíz y prueba de infección (190 días). Se midió nitrógeno y fósforo total del suelo (190 días).

Dichas determinaciones proporcionaron los siguientes resultados: las cepas heterólogas de *Azospirillum* dan lugar a asociaciones eficientes, teniendo efectos variables; la cepa VS9 resultó tener mejor efecto sobre el desarrollo de jitomate.

Se comprobó que durante el desarrollo vegetativo del jitomate a la inoculación con *Azospirillum* determina el aumento en el peso de la raíz, el diámetro del tallo, peso fresco de la parte aérea y área foliar.

Los resultados de este trabajo se compararon con un trabajo similar a nivel hidropónico, el que se llevó a cabo simultáneamente en el Laboratorio de Microbiología Experimental, y se observó que la presencia de suelo favorece el desarrollo de las plantas, en tanto que, bloquea la manifestación del efecto de las cepas heterólogas. El efecto de la fertilización química simultánea no tuvo un efecto determinante en el desarrollo de jitomate. No se obtuvieron datos de rendimiento.

INTRODUCCIÓN

Un grave problema que presenta el campo mexicano, es el bajo rendimiento que se observa en los cultivos, particularmente en lo que se refiere a granos básicos, debido sobre todo a alguna de las siguientes razones: bajas precipitaciones pluviales que se presentan en la mayoría de la superficie agrícola de temporal; ataques a los cultivos por plagas y enfermedades; irregular empleo de variedades de plantas mejoradas y la falta de fertilización fosfatada pero sobre todo nitrogenada (Mascarúa, M. A., Caballero, J. y Carcaño, M. 1997).

El uso de fertilizantes minerales como fuente de nitrógeno ha causado varias desventajas en el transcurso del tiempo, entre las que destacan, su elevado costo causado porque para su fabricación se emplean derivados del petróleo, que son un recurso no renovable, así como los problemas ambientales derivados de su inadecuada aplicación, ya que al ser proporcionados en altas dosis, la planta tiende a usarlos ineficientemente, produciendo un exceso de nitritos y nitratos, que son frecuentemente llevados como contaminantes en el agua durante el proceso de lixiviación (Ortega, 1989).

Es absolutamente claro, que para lograr los mayores rendimientos en los cultivos se requiere de fertilizantes nitrogenados, los cuales no necesariamente tienen que ser minerales, ya que existe la posibilidad de enriquecer los suelos con nitrógeno y proporcionar parcial o totalmente el nitrógeno necesario para el desarrollo de los cultivos fertilizados por vía bacteriana (biofertilización), a través de la fijación biológica del nitrógeno (Mascarúa, M. A., Caballero, J. y Carcaño, M., 1997).

Existen numerosos microorganismos como las algas cianofíceas, bacterias de vida libre y fotosintéticas que poseen la capacidad de fijar nitrógeno los que constituyen una alternativa para la elaboración de fertilizantes biológicos (Calderón, 1995).

En los últimos 15 años, ha despertado interés el uso de la bacteria del género *Azospirillum*, debido a que puede mejorar el crecimiento de las plantas, a través de su capacidad para colonizar y asociarse con las raíces de una gran variedad de plantas, a su amplia distribución, así como su capacidad de fijar nitrógeno y de producir sustancias reguladoras del crecimiento vegetal. Las características antes indicadas han determinado que esta bacteria se le considere de gran importancia potencial en la agricultura y constituya un descubrimiento de gran trascendencia, puesto que implica que el maíz, trigo y otras gramíneas puedan crecer sin necesidad de usar fertilizantes, nitrogenados o bien disminuyendo su dosis. Lo anterior ha conducido a desarrollar en los últimos años experimentos de inoculación en diversos cultivos de importancia forrajera y alimenticia para el hombre en países como Brasil, Israel, Estados Unidos y Bélgica, entre otros (Okon, 1985; Reynders y Vlassak, 1982).

El jitomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) es la hortaliza más importante en numerosos países. En la actualidad este cultivo ha adquirido importancia económica en todo el mundo (Nuez, 1995), industrializándose en forma de conserva.

En la dieta humana proporciona una fuente importante de vitaminas, así como de ácidos libres (cítrico y málico), sales minerales y azúcares como glucosa y fructosa (Yufera, 1979).

La popularidad, demostrada por el alto nivel de consumo, convierte a este cultivo en una de las principales fuentes de vitaminas y minerales en muchos países (Nuez, 1995).

Considerando las características de *Azospirillum*, la importancia del cultivo de jitomate, así como de la búsqueda de mejores alternativas agronómicas que aseguren un mayor rendimiento, el mejoramiento de la calidad del suelo y la conservación del mismo, en este trabajo se evaluó el efecto de la biofertilización y la fertilización química simultánea sobre el cultivo de jitomate desarrollado en un suelo migajón arenoso sin esterilizar.

Este trabajo forma parte de un proyecto integral que comprende estudios de la inoculación de *Azospirillum* en jitomate cultivado en hidropónia y en presencia de suelo, así como la determinación de reguladores del crecimiento producidos por la bacteria.

ANTECEDENTES

AZOSPIRILLUM.

El género *Azospirillum*.

Beijerinck en 1922 aisló a un microorganismo fijador de nitrógeno, a partir de un suelo arenoso pobre en nitrógeno de los países bajos, al que llamó *Azotobacter spirillum* porque lo consideró un organismo que eslabonaba al género *Azotobacter* con el género *Spirillum*, en 1925 este mismo autor basándose en su forma y preferencia por los ácidos orgánicos como fuente de carbono, le asignó el nombre de *Spirillum lipoferum* (Tarrand *et al.*, 1978).

Tarrand y colaboradores en 1978, propusieron el género *Azospirillum* y distinguieron dos especies *Azospirillum brasilense* y *Azospirillum lipoferum*, lo que basaron en un estudio comparativo de las características fenotípicas y genotípicas de géneros como *Rhodospirillum*, *Derxia*, *Vibrio*, *Comamonas*, *Acuaspirillum*, *Azomonas*, *Beijerinckia*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*; bacterias que presentan similitud con él. Posteriormente se describieron otras tres especies, *A. amazonense*, aislada de pastos en la zona Amazónica de Brasil, la especie tolerante a la salinidad, *A. halopraeferans* asociada exclusivamente a las raíces de los pastos de Kallar (*Leptochloa fusca* L.) (Bashan y Levanony, 1990) y la especie *A. irakense* (Stacey, 1992).

Distribución ecológica.

Azospirillum tiene una distribución generalizada, se ha reportado en una gran variedad de suelos y de regímenes climáticos, como zonas tropicales, semitropicales, húmedas frías y frías. Se ha aislado de raíces de vegetales muy diversos como maíz, trigo, sorgo, avena, centeno, cactáceas (Ramírez-Gama y Luna-Millán, 1995), jitomate, soya, algodón, pimienta (Bashan *et al.*, 1991 y Mohandas, 1988), *Cassuarina cunninghamiana* (Rodríguez *et al.*, 1991) y se ha observado su mayor incidencia en pastos como *Panicum maximum*, *Panicum miliacetum*, *Cenchrus ciliaris*, *Pennisetum americanum* y *Setaria italica* (Reynders y Vlassak, 1982).

Efecto de la inoculación con *Azospirillum* en el desarrollo de las plantas.

Con la inoculación de *Azospirillum* en plantas se han puesto de manifiesto cambios significativos en varios parámetros de la planta, tales como mayor desarrollo de las raíces y de la parte aérea, los que frecuentemente se asocian con un rendimiento más elevado (Bashan y Levanony, 1990).

Los efectos mas marcados se presentan como cambios morfológicos en el sistema radical; éstos incluyen el incremento en la longitud, particularmente en la zona de enlongación, en el número y longitud de las raíces laterales, lo que conduce al aumento del volumen, densidad y peso seco de la raíz; también favorece la aparición temprana de pelos radicales, el aumento de la división celular del meristemo e induce cambios en el arreglo celular en el córtex y estimula la exudación radicular (Bashan y Levanony, 1990). En las tablas 1, 2 y 3 se resume el efecto de *Azospirillum* sobre diversos parámetros del desarrollo de gramíneas, jitomate y *Cassuarina*.

TABLA 1. Efecto de *Azospirillum* en gramíneas.

Germinación	Incremento en el porcentaje.
Raíz	Aumento en la longitud, volumen y peso seco. Mayor número y longitud de raíces secundarias. Aparición temprana de pelos radicales, así mismo como el incremento en la densidad.
Parte aérea	Incremento en peso seco y contenido de nitrógeno. Acelera el período de floración. Aumento en la altura de las plantas y tamaño de la hoja.
Producción	Incremento en la producción de grano, del 10 -30 %. Aumento en el contenido de nitrógeno y peso de granos. Aumento en el número de mazorcas. Incremento en el número de espigas y de granos por espiga.

Tomados de Bashan y Levanony, 1990.

TABLA 2. Efecto de *Azospirillum* en jitomate (*Lycopersicon esculentum*).

Raíz	Coloniza las células de la capa epidermítica, tejido cortical y haces vasculares. En la colonización superficial la bacteria aparece como células individuales en la base de los pelos radicales. En la colonización interna azospirilla actúa en los espacios intercelulares en un número de 30×10^4 ufc * /g de raíz..
Parte aérea	Aumento del 25 % en la altura a los 34 días. Incremento en el diámetro del tallo, número de hojas y peso seco a los 45 días.

Tomados de Bashan *et al.*, 1989b, Bashan *et al.*, 1991 y Mohandas, 1988.

* ufc= Unidades Formadoras de Colonias. Se asume que cada célula bacteriana al multiplicarse da origen a un cúmulo de células que producen una colonia.

TABLA 3. Efecto de *Azospirillum* en *Cassuarina cunninghamiana*.

Raíz	Incremento del 89 % en el peso seco a los 120 días.
Parte aérea	Incremento del 90 % en el peso seco de las plantas a los 120 días y del 91 % en retoños.

Tomado de Rodriguez *et al.*, 1991.

Estos cambios están directamente relacionados con las concentraciones del inóculo. Concentraciones superiores a los niveles óptimos tienen efectos inhibitorios, mientras que dosis muy bajas no tienen efecto. El nivel óptimo del inóculo para las semillas de muchos cereales, vegetales y granos industriales es de $10^5 - 10^6$ ufc/ml (Okon y Kapulnik, 1986), para maíz 10^7 ufc/ml y para jitomate *in vitro* $> 10^8$ ufc/ml (Hadas y Okon, 1987). En tanto que concentraciones de inóculo de $10^8 - 10^{10}$ ufc/ml generalmente inhiben el desarrollo de la raíz (Kapulnik, 1985; Bashan, 1990 en Bashan y Levanony, 1990)

Es necesario puntualizar que en la literatura se señalan las concentraciones necesarias por mililitro de inóculo, pero no se hace referencia a la cantidad de células bacterianas por semilla que se requieren para obtener respuesta por la planta.

El efecto de la inoculación sobre el rendimiento total de las plantas de cultivo en campo generalmente presenta un incremento del 10 al 30% (Kapulnik *et al.*, 1981). Pocos reportes indican valores extremadamente altos, del 50 al 270 % en comparación con los controles no inoculados (Bashan y Levanony, 1990).

La evaluación a nivel mundial de los sucesos de *Azospirillum* permitió concluir que el efecto es variable y que sólo en el 65 % del total en los experimentos de campo se logró un incremento en la producción del grano (Okon, 1985).

Las producciones más altas reportadas se obtuvieron cuando se aplicaron niveles subóptimos de fertilización con nitrógeno para el máximo rendimiento (Kapulnik *et al.*, 1981). Por lo tanto, la inoculación con *Azospirillum* fué considerada como un sustituto parcial de la fertilización con nitrógeno (Bashan *et al.*, 1989).

Sin embargo, la incidencia de resultados positivos no ha sido lo suficientemente consistente como para facilitar la comercialización de la bacteria como biofertilizante.

Mecanismos de acción de *Azospirillum* en plantas.

El principal mecanismo por el cual *Azospirillum* incrementa el crecimiento de plantas esta indeterminado. Sin embargo se han propuesto varios modos de acción:

•Fijación de nitrógeno.

La inoculación con *Azospirillum*, incrementa el nitrógeno total de retoños y granos en plantas. Por lo tanto, la fijación de N_2 fué naturalmente el primero y mejor mecanismo de acción sugerido para explicar el mayor desarrollo de plantas inoculadas con *Azospirillum*. La incorporación de nitrógeno atmosférico dentro de la planta hospedero por la bacteria ha sido evaluado principalmente por la prueba de reducción del acetileno (Bashan y Levanony, 1990).

Estudios de reinoculación con azospirilla a plantas de jitomate revelan que reducen el acetileno a etileno y también demuestran claramente que la fijación de nitrógeno tiene lugar en el rizoplasma y fitoplasma de la planta (Mohandas, 1988).

La evidencia de que la fijación de nitrógeno contribuye al balance de nitrógeno en plantas está basada en la observación común de un incremento en la actividad nitrogenásica contenida en las raíces inoculadas (Kapulnik *et al.*, 1981 b y Okon *et al.*, 1983).

En el Laboratorio de Microbiología Experimental de la Facultad de Química se evaluó la fijación de nitrógeno *in vitro* por el método de Micro-Kjeldhal en las siguientes cepas: VS1, VS7 y VS9, y se observó que al ser propagadas en un medio de cultivo carente de nitrógeno, éstas fueron capaces de acumular 628, 556 y 394.6 mg de N / 100 g de cultivo (Flores Ayala, 1985).

No obstante, recientes investigaciones se han llevado a cabo para distinguir la contribución vía fijación de nitrógeno de otros efectos de la misma inoculación bacteriana mediante el uso de un mutante Nif⁻ incapaz de fijar nitrógeno. Los resultados de estas investigaciones indican que la inoculación de cereales con la mutante Nif⁻ ha causado los mismos efectos que la cepa parental (Morgenstern y Okon, 1987). Recientemente la respuesta de plántulas de jitomate a la inoculación con la mutante Nif⁻ de *Azospirillum brasilense* Cd presentó una respuesta similar que la cepa silvestre (Bashan *et al.*, 1989b). Esto indica que la respuesta de la planta fué causada por factores ajenos a la fijación del nitrógeno. Sin embargo, permanece la posibilidad de que la fijación de nitrógeno contribuya al desarrollo de las plantas en cantidades pequeñas, aspecto de importancia en los estadios críticos del desarrollo vegetal.

La planta absorbe más eficientemente el nitrógeno del suelo cuando éste se encuentra limitado por tal elemento, lo que resulta que se requieran bajas cantidades de fertilizante nitrogenado para asegurar la producción.

•Efectos fitoreguladores de *Azospirillum* sobre las plantas.

Azospirillum, así como otras bacterias del suelo (incluyendo *Rhizobium*) producen fitoreguladores (Sprent, 1990). Existen evidencias de que *Azospirillum in vitro* produce fitoreguladores del crecimiento, tales como auxinas -a partir del triptofano- y giberelinas (Mascarúa *et al.*, 1988; Hartman *et al.*, 1983; Bottini *et al.*, 1989).

Respecto a la inoculación de *Azospirillum* en la planta, se reporta que la bacteria se encuentra en la superficie y en el interior de las raíces, pero no existe información respecto a la cantidad y tipo de fitoreguladores que produce en esta asociación.

No obstante, es factible que estas sustancias (auxinas, giberelinas y citocinas) son producidas y liberadas constantemente en la superficie o dentro del tejido vegetal y ocasiona efectos directos en los procesos metabólicos que se traducen en la inducción de la proliferación de pelos radicales y raíces laterales, lo que aumenta la superficie activa de las raíces y la velocidad de absorción de nutrientes y agua, lo que se traduce en el aumento del peso seco de las plantas (Bashan y Levanony, 1990).

•Aumento en la absorción de nutrimentos.

La absorción de minerales y agua juega un papel importante en la asociación *Azospirillum*-planta. Sin embargo los datos descriptivos presentados no demuestran que esta mejora sea causa o el resultado de otros mecanismos tales como cambios en el balance de fitorreguladores (Bashan y Levanony, 1990).

Aunado al incremento del desarrollo de las raíces las plantas inoculadas con *Azospirillum* son también afectadas en características del follaje. Estos cambios están directamente relacionados con los efectos positivos de la absorción de nutrimentos por la planta. El incremento en la absorción de NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-} , K^+ , Rb^+ y Fe^{2+} por *Azospirillum* fue propuesto a causa del aumento en la materia seca foliar y la acumulación de minerales en el tallo y en las hojas (Bashan y Levanony, 1990).

El incremento en la absorción de nutrimentos por raíces inoculadas con *Azospirillum* es favorecido por el aumento en el flujo de protones, el cual está directamente relacionado con el balance de iones en las raíces de las plantas (Bashan y Levanony, 1990). Considerando que durante el período reproductivo de la planta, los minerales son transferidos a las panículas y espigas, es posible que como resultado de todos los procesos anteriores resulta al final un elevado rendimiento.

Interacción de *Azospirillum* con suelo y la microbiota de la rizósfera.

La población nativa de *Azospirillum* así como aquellas que se introducen de manera experimental al suelo, son afectadas continuamente por cambios en la rizósfera de la planta, tales como la disponibilidad de nutrimentos y la interacción con otros microorganismos nativos. Este tipo de interacciones pueden ser del tipo antagonista, sinergista, de competencia por los nutrimentos o del tipo depredador-presa, para la macro y microbiota (Bashan y Levanony, 1990).

El tamaño poblacional de azospirilla ha sido estimado entre 1-10% del total de la población en la rizósfera (Okon, 1985). En algunas plantas de cultivo, la población de *Azospirillum* es relativamente pequeña, alcanzando un promedio poblacional de 10^3 - 10^6 ufc/g en trigo (Balandreau, 1989; Bashan y Wolowelsky, 1987; Bashan *et al.*, 1987); en tanto que en cereales de verano cultivados en Brasil se reportan poblaciones de 10^6 - 10^8 ufc/g de suelo (Baldani *et al.*, 1987).

Interacción de *Azospirillum* con las partículas de suelo.

La inoculación de plantas con *Azospirillum* se realiza, aplicando la bacteria a las semillas o directamente al suelo cerca de las semillas germinantes (Bashan, 1986 b; Okon y Hadas, 1987). Durante este proceso, la bacteria está expuesta a las fuerzas físicas naturales y a la interacción que prevalece entre las bacterias y partículas del suelo. Para vencer estas barreras y colonizar la raíz de las plantas, las células de *Azospirillum* deben crear una sustancial fuerza física que les permita el movimiento a través del suelo (Bashan, 1986 c; Bashan y Levanony, 1987). Pocos estudios se han llevado a cabo en cuanto a la interacción de *Azospirillum* con las partículas de suelo.

Las células de *Azospirillum* son frecuentemente adsorbidas irreversiblemente por una alta fracción de partículas en el perfil del suelo, en donde interactúa principalmente con arcillas y materia orgánica. Las condiciones físicas y químicas del suelo, tales como pH, textura, régimen hídrico y disponibilidad de sustancias quimioatrayentes incrementan el efecto de adsorción de *Azospirillum* a las diferentes fracciones de suelo. La adherencia de esta bacteria a las arenas, es realizada por una cadena de puentes de proteínas producidas por las células bacterianas (Bashan y Levanony, 1988).

JITOMATE

Antecedentes históricos.

A la llegada de los españoles a América, el jitomate formaba parte de los pequeños huertos de hortalizas del área mesoamericana, sin que su importancia económica fuera grande. Era una yerba más de las milpas. Los españoles y portugueses difundieron el jitomate por el mundo a través de sus colonias. Posteriormente contribuyeron a ello otras potencias y países (Nuez, 1995).

El centro de origen del género *Lycopersicon* es la región andina que hoy comparten Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Chile. En esta área crecen espontáneamente las diversas especies del género. También en esta zona *Lycopersicon esculentum* muestra su mayor variación (Rick, 1976)

Sobre la domesticación del jitomate existen solo hipótesis razonables. No hay evidencias de que éste fuese cultivado por los sudamericanos en la época precolombina (Nuez, 1995).

Características generales.

El jitomate es una planta perenne de porte arbustivo que se cultiva como anual. La planta puede desarrollarse de forma rastrera, semirecta o erecta, y el crecimiento es limitado en las variedades determinadas e ilimitado en las variedades indeterminadas, pudiendo llegar, en estas últimas, a 10 m en un año (Rick, 1978). La ramificación es generalmente simpodial, con lo que los ejes sucesivos se desarrollan a partir de la yema axilar del eje precedente y la yema terminal da lugar a la inflorescencia o a ramas abortivas.

Las hojas son compuestas, imparipinnadas con 7 a 9 foliolos y una filotaxia de 2/5. La inflorescencia es un dicasio compuesto generalmente por 4 a 12 flores. El fruto es una baya de forma globular, ovoide o aplastada cuyo peso oscila, según variedades, entre 5 y 500 g. Cuando la semilla se siembra directamente en el suelo desarrolla una potente raíz principal que le permite adaptarse a ecosistemas semidesérticos, en tanto que cuando la raíz principal se daña, como por ejemplo a consecuencia del transplante, se desarrolla un sistema de raíces laterales adventicias.

Nuez (1995) indica que la clasificación generalmente aceptada corresponde a la propuesta por Hunziker en 1979.

Clase: Dicotyledoneas

Orden: Solanales (Personatae)

Familia: Solanaceas

Subfamilia: Solanoideae

Tribu: Solaneae

Género: *Lycopersicon*

Especie: *esculentum* (Miller, 1754).

Características del cultivo.

El jitomate tiene un sistema radical de carácter secundario muy desarrollado en la capa superficial del suelo. El tallo es grueso, pero poco rígido por lo que, generalmente, hay que recurrir al tutorado de la planta, especialmente en los cultivos semiintensivos e intensivos para consumo fresco. La floración y el cuajado de los frutos son los períodos más críticos del cultivo, los cuales inician con la primera floración, hacia los primeros treinta días del cultivo, siguiendo sucesivas floraciones que van madurando paulatinamente. El ciclo vegetativo tiene una duración total que oscila entre 90 y 120 días dependiendo de la variedad (Dominguez, 1989).

En el desarrollo del fruto durante su crecimiento y maduración se produce el relleno del mismo con las sustancias orgánicas asimiladas en el proceso de la fotosíntesis (Dominguez, 1989). A medida que va madurando la planta, la clorofila se degrada progresivamente, lo que ocasiona un blanqueamiento del fruto, siendo un buen precursor de la madurez.

Durante la transición, se destruye la clorofila que queda, se sintetizan carotenoides, decrece la acidez, el almidón se convierte en azúcares, se elaboran aceites esenciales y otros componentes del aroma (Rick, 1976).

La planta se desarrolla bien en un amplio rango de latitudes, tipos de suelos, temperaturas y métodos de cultivo, y es moderadamente tolerante a la salinidad (Nuez, 1995). En el caso de pH, el jitomate prefiere rangos de 6 a 7.5, en donde toma con mejor eficiencia sus nutrimentos (SEP, 1987).

Prefiere ambientes cálidos, con buena iluminación y drenaje. La exposición prolongada a temperaturas inferiores a 10°C, la escarcha, la iluminación inferior a las 12 h, un drenaje deficiente o un abonado nitrogenado excesivo le afectan desfavorablemente. Cuando las condiciones ambientales no son favorables para el cuajado, las flores caen después de la antesis (Nuez, 1995). Entre los problemas más habituales sobre el cuajado del fruto, se cuenta la falta de polinización que se da frecuentemente en invernaderos (Rick, 1976).

Necesidades nutritivas del cultivo.

En jitomate, el nitrógeno (N) agiliza el crecimiento y permite que las hojas protejan los frutos de la exposición directa del sol, aumenta también el tamaño, lo que influye en el número de frutos. La mayor demanda de nitrógeno ocurre durante el período de fructificación. El fósforo (P) debe estar disponible en abundancia; este nutrimento hace crecer tanto las partes aéreas, como las raíces, acelera la maduración y aumenta notoriamente la producción en volumen. El potasio (K) contribuye al vigor de la planta; éste es extraído en grandes cantidades por el jitomate. El potasio junto con el magnesio (Mg) determina la calidad de los frutos, especialmente la coloración (SEP, 1990).

Plagas.

Ácaros. Tres especies se han censado como plagas del jitomate, en las regiones templadas y cálidas. De ellas *Aculopus lycopersici* (ácaro del bronceado) es la más específica, *Polyphagotarsonemus latus* (ácaro blanco) la menos frecuente -excepción hecha de ambientes tropicales y subtropicales-, y *Tetranychus urticae* (araña roja) es la más extendida, polífaga y con mayores repercusiones para el cultivo (Nuez, 1995).

Insectos. Dos especies tienen particular significado en el cultivo del jitomate: *Trialeurodes vaporariorum* (mosca blanca de los invernaderos) y *Bemisia tabaci* (mosca blanca del tabaco). A la habitual presencia de la primera en la mayor parte de los tomates de las zonas cálidas, hay que añadir la proliferación de la segunda que constituye una plaga en áreas ligeramente cálidas (Nuez, 1995).

Pulgon. Un amplio número de especies del orden Homoptera, pertenecientes a la familia Aphididae, se asocian con mayor o menor grado de intimidad y con mayor o menor incidencia al cultivo del jitomate (Nuez, 1995).

Importancia económica.

El tomate, conocido por los mexicanos como jitomate, ocupa el segundo lugar en la producción mundial de hortalizas (el primero es la papa) y en los últimos 40 años su producción creció 9.4 % en promedio anual (Terrazas, 1996).

Esto se explica principalmente por cambios en las costumbres de alimentación. Las comidas rápidas, bañadas en salsa de jitomate, se imponen en los hábitos mundiales de alimentación (Terrazas, 1996; Bosso y Serafin, 1981).

Para tener una idea de la importancia de la producción de jitomate en el país anotaremos los siguientes datos: en el período de 1986-1995 se produjeron 17 millones de toneladas de jitomate (cuadro 1). El volumen representó el 7 % de la producción nacional de los diez principales cultivos agrícolas en la última década, el 18.33 % de la producción frutícola y el 5.13 % aproximadamente de la producción de otros cultivos agrícolas. Con relación a cultivos en particular, el jitomate representó el 160.48 % del volumen de frijol producido en la década pasada, el 43.24 % del trigo y el 12.18 % del maíz (Terrazas, 1996). Para el ciclo otoño-invierno (1994-1995) se produjeron 1 131 265 toneladas y para el ciclo primavera-verano (marzo-octubre), se produjeron 831 643 toneladas. La venta de jitomate en puré enlatado generó en 1995 (enero-septiembre) 214 834 miles de nuevos pesos, con un volumen de 47 770 toneladas. En el mismo año por concepto de exportación se obtuvieron 514 546 miles de dólares (INEGI 1996, SAGAR 1996).

La superficie cosechada de jitomate representó el 9.09 % de la superficie frutícola y el 1% de la cosechada con los diez principales cultivos agrícolas, los pasados diez años (cuadro 2). El cuadro 3 presenta la producción nacional de jitomate a nivel estatal, en 1995.

La siembra de jitomate resulta ser de gran importancia en varios estados de la República, principalmente los localizados al norte, su producción se concentra en tierras de riego y en unos cuantos poblados.

CUADRO 1. Producción y Exportación de Jitomate en México, 1986-1995

Año	PRODUCCION	EXPORTACION			
	miles de toneladas	miles de toneladas	% exportación de producción	millones de dólares	dtrs. por tons.
1986	1,454	538	37.00	408	758.4
1987	1,672	587	35.11	200	340.7
1988	1,980	466	23.54	243	521.5
1989	1,919	439	23.00	199	453.3
1990	1,885	392	28.82	428	1,091.8
1991	1,860	443	23.82	262	591.4
1992	1,413	219	15.50	167	762.6
1993	1,693	488	28.82	395	809.4
1994	1,597	* 410	25.67	* 361	880.5
1995	** 1,889	* *** 622	39.00	* *** 532	855.3
TOTAL	17,362	4,604	28.03	3,195	7,064.9

Fuente y cálculos con base en Poder Ejecutivo Federal, *Primer Informe de Gobierno, Anexo*, México, septiembre de 1995.

* Banco de México, base de datos del Banco de Comercio Exterior.

** *El Financiero*, lunes 19 de febrero de 1996, con base en FAO, *Anuarios Estadísticos de la Producción*.

*** Banco de México, *op. cit.* Enero-Noviembre.

CUADRO 2. Superficie sembrada y cosechada, volumen y valor de la producción de jitomate, por Estados, en el año agrícola 1993/1994.

Estado	Superficie sembrada (miles de ha.)	Superficie cosechada (miles de ha.)	Volumen (miles de tons)	Valor (mill. de \$)
Sinaloa	24.8	24.5	536.2	504.3
Sn.Luis Potosí	8.4	8.3	222.8	326.4
Michoacán	3.9	1.4	74.2	71.5
Sonora *	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Baja California	8.0	7.5	240.4	382.0
Morelos	3.3	3.3	45.4	207.1
Nayarit	4.0	3.8	64.6	65.2
TOTAL	52.3	48.8	1,183.6	1556.5

Fuente: INEGI, *Anuario Estadístico de los Estados de Sinaloa, San Luis Potosí, Michoacán, Baja California, Morelos y Nayarit, México, 1995.*

* El Estado de Sonora no presenta desagregada la información de su producción hortícola.

CUADRO 3. La producción nacional de jitomate a nivel estatal, en 1995:

Sinaloa	43%	Baja California	3.4%
San Luis Potosí	16%	Morelos	3.3%
Michoacán	4.8%	Nayarit	3.2%
Sonora	4.5%	Otros	22%

Fuente: H. Cámara de Diputados, Comisión de Agricultura, *Situación actual de las exportaciones de tomate a los Estados Unidos, México, febrero de 1996.*

Considerando los reportes sobre el efecto que produce la inoculación de *Azospirillum* sobre el desarrollo de las plantas y el rendimiento de algunos cultivos, así como la importancia económica del jitomate en este trabajo se plantearon la siguiente hipótesis y objetivos:

HIPÓTESIS

Las cepas de *Azospirillum* al no ser específicas del hospedero tienen efecto diferente sobre el desarrollo, nutrición y rendimiento de *Lycopersicon esculentum*.

OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar el efecto de la fertilización biológica y la fertilización química simultánea sobre el crecimiento y rendimiento de *Lycopersicon esculentum*.

PARTICULARES

1. Determinar la infección por cepas heterólogas en raíces de jitomate.
2. Comparar el efecto de la inoculación de cinco cepas de *Azospirillum* y fertilización química simultánea sobre algunos parámetros de crecimiento del cultivo de jitomate a diferentes períodos de desarrollo.
3. Comparar el efecto de la inoculación de cinco cepas de *Azospirillum* y fertilización química simultánea sobre el rendimiento del jitomate.

METODOLOGÍA

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Microbiología Experimental, de la Facultad de Química, UNAM.

En la figura 1 se muestra el diagrama general de la metodología.

Estudio del suelo.

Muestreo del suelo.

El suelo fué colectado de la parte arable en la parcela ubicada en el Bondhó, municipio de San Salvador, Hidalgo. Teniendo como cultivos previos frijol y maíz.

Análisis Físicos y Químicos.

Primeramente el suelo se dejó secar al aire, para posteriormente pasarlo por un tamiz con luz de malla de 2 mm. Los análisis realizados fueron los siguientes:

ANÁLISIS	MÉTODO	REFERENCIA
Textura	Bouyocus	Foth, 1992 y Gavande, 1979
Densidad Aparente	Probeta	Gaucher, 1971 y Tompson, 1978
Densidad Real	Picnómetro	Gaucher, 1971 y Tompson, 1978
Porosidad	Relación de densidades	Gaucher, 1971
pH	Potenciométrico (1:2.5)	Tompson 1978
Matéria Orgánica	Walkley & Black	Ruíz y Ortega, 1979
C.I.C.T.	Acetato de amonio 1N pH7	American Society of Agronomy, 1965
Nitrógeno Total	Kjeldhal de Gunning	Ruíz y Ortega, 1979
Fósforo Total	Vanadato de amonio	Cajuste, 1986

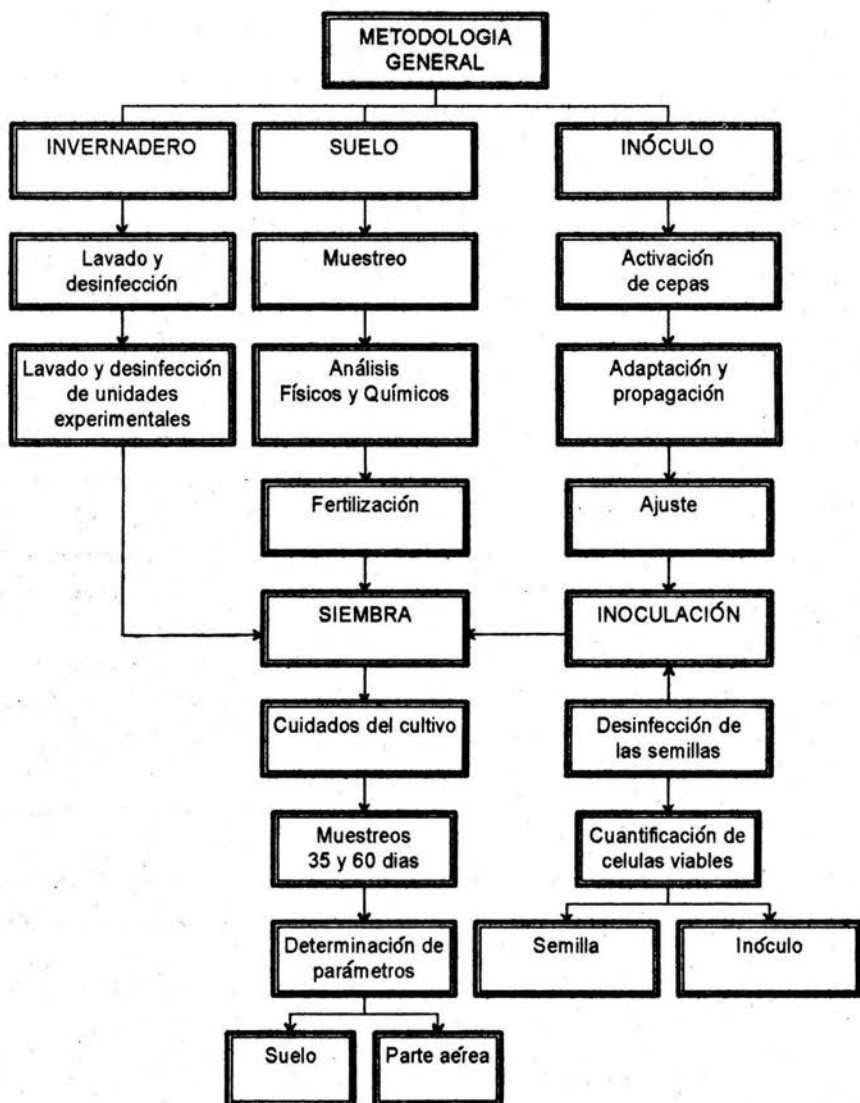
Cepas.

Se emplearon las cepas de la colección de la Facultad de Química. Se eligieron conforme a estudios realizados anteriormente en el Laboratorio de Microbiología Experimental, a nivel de invernadero. Dichas cepas dieron los mejores resultados.

CLAVE	ESPECIE	AISLADA DE	REFERENCIA
C4	<i>A. brasilense</i>	Raíz de trigo, Celaya, Gto.	Jiménez, 1986
Cd*	<i>A. brasilense</i>	Raíz de <i>Cynodon dactylon</i> (ATCC 29710)	Tarrand <i>et al</i> 1978
VS1	<i>A. lipoferum</i>	Raíz de sorgo, Valle Santiago, Gto.	Flores A., 1985
VS7	<i>A. brasilense</i>	Suelo del cultivo de sorgo, Valle Santiago, Gto.	Flores A., 1985
VS9	<i>A. brasilense</i>	Raíz de sorgo, Valle Santiago, Gto.	Flores A., 1985

*De referencia.

FIGURA 1



Tratamientos.

Se diseñaron siete tratamientos, con cinco repeticiones cada uno.

TRATAMIENTO	TSF ¹	TF ²	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
INÓCULO	-	-	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
FERTILIZANTE	-	+	+	+	+	+	+

¹ TSF= testigo sin fertilizar, ² TF=testigo fertilizado.

Invernadero.

Se lavó con agua y jabón, se desinfectó con hipoclorito al 5% y con permanganato en solución con formaldehído. Posteriormente las condiciones ambientales se ajustaron a una temperatura de 18-30°C (día y noche) y una humedad del 70%.

Unidades experimentales.

Se ocuparon macetas de plástico. Estas se lavaron con agua y jabón y se desinfectaron con alcohol al 70%. En cada una de ellas se adicionó 8 kilos de suelo libre de piedras y material contaminante. Finalmente las macetas se colocaron al azar en el invernadero. Siguiendo un diseño del tipo totalmente aleatorizado.

Fertilización.

La dosis de fertilizante aplicado un día antes de la siembra fué de 180 Kg/ha de sulfato de amonio, 250 Kg/ha de sulfato de potasa y 250 Kg/ha de superfosfato triple (anexo 1).

Producción del inoculante líquido.

Las cepas se activaron en medio Nfb semisólido (ss) (anexo 2), se tomó una asada y se incubó a 37°C por 72 hrs. Para luego llevar a cabo una etapa de adaptación en medio Nfb líquido (liq) (anexo 2) incubando a 37°C por 72 hrs. manteniéndolo en agitación a 200 rpm hasta alcanzar la fase logarítmica, de acuerdo a las unidades Klett (UK) obtenidas en las curvas de crecimiento. Las unidades fueron medidas en un nefelómetro Klett-Summerson con filtro verde.

Para la obtención del inóculo, del cultivo anterior se transfirieron 5 ml al medio Nfb_{liq}, se incubó a 37°C y 200 rpm por 24 hrs. Con objeto de mantener poblaciones similares, los diferentes cultivos fueron ajustados a 10 UK (aproximadamente) mediante la adición de medio Nfb_{liq} (figura 2)

Figura 2. **PRODUCCIÓN DEL INOCULANTE LÍQUIDO.**

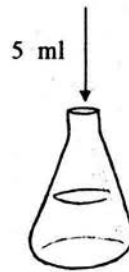
Activación
Nfb_{ss}, 37°C por 72 hrs.



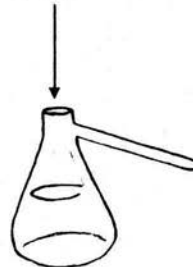
Adaptación
Nfb_{liq}, 37°C y 200 rpm por 72 hrs.



Propagación
Nfb_{liq}, 37°C y 200 rpm por 24 hrs



Ajuste
10 UK



Desinfección e inoculación de las semillas.

Se utilizó semilla certificada de jitomate (*Lycopersicon esculentum*), variedad bola, marca Cobo. Para eliminar el biocida de las semillas se llevaron a cabo 8 lavados continuos con agua estéril, agitados en Vortex. Para la desinfección se utilizó cloralex al 5% por 3 min., seguida de un mismo número de lavados (figura 3)

La inoculación se realizó colocando un número conocido de semillas en el cultivo ajustado. Se tomaron 10 semillas para realizar el conteo del número de células viables de *Azospirillum*, el cual se llevó a cabo mediante la técnica de dilución y cuenta en placa (figura 4).

Siembra.

Fueron sembradas cinco semillas (inoculadas y no inoculadas) por maceta, a una profundidad de 1.5 cm.

Cuidados del cultivo.

·Riego.

El riego se realizó cada tres días, empleando agua corriente. La cantidad utilizada dependió del tamaño de la planta.

·Aclareo.

El aclareo se llevó a cabo a los 35 días, dejando dos plantas por maceta.

·Aporque.

A los 35 días se realizó el aporque, empleando tezontle lavado y esterilizado.

·Poda.

La poda se efectuó a los 60 días cuando las plantas presentaron 35 cm de altura aproximadamente, suprimiéndolas de los brotes axilares

·Entutoramiento.

Cuando se cumplieron 70 días del cultivo, fué necesario colocar una cuerda soporte alrededor de la planta en el sentido de las agujas del reloj atando una vuelta floja alrededor del tallo por debajo de una hoja sana.

·Control de plagas.

A los 60 días se presentó una plaga de "mosquita blanca", la cual fué controlada con el insecticida Azuflow2, aplicándolo a los 65, 100 y 160 días.

Figura 3. DESINFECCIÓN E INOCULACIÓN DE SEMILLAS.

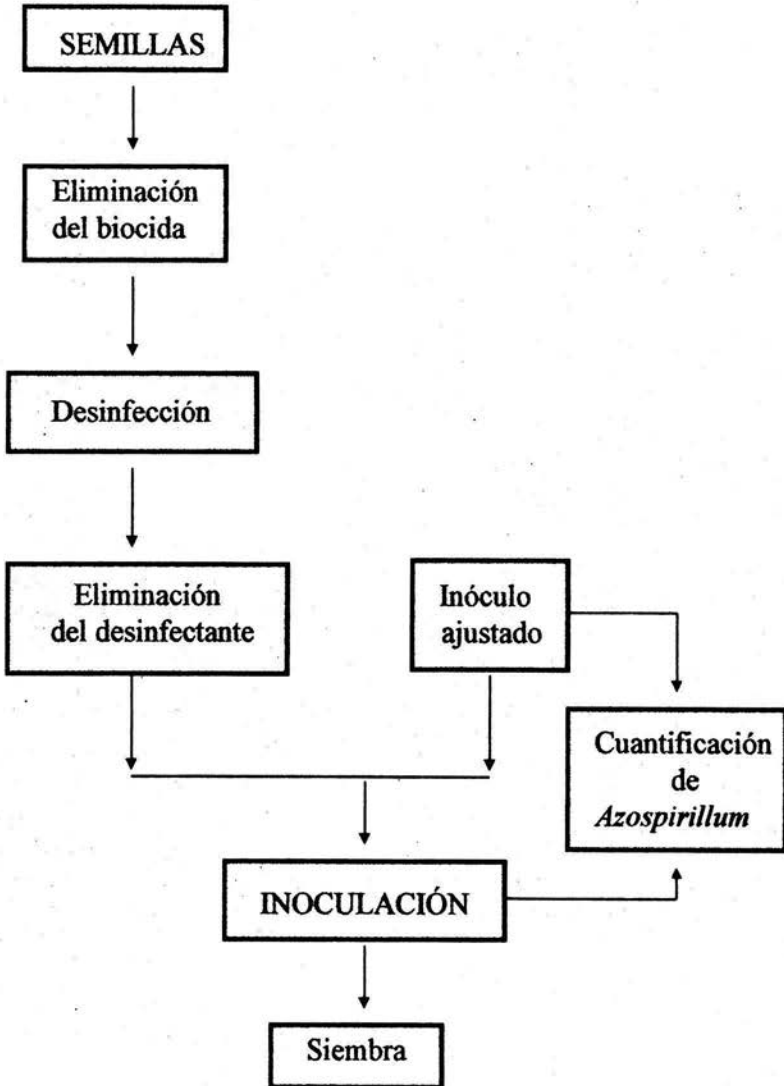
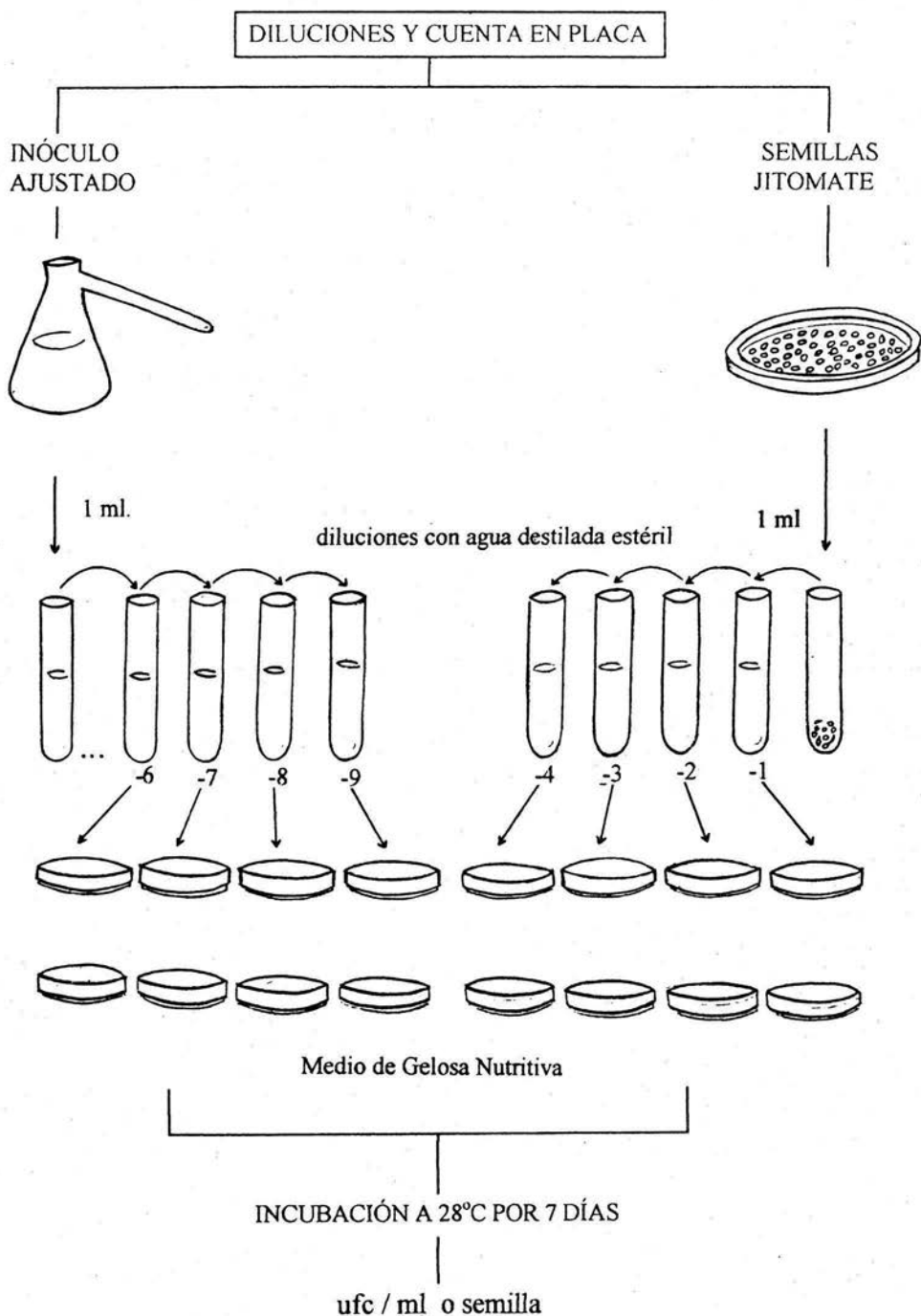


Figura 4. CUANTIFICACIÓN DE CÉLULAS VIABLES.



·Polinización.

La polinización se realizó manualmente cada tres días, cuando las flores se encontraron en estado receptivo (dobladas hacia abajo).

Muestreos.

Durante el desarrollo de las plantas se realizaron los siguientes muestreos:

DÍAS DE CULTIVO	PARÁMETROS ANALIZADOS
35	Altura de la parte aérea, longitud de la raíz, prueba de infección.
60	Altura de la parte aérea y número de racimos florales.
180	Determinación de clorofila en hojas ¹
190	PARTE AÉREA: altura, diámetro del tallo, peso fresco, peso seco, área foliar ² , nitrógeno total ³ y fósforo total ⁴ . RAÍZ: longitud, peso, prueba de infección. SUELO: nitrógeno total ⁵ , fósforo total ⁶ .

¹ Método de la acetona (Baker y Hipkiss, 1986); ² Ecuación de Hughes, Cockshull y Heath (Evans, 1972);

³ Método de micro-Kjeldahl (Mitchel, 1982); ⁴ Método del Vanadato-molibdato (Jackson, 1976); ⁵ Método de Kjeldahl (Ruiz y Ortega, 1979); ⁶ Método de Olsen y colaboradores (Cajuste, 1986) (anexo 3-8).

Prueba de infección.

La prueba de infección se tomó en dos etapas del desarrollo de la planta. Se observó la aparición de la película blanca y el vire del indicador, característico en *Azospirillum*.

A los 35 días, se extrajeron tres plantas de cada maceta, las raíces se lavaron con abundante agua corriente, se desinfectaron con cloralex al 5 % por tres minutos, finalmente se les aplicaron ocho lavados con agua destilada estéril y se maceraron. A partir del macerado se hicieron diluciones decimales, las diluciones 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} y 10^{-10} , fueron sembradas en tubos con 9 ml de medio Nfb_{ss}, las que se incubaron a 35°C por 72 hrs (figura 5).

La segunda prueba se realizó a los 190 días. El sistema radical fué lavado abundantemente con agua corriente, se dividió longitudinalmente en tres secciones: corona, media y distal (figura 6). De cada sección se tomaron dos fragmentos que se encontraban unidos a la raíz principal, se lavaron ocho veces con agua destilada estéril. En seguida cada fragmento se sembró en tubos con 9 ml de medio Nfb_{ss} a una profundidad de tres cuartas partes del medio y se incubó a 35°C por 72 hrs (figura 5).

Análisis estadístico.

Se realizó un ANOVA y pruebas de Tukey con un α de 0.05 para determinar las diferencias estadísticamente significativas, utilizando el paquete SAS para WINDOWS.

Figura 5. PRUEBAS DE INFECCIÓN.

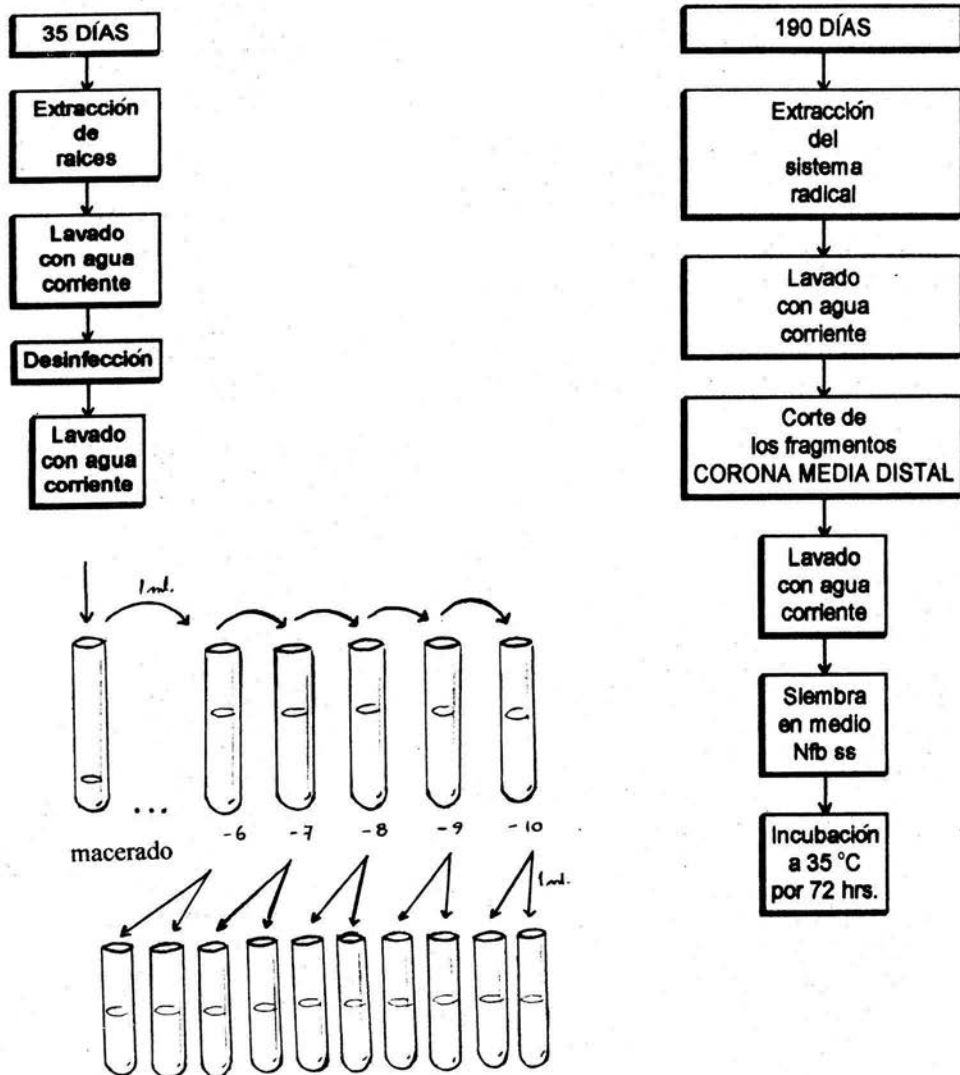
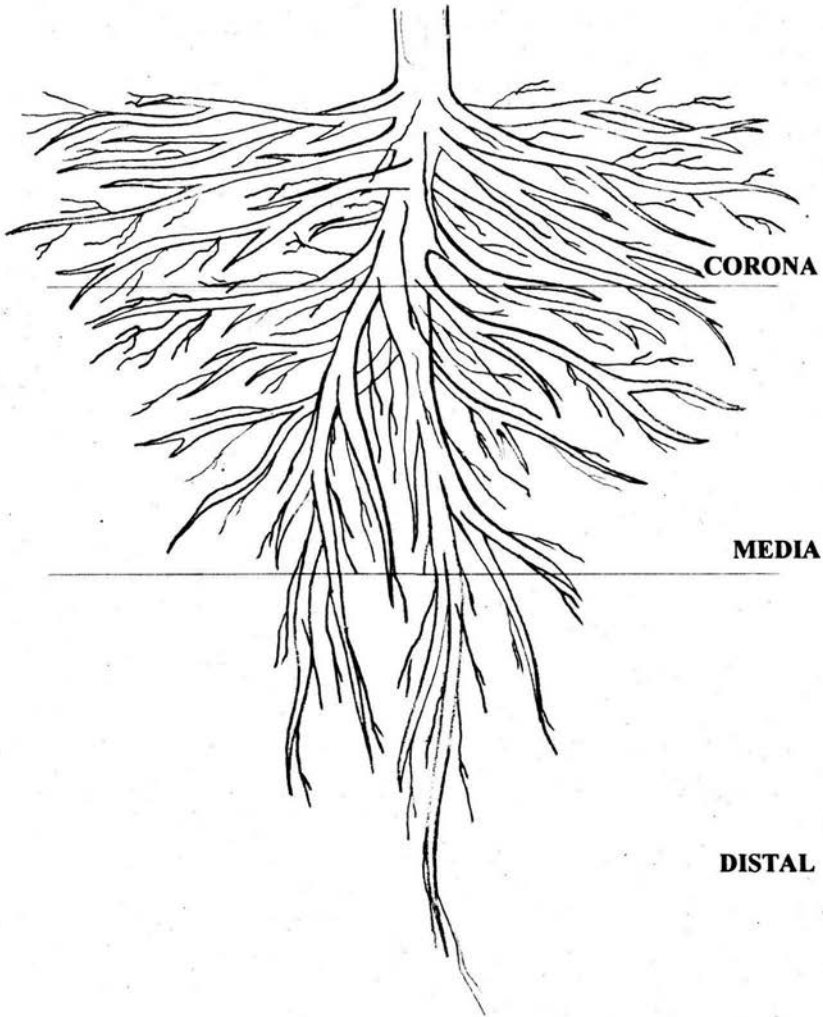


Figura 6. SECCIONES LONGITUDINALES DE RAÍZ.



RESULTADOS Y ANÁLISIS

Tabla 1. ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS DEL SUELO.

ANÁLISIS	RESULTADO
Textura	migajón arenoso
Densidad Aparente	1.22 g/cc
Densidad Real	2.00 g
Porosidad Total	39 %
pH	7.5 - 8
Materia Orgánica	3 %
C.I.C.T.	42.4 meq/100 g suelo
Nitrógeno Total	0.018 %
Fósforo Total	0.003 %

Se tiene un suelo con 36 % de arcilla, 6.48 % de limo y 89.92 % de arena, porcentajes que corresponden a una textura migajón arenosa, lo que le permite al suelo absorber fácilmente el agua, tener buena aereación y buen drenaje (Tompson, 1978). Su característica migajonosa le da la propiedad de tener buena estructura porque mantiene el equilibrio entre la cantidad de macroporos y microporos, lo que se corrobora con los datos de densidad aparente (1.22 g/cc), y porosidad (39 %) que indican poca compactación del suelo, lo que favorece la penetración de las raíces (Gaucher, 1970) y la aereación del suelo (Baver, 1973), por lo tanto, nuestro suelo presentó buenas características físicas para la agricultura.

A pesar de que los suelos con textura arenosa son generalmente de baja fertilidad y son una fuente escasa de elementos nutricios (Tompson, 1978), el suelo en cuestión presenta un valor medio de la C.I.C.T. (42.4 meq/100g suelo), característica relacionada con el porcentaje de arcilla (6.48) y contenido de materia orgánica (3%) (Wild, 1992).

El porcentaje de nitrógeno total (0.018 %) es bajo, correspondiendo a los suelos migajón arenoso (0.016 %). La cantidad de fósforo (0.003 %) se considera baja a pH de 7.5 (Gaucher, 1970). El resultado de pH, indica que esta ligeramente arriba del señalado como óptimo para el cultivo del jitomate (SEP, 1987), aún cuando en este rango se indica que hay una buena actividad de nitrógeno, buena disponibilidad de potasio y el fósforo aprovechable se encuentra en forma de HPO_4^{2-} (Ojeda, 1980).

Tabla 2. DENSIDAD ÓPTICA Y CUANTIFICACIÓN DE CÉLULAS VIABLES.

CEPAS	CONCENTRACIÓN DEL INÓCULO (UK)	DENSIDAD ÓPTICA	INÓCULO ufc/ ml (10^8)	SEMILLA Ufc/ ml (10^4)
C4	10	0.020	640	1.4
Cd	9.5	0.019	2	0.7
VS1	12	0.024	540	2.0
VS7	11	0.022	810	0.5
VS9	10	0.020	840	0.4

Los datos de la tabla 2 muestran que la población de los inóculos fue superior a la concentración de 10^8 ufc/ml, correspondiente al nivel óptimo para jitomate *in vitro* (Bashan y Levanony, 1990). La población por semilla resultó de 10^4 ufc/ml; en este sentido es conveniente señalar que para asegurar la respuesta de leguminosas a la inoculación con *Rhizobium* se recomienda 10^6 ufc/semilla, en tanto que no existen datos sobre *Azospirillum*.

Tabla 3. PRUEBA DE INFECCIÓN A LOS 35 DÍAS DE DESARROLLO.

TRATAMIENTO	DILUCIONES				
	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}
TSF	-	-	-	-	-
TF	-	-	-	-	-
C4	+	+	+	+	+
Cd	+	+	+	+	+
VS1	+	+	+	+	+
VS7	+	+	+	+	+
VS9	+	+	+	+	+

+ = presencia, - = no presencia

Las diluciones empleadas en esta determinación permitieron verificar la presencia de *Azospirillum* en los tratamientos inoculados, en donde se encontró en cantidades elevadas. También se observó que por lo menos hasta la dilución 10^{-6} , no se encontró *Azospirillum* en los tratamientos sin inocular (TSF, TF); lo que no descarta la posibilidad de que las raíces en este período de desarrollo estuvieran infectadas por la bacteria nativa en una concentración menor. Okon y Kapulnik (1986) mencionan que con un inóculo de $10^5 - 10^6$ ufc/g *Azospirillum* no prolifera en los pelos radicales.

Tabla 4. PORCIENTO DE INFECCIÓN A LO LARGO DEL SISTEMA RADICAL A LOS 190 DÍAS DE DESARROLLO.

TRATAMIENTO	% DE INFECCIÓN		
	CORONA	MEDIA	DISTAL
TSF	62.5	50.0	87.5
TF	50.0	75.0	62.0
C4	100.0	62.0	50.0
Cd	100.0	66.6	66.6
VS1	75.0	75.0	100.0
VS7	100.0	87.5	62.5
VS9	87.0	87.5	100.0

Los resultados de la tabla 4 indican que la infección se presentó en los tratamientos inoculados y sin inocular y a través de todo el sistema radical lo que permitió confirmar la presencia de *Azospirillum* en el suelo en estudio, cuya cantidad fue menor con respecto a los tratamientos inoculados.

Por otra parte, considerando que la prueba de infección se realizó a partir de raíces desinfectadas, se puede afirmar que la colonización se llevó a cabo en la endorrizósfera, como lo establecen Mohandas (1988) y Okon y Kapulnik (1986), los que indican que la inoculación de semillas de jitomate con *Azospirillum* ocasiona la infección interna de las raíces.

Respecto al sitio de colonización el comportamiento de las cepas fué variable, la C4, Cd y VS7 colonizan preferentemente la zona de la corona, mientras que VS1 y VS9 la zona distal. En tanto que las observaciones de Bashan *et al.* (1991), revelan que la mayoría de la población de *Azospirillum* en jitomate se concentra externamente y en la zona de elongación.

Tabla 5. EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE *Azospirillum* Y FERTILIZACIÓN QUÍMICA SIMULTÁNEA SOBRE LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE JITOMATE.

TRATAMIENTO	SEMILLAS SEMBRADAS	SEMILLAS GERMINADAS	% DE GERMINACIÓN
TSF	25	21	84
TF	25	16	64
C4	25	23	92
Cd	25	23	92
VS1	25	21	84
VS7	25	21	84
VS9	25	21	84

La inoculación de la bacteria en estudio estimuló la germinación de las semillas, lo que se tradujo en una germinación más temprana en los tratamientos inoculados, -la que se observó a los 5 días, en tanto que en los tratamientos sin inocular se registró hasta los 10 días-; y en un mayor porcentaje de semillas germinadas (C4 y Cd).

Durante la germinación el embrión produce giberelinas y citocinas que contrarrestan la acción de inhibidores e inducen el proceso de germinación (Bidwell, 1979). Este efecto puede ser aumentado mediante la adición de giberelinas (Rojas y Ramirez, 1993). Respecto a *Azospirillum* numerosos autores reportan que esta bacteria produce *in vitro* giberelinas (Bottini, 1989) y auxinas las que promueven la germinación y el desarrollo radicular (Okon y Kapulnik, 1986; Baldani y Döbereiner, 1980); lo que posiblemente se relaciona con los resultados obtenidos.

Los resultados de la tabla 6 indican que la fertilización química no influyó en la altura de la planta; respecto al efecto de la inoculación este varió en el tiempo y con las diferentes cepas. A los 24 días sólo la cepa Cd favoreció una mayor altura; a los 35 días se observa ligero efecto con las cepas Cd, VS7 y VS9 sin haber diferencias estadísticamente significativas; lo que se atribuye a la gran variabilidad entre los individuos de cada tratamiento (apéndice, análisis 1,2).

En tanto que a los 60 días se observa respuesta a la fertilización química y a la inoculación, y el mayor efecto corresponde a las cepas C4, Cd, VS1 y VS9; mientras que a los 190 días no se registró ningún efecto.

Tabla 6. EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE *Azospirillum* Y FERTILIZACIÓN QUÍMICA SIMULTÁNEA SOBRE LA ALTURA (cm) DE PLANTAS DE JITOMATE EN DIFERENTES ETAPAS DEL DESARROLLO.

TRATA MIENTO	24 DÍAS		35 DÍAS		60 DÍAS		190 DÍAS	
	TSF	7.86	B	14.32		29.00	B	123.32
TF	6.73	B	12.57		32.70	AB	107.75	
C4	6.90	B	14.70		36.10	A	114.62	
Cd	8.31	A	15.50		36.00	A	118.75	
VS1	6.93	B	13.90		36.90	A	109.75	
VS7	7.26	B	15.12		34.00	AB	109.50	
VS9	7.54	B	17.40		36.30	A	120.50	

* Los datos que comparten la misma letra son estadísticamente iguales ($\alpha=0.05$)

Bashan *et al.*, (1989 b) indican que a los 45 días existe diferencia en la altura de las plantas de jitomate inoculadas respecto a las no inoculadas, aunque no establece estadísticamente diferencias significativas.

Los datos observados a los 60 días en los tratamientos inoculados resultaron superiores respecto al testigo fertilizado, los cuales coinciden con las observaciones de Bashan *et al.*, (1989b) y es probable que este efecto se deba a la producción de fitoreguladores del crecimiento (Bashan y Levanony, 1990; Hartman *et al.*, 1983) lo que probablemente influyó en el desarrollo vegetativo del jitomate.

Tabla 7. EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE *Azospirillum* Y FERTILIZACIÓN QUÍMICA SIMULTÁNEA SOBRE LA LONGITUD Y PESO DE RAÍZ DE JITOMATE EN DIFERENTES ETAPAS DE DESARROLLO.

TRATAMIENTO	LONGITUD (cm)		PESO (g) 190 DÍAS
	35 DÍAS	190 DÍAS	
TSF	3.45	21.75	14.27 B
TF	3.07	13.37	14.85 B
C4	2.81	17.75	27.17 A
Cd	2.39	14.25	12.10 B
VS1	2.45	15.50	18.25 AB
VS7	3.31	18.50	17.90 AB
VS9	2.65	20.87	20.00 AB

* Los datos que comparten la misma letra son estadísticamente iguales ($\alpha=0.05$)

En este trabajo no se logró confirmar el efecto de la inoculación sobre la longitud de las raíces reportada por diversos autores (Bashan *et al.*, 1989; Okon y Kapulnik, 1986).

Respecto al peso de la raíz se observaron diferencias a los 190 días, sobre todo con las cepas C4 y Cd. Lo que indica un mayor volumen, favorecido por desarrollo de raíces secundarias y el aumento de pelos radicales, efectos causados por la inoculación con *Azospirillum*, lo que coincide con los datos de Bashan y Levanony (1990). La cepa Cd no indujo respuesta, resultados que no corresponden a las observaciones de Bashan *et al.*, (1989 b).

Tabla 8. EFECTO DE LA INOCULACIÓN CON *Azospirillum* Y FERTILIZACIÓN QUÍMICA SIMULTÁNEA SOBRE DIFERENTES PARÁMETROS DE LA PLANTA DE JITOMATE A LOS 190 DÍAS DE DESARROLLO.

TRATAMIENTO	DIÁMETRO DEL TALLO (cm)	PESO FRESCO (g)	PESO SECO (g)	ÁREA FOLIAR (dm ² /g)
TSF	0.62 AB	86.90 C	41.57	23.45 B
TF	0.70 AB	121.83 ABC	47.82	36.70 AB
C4	0.65 AB	146.45 AB	47.92	48.87 AB
Cd	0.52 B	100.33 BC	41.75	29.05 B
VS1	0.57 AB	108.25 BC	42.27	32.67 B
VS7	0.60 AB	112.03 BC	42.22	34.60 B
VS9	0.75 A	174.63 A	44.87	64.32 A

* Los datos que comparten la misma letra son estadísticamente iguales ($\alpha=0.05$)

Los valores del diámetro del tallo son muy similares en los tratamientos testigo y en los inoculados, no obstante sobresalen los tratamientos que corresponden a las cepas Cd con efecto negativo y la VS9 con efecto positivo.

El peso fresco muestra diferencias estadísticamente significativas. El mejor tratamiento corresponde a la cepa VS9, lo que se corroboró con los datos de área foliar y diámetro del tallo.

Bashan *et al.*, (1986) indica que *Azospirillum* incrementa el diámetro del tallo y el número de hojas de las plantas de jitomate a los 45 días sobre los testigo, sin embargo, no establece diferencias estadísticamente significativas.

En este trabajo se comprobaron las observaciones de otros autores respecto a que la inoculación con *Azospirillum* promueve un aumento en diversos parámetros del crecimiento de las plantas de jitomate, con lo que se esperaría una mayor producción. En este sentido es conveniente señalar que no existe reportes respecto al efecto de *Azospirillum* sobre la etapa reproductiva y de producción de este cultivo y que los resultados aquí obtenidos sobre el estudio en estas etapas no concordaron con el desarrollo registrado en los otros parámetros de crecimiento.

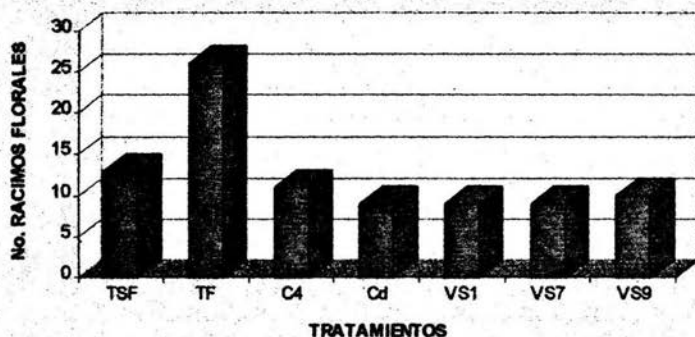
Teniéndose que entre los 60 y 65 días de desarrollo, en los tratamientos inoculados se observó la aparición de protuberancias a lo largo de los tallos.

En relación a las protuberancias, Massiaen (1979) indica que los síntomas de “epinastia” y “esbozos de raíces” corresponden a una hiperauxinia resultante de una reacción de defensa tardía del jitomate ante infecciones bacterianas. Kelman reporta efectos similares causados por *Pseudomonas solanaseum*, infección que culmina con el marchitamiento de la planta (Walker, 1973).

Considerando lo anterior, así como la capacidad de *Azospirillum* para producir fitorreguladores del crecimiento, es probable que el efecto adverso de *Azospirillum* registrado durante la floración y maduración se deba a la producción de este tipo de sustancias, de las cuales no se puede indicar si son originadas por la planta como defensa a la presencia de la bacteria, o bien fueron sintetizadas por las bacterias inoculadas.

Por otra parte durante la floración en los tratamientos inoculados se observó la abscisión de racimos florales, lo que condujo a un número de éstos muy reducido como se observa en la gráfica 1.

GRÁFICA 1. NÚMERO DE RACIMOS FLORALES EN PLANTAS DE JITOMATE A LOS 78 DÍAS



Otros reportes que apoyan los razonamientos anteriores son los referentes a que las giberelinas promueven la maduración de flores y cuajado del fruto, sin embargo, cuando se presentan en exceso, éstos fitorreguladores provocan la abscisión de las flores (Azcon-Bieto y Talon, 1996). Castro y Malvolta (1976), reportan que las giberelinas y las auxinas determinan una gran variabilidad del desarrollo entre los individuos (Rojas y Ramírez, 1989), aspecto que también se registró en este estudio destacando la altura de la parte aérea y longitud de las raíces a los 24 y 35 días (apéndice).

Aún cuando en los tratamientos biofertilizados se manifestaron alteraciones fisiológicas a partir de los 60 días, en ninguno de los casos se registró el marchitamiento de la planta, en tanto que la floración y rendimiento fueron mayores en el tratamiento fertilizado.

En virtud de que se registraron desórdenes en el crecimiento de la planta que pudieron ser causados por la inoculación o efecto de luminosidad en el invernadero, al finalizar el experimento se procedió a determinar la incidencia luminosa. En plantas se determinó clorofila y contenidos de nitrógeno y fósforo, y en el suelo contenido de nitrógeno y fósforo total.

La incidencia luminosa se midió con un fotómetro LI-COR (LI-180), y se encontró que la incidencia luminosa en el invernadero fluctuó de 1453.6 a 1017.8 lux contra 13.347 Klux al aire libre. Lo que indica una deficiencia luminosa en el invernadero del 90 %, lo que muy posiblemente repercutió de manera directa sobre el desarrollo de las plantas de jitomate.

Tabla 9. CONCENTRACIÓN FINAL DE CLOROFILA (Chl en µg/ml) a, b Y TOTAL EN PLANTAS DE JÍTOMATE.

TRATAMIENTO	Chl a		Chl b		Chl tot	Chla / Chl b	
TSF	0.3430	B	0.25100	BC	0.59500	BC	1.3665
TF	0.3330	B	0.25600	BC	0.59000	BC	1.3007
C4	0.4230	AB	0.29400	ABC	0.71600	ABC	1.4387
Cd	0.5120	A	0.31200	AB	0.82600	AB	1.6410
VS1	0.5520	A	0.37400	A	0.92500	A	1.4760
VS7	0.3780	B	0.28400	ABC	0.66200	BC	1.3309
VS9	0.3100	B	0.20100	C	0.50100	C	1.5423

* Los datos que comparten la misma letra son estadísticamente iguales ($\alpha=0.05$)

Salisbury *et al.*, (1995) menciona que la proporción de clorofila a/b en la hoja de jitomate es de 2.8 ± 0.4 . Cuando hay un efecto de sombra en las plantas éstas tienden a acumular mayor cantidad de clorofila, en especial clorofila b.

Los resultados de este análisis muestran diferencias estadísticamente significativas, en donde se observa una proporción mayor de clorofila a respecto a la clorofila b, lo que indica que no existe un efecto de sombra; no obstante, los datos obtenidos en la relación clorofila a/b indican que si existe cierta deficiencia de luminosidad ya que los valores resultan estar por debajo de lo reportado por Salisbury *et al.*, (1995).

En los contenidos de nitrógeno y fósforo no se encontró diferencias estadísticamente significativas, como lo muestra la tabla 10.

Tabla 10. EFECTO DE *Azospirillum* Y LA FERTILIZACIÓN QUÍMICA SIMULTÁNEA EN LA ACUMULACIÓN DE NITRÓGENO (N) Y FÓSFORO (P) EN PLANTAS DE JITOMATE A LOS 190 DÍAS DE DESARROLLO.

TRATAMIENTO	N (%)	P (%)
TSF	0.5727	0.0396
TF	0.8186	0.0536
C4	0.5150	0.0673
Cd	0.6067	0.0651
VS1	0.8084	0.0706
VS7	0.4577	0.0071
VS9	0.8708	0.0678

Los resultados respecto al nitrógeno son sorprendentes ya que los tratamientos Cd, VS1 Y VS9 presentaron un aumento de dicho macroelemento respecto al testigo no fertilizado (TSF), no obstante el tratamiento fertilizado no inoculado (TF) presentó una mejor respuesta, únicamente superado por el tratamiento VS9. Aún cuando *Azospirillum* es una bacteria fijadora de nitrógeno, se ha demostrado que no contribuye a la acumulación de este elemento en el cultivo del jitomate (Bashan *et al.*, 1986). Por otra parte se expresó un aumento en la acumulación de P por parte de los tratamientos inoculados y fertilizados respecto a los testigos. Se ha probado que *Azospirillum* en presencia de otros microorganismos como *Bacillus polymyxa* y *Pseudomonas striata* benefician la solubilización y absorción de P (Alagawadi y Gaur, 1992), aspecto que no se confirmó en este trabajo.

Tabla 11. CONTENIDO FINAL DE NITRÓGENO (N) Y FÓSFORO (P) EN EL SUELO.

TRATAMIENTO	N (%)	P (%)
TSF	0.017075	0.0093
TF	0.015275	0.0128
C4	0.015400	0.0121
Cd	0.017075	0.0402
VS1	0.023375	0.0121
VS7	0.017650	0.0124
VS9	0.017500	0.0132

Respecto al contenido final de N y P en suelo (tabla 11); no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Al tomar en cuenta que en un inicio el suelo contenía 0.018 % de nitrógeno y 0.003 % de fósforo, se puede establecer que para el caso de nitrógeno, las plantas inoculadas presentaron una mejor eficiencia para absorber el macroelemento, ya que la cantidad de N encontrado resultó ser casi igual que el inicial.

En cuanto al fósforo se observa que sólo en el testigo sin fertilizar se registró una cantidad menor al contenido inicial, en tanto que en los otros tratamientos los valores registrados fueron mayores, lo que corresponde al fósforo adicionado residual, ya que el superfosfato dispone o libera paulatinamente al fósforo.

Sin embargo, este análisis no resulta ser determinante ya que se requieren de análisis más finos para conocer el verdadero efecto de absorción de nutrimentos por parte de la planta según el grado de fertilidad del suelo.

No se logró tener registro del rendimiento en fruto, debido a que el problema de mosquita blanca se agravó, y las plantas no pudieron ser mantenidas más allá de los 190 días. Sin embargo, no se descarta la posibilidad de que en un mayor número de días las plantas fructificaran.

Simultáneamente a este trabajo, se llevó a cabo un estudio sobre el efecto de la inoculación con *Azospirillum* (cepas: C4, Cd, VS1, VS7 y VS9) sobre el desarrollo de jitomate en hidropónia bajo condiciones de invernadero. En la tabla 12 se comparan algunos parámetros en diferentes etapas del desarrollo de las plantas de jitomate evaluados en los dos estudios.

Tabla 12. COMPARACIÓN DEL EFECTO DE *Azospirillum* Y FERTILIZACIÓN QUÍMICA SIMULTÁNEA SOBRE EL DESARROLLO DE JITOMATE CULTIVADO EN SUELO E HIDROPÓNIA.

PARÁMETROS	•	TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
Altura de planta 35 días (cm)	S H	14.32	12.57 6.40	14.70 12.80	15.50 10.30	13.90 16.10	15.12 10.50	17.40 16.30
Altura de planta 60 días (cm)	S H	29.00	32.70 9.10	36.10 24.17	36.00 28.48	36.90 34.80	34.00 31.83	36.30 27.00
Altura de planta 190 días (cm)	S H	123.32	107.75 104.00	114.62 119.00	118.75 108.00	109.75 102.00	109.50 114.00	120.50 104.00
Diámetro de tallo 190 días (mm)	S H	0.62	0.70 0.50	0.65 0.77	0.52 0.77	0.57 0.92	0.60 0.84	0.75 0.87
Longitud de raíz 190 días (cm)	S H	21.75	13.37 39.88	17.75 60.44	14.25 51.25	15.50 55.66	18.50 54.96	20.87 54.13
Peso fresco de planta 190 días (g)	S H	86.90	121.83 164.43	146.45 183.46	100.33 179.33	108.25 175.41	112.03 189.96	174.63 187.05
Peso seco de planta 190 días (g)	S H	41.57	47.82 21.14	47.92 26.78	41.75 26.13	42.27 24.95	42.22 29.93	44.87 28.81
Área foliar 190 días (dm ² /g)	S H	23.45	36.70 69.77	48.87 77.72	29.05 75.99	32.67 74.57	34.60 80.85	64.32 84.50

• S=tratamiento en suelo, H=tratamiento en hidropónia (Urzúa, 1997).

Los datos nos indican que la altura a los 35, 60 y 190 días, así como al rendimiento en el peso seco en suelo sin esterilizar resultaron ser más favorables para el desarrollo de las plantas, aunque en condiciones hidropónicas la cepa VS1 a los 35 días y las cepas C4 y VS7 a los 190 días resultaron tener mejor efecto.

Las condiciones en hidropónia mejoran parámetros como diámetro del tallo, longitud de la raíz, peso fresco de la parte aérea y área foliar a los 190 días.

Cuando se compararon los datos de los testigos* para ambos casos resultó que la longitud de la raíz, el peso fresco y el área foliar a los 190 días fueron favorecidas en condiciones hidropónicas, mientras que en suelo las condiciones para el desarrollo de la parte aérea resultaron mejores. Lo anterior se puede deber a que en el suelo no estéril intervienen factores que anhiben el desarrollo de *Azospirillum* como la presencia de otros microorganismos.

A continuación se enlistan las cepas que presentaron los mejores efectos para ambos estudios sobre las plantas de jitomate. Donde se muestra un mejor comportamiento por parte de la cepa VS9 para ambos casos.

PARÁMETROS	ESTUDIO	CEPA
Altura de planta 35 días (cm)	SUELO HIDROPONIA	VS9 VS9
Altura de planta 60 días (cm)	SUELO HIDROPONIA	VS1 VS1
Altura de planta 190 días (cm)	SUELO HIDROPONIA	TSF C4
Diámetro de tallo 190 días (mm)	SUELO HIDROPONIA	VS9 VS1
Longitud de raíz 190 días (cm)	SUELO HIDROPONIA	TSF C4
Peso fresco de planta 190 días (g)	SUELO HIDROPONIA	VS9 VS7
Peso seco de planta 190 días (g)	SUELO HIDROPONIA	C4 VS9
Área foliar 190 días (dm ² /g)	SUELO HIDROPONIA	VS9 VS9

* En suelo, TSF=testigo sin fertilizar no inoculado y TF=testigo fertilizado no inoculado.
En hidropónia, TF=testigo con solución nutritiva no inoculado.

CONCLUSIONES

1. Las cepas heterólogas probadas de *Azospirillum* dieron lugar a asociaciones eficientes con jitomate.
2. La cepa VS9 resultó tener mejor efecto sobre el desarrollo del jitomate.
3. Las cepas probadas tienen efectos variables sobre la altura de la parte aérea a los 24 y 35 días de desarrollo.
4. Se comprobó que durante el desarrollo vegetativo del jitomate a la inoculación con *Azospirillum* y fertilización química simultánea aumentó el peso de la raíz, el diámetro del tallo, peso fresco de la parte aérea y área foliar.
5. El efecto de *Azospirillum* sobre el desarrollo vegetativo de las plantas de jitomate disminuye en presencia de suelo.
6. La fertilización química no favorece la altura de la parte aérea de jitomate respecto a la inoculación de *Azospirillum* y fertilización química simultánea.
7. La presencia de suelo favorece el desarrollo de las plantas, en tanto que, bloquea la manifestación del efecto de las cepas inoculadas.

SUGERENCIAS

Se deben realizar más estudios sobre el tema, como:

- Probar diferentes concentraciones de inóculo (*Azospirillum*) en jitomate, indicando para cada concentración la cantidad de células viables adheridas por semilla.
- Realizar trasplante a partir de almácigo, empleando para éste diferentes sustratos.
- Probar diferentes dosis de fertilizante con nitrógeno y fósforo al inocular con *Azospirillum*.
- Realizar pruebas para conocer la capacidad de *Azospirillum* para solubilizar fósforo.
- Realizar análisis cualitativos y cuantitativos de fitoreguladores del crecimiento presentes en plantas de jitomate, inoculadas con *Azospirillum*.

BIBLIOGRAFÍA

- Alagawadi, A. R. y A. C. Gaur. 1992. Inoculation of *Azospirillum brasilense* and phosphate-solubilizing bacteria on yield of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) in dry land. *Trop. Agric.* 69: 347-350.
- American Society of Agronomy. 1965. *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties.* pp 891-900.
- Azcon-Bieto, J. y M. Talon. 1996. *Fisiología y Bioquímica Vegetal.* Interamericana McGraw Hill. México. pp 337.
- Baker N. R. y M. F. Hipkiss. 1986. *Photosynthesis: Energy transduction: A practical approach.* IRL. Oxford. pp 199.
- Balandreau, J. 1986. Ecological factors and adaptive process in N₂-fixing bacterial populations of the plant environment. *Plant Soil.* 90: 73-92.
- Baldani, V. L. D. y J. Döbereiner. 1980. Host-plant specificity in the infection cereals with *Azospirillum spp.* *Soil Biol. Biochem.* 12: 433-439.
- Baldani, V. L. D., J. Y. Baldani y J. Döbereiner. 1987. Inoculation of field-grown wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum spp.* in Brazil. *Biol. Fertil. Soils*, 4: 37-40.
- Barbieri, P., T. Zanelli, E. Galli y G. Zanetti. 1986. Wheat inoculation with *Azospirillum brasilense* Sp6 some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid production. *FEMS Microbiol. Lett.* 36: 87-90.
- Bashan, Y., H. Levanony y R. E. Whitmoyer. 1991. Root surface colonization of non-cereal crop plants by pleomorphic *Azospirillum brasilense* Cd *Journal of General Microbiology.* 137: 187-196.
- Bashan, Y. y Y. Ream, H. Levanony y A. Sade. 1989 a. Nonspecific responses in plant growth, yield, and root colonization of noncereal crop plants to inoculation with *Azospirillum brasilense* Cd. *Can J. Bot.* 67: 1317-1324.
- Bashan, Y. y H. Levanony. 1990. Current status of *Azospirillum* as a challenge for agriculture. *Can. J. Microbiol.* 36: 591-608.
- Bashan, Y. 1986 a. Alginate beads as synthetic inoculant carriers for the slow release of bacteria that effect plant growth. *Appl. Environ. Microbiol.* 51: 1089-1098.

- Bashan, Y. 1986 b. Migration of the rhizosphere bacteria *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* towards wheat roots in the soil. J. Gen. Microbiol. 132: 3407-3414.
- Bashan, Y. y H. Levanony. 1988. Active attachment of *Azospirillum brasilense* Cd to quartz sand and to a light-textured soil by protein bridging. J. Gen. Microbiol. 134: 2269-2279.
- Bashan, Y. y H. Levanony. 1987. Horizontal and vertical movement of *Azospirillum brasilense* Cd in the soil and along the rizosphere of wheat and weeds in controlled and field environments. J. Gen. Microbiol. 133: 3473-3480.
- Bashan, Y. y J. Wolowelsky. 1987. Soil samplers for quantifying microorganisms. Soil. Sci. 143: 132-138.
- Bashan, Y., M. Singh y H. Levanony. 1989 b . Contribution of *Azospirillum brasilense* Cd to growth of tomato seedlings is not trough nitrogen fixation. Can J. Bot. 67: 2429-2434.
- Baver, L. D. y W. H. Gardner. 1980. Física de Suelos. Unión Tipográfica. Editorial Hispano-Americana, S.A. pp 429.
- Bidwell, R. G. S. 1979. Fisiología vegetal. AGT Editor. México. pp 784.
- Bosso, B. y C. Serafin. 1981. El experto horticultor. AGT Editor, S.A. México. pp 172.
- Bottini, R., M. Fulcheri, D. Pearce y R. P. Pharis. 1989. Identification of Giberellins A1, A3 and Iso-A3 in Cultures of *Azospirillum lipoferum*. Plant Physiol. 90: 45-47.
- Cajuste, L. D. 1986. El fósforo aprovechable de los suelos. Serie Cuadernos de Edafología 6. Centro de Edafología del Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. pp 19.
- Calderón, J. 1995. La fijación biológica de nitrógeno en la fertilización de plantas. Curso de Biotecnología y su vínculo con la industria. Facultad de Química. UNAM.
- Domínguez, V. A. 1989. 2ª edición. Tratado de fertilización. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. pp 502.
- Evans, G. C. 1972. The quantitative Analysis of Plant Growth. University of California Press. Studies in Ecology. Vol. 1. 408-412.
- Ojeda, O. D. 1980. Cálculos e interpretación de análisis de suelos. UNAM. 69-170.

- Flores Ayala, A. A. 1985. Aislamiento y caracterización de *Azospirillum sp.* de la rizósfera de sorgo en Valle Santiago, Guanajuato. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
- Foth, H. D. 1992. Fundamentos de la ciencia del suelo. 3a. edición. Ed. CECSA. México. pp 527.
- Jiménez, G. M. 1986. Efecto de la inoculación de *Azospirillum sp* en dos variedades de trigo, realizada a nivel invernadero. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
- Gaucher, G. 1970. El suelo y sus características agrícolas. Ed. Omega. Barcelona. pp 647.
- Gavande, S. A. 1972. Física de suelos. Principios y Aplicaciones. Ed. Limusa. México. pp 351.
- Hadas, R. y Y. Okon. 1987. Effect of *Azospirillum brasilense* inoculation on root morphology and respiration in tomato seedlings. Biol. Fertil. Soil. 5: 241-247.
- Hartman, A. M. Singh y W. Klingmuller. 1983. Isolation and characterization of *Azospirillum* mutants, excreting high amounts of indolacetic acid. Can. J. Microbiol. 29: 916-923.
- INEGI 1995. BIOSA No. 119.
- Jackson, M. L. 1976. 3a. de. Análisis químico de suelos. Editorial Omega. Barcelona, España. pp 662.
- Kapulnik, Y., Y. Okon, J. Kigel, Y. Nur y Y. Henis. 1981. Effects of temperature, nitrogen fertilization, and plant age on nitrogen fixation by *Setaria italica* inoculated with *Azospirillum brasilense* (strain Cd). Plant Physiol. 68: 340-343.
- Mascarúa, M. A., Caballero, J. & Carcaño, M. 1997. tecnologías ambientales para el desarrollo sustentable. Biofertilización en gramíneas: <http://dellieco.conacyt.mx/ta/tae.htm>
- Mascarúa-Esparza, M. A., R. Villa y J. Caballero-Mellado. 1988. Acetylene reduction and indolacetic acid production by *Azospirillum* isolates from Cactaceous plants. Plant and Soil. 4: 27-35.
- Merk, E. 1982. Manual de Medios de Cultivo. Merk. México. pp 190.
- Messiaen, C.M. 1979. Las Hortalizas. Colección de Agricultura Tropical. Blume distribuidora, S.A. México. pp 455.

- Mitchell, H. L. 1982. Microdetermination of nitrogen in plant tissues. *Journal of the AOAC*. 55: 1-3.
- Morgenstern, E. y Y. Okon. 1987. The effect of *Azospirillum brasilense* y auxin on root morphology in seedlings of *Sorghum bicolor* x *Sorghum sudanense*. *Arid Soil. res. Rehabil.* 1: 115-127.
- Mohandas, S. 1988. Nitrogen fixation in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill 'Pusa Ruby'). *Plant Soil*. 107: 219-225.
- Nuez, F. 1995. El cultivo del tomate. Editorial Mundi-Prensa. Barcelona, España. 793 pp.
- Okon, Y. 1985. *Azospirillum* as a potential inoculant for agriculture. *Trends. biotechnol.* 3: 223-228.
- Okon, Y., and Hadar, Y. 1987. Microbial inoculants as crop-yield enhancers. *CRC Crit. Rev. Biotechnol.* 6: 61-85.
- Okon, Y., and Kapulnik, K. 1986. Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. *Plant. Soil*, 90: 3-16.
- Okon, Y., Heytler, P. G., & Hardy, R. W. F. 1983. N₂ fixation by *Azospirillum brasilense* and its incorporation into host *Setaria italica*. *Appl. Environ. Microbiol.* 46: 694-697.
- Ortega Reyes, S. E. 1989. Aspectos fisiológicos y bioquímicos de *Azospirillum* sp. y su importancia agrícola. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
- Ramírez Gama, R.M. y Luna Millán, B. 1995. 1a. Reunión Internacional de Ecología Microbiana. Centro de Investigación y Estudios Avanzados - IPN. México, D.F.
- Reynders, L. 6 Vlassak, K. 1982. use of *Azospirillum brasilense* as biofertilizer in intensive wheat cropping. *Plant and Soil*. 66: 217-223.
- Rick, Ch. M. 1976. Tomato. In "Simmonds, N. W. Evolution of crop plants. Longman, London and New York" 268-273.
- Rick, Ch. M. 1978. The tomato. *Scientific American*. 239 (2): 67-76.
- Rodríguez, B. C., N. S. E. Cervantes, N. S. Subbarao, N. S. y C. E. Rodriguez. 1991. Growth promoting effect of *Azospirillum brasilense* on *Casuarina cunninghamiana* Miq. seedlings. *Planta and Soil*. 135: 121-124.

- Rojas, G. M., y Ramírez, H. 1987. Control hormonal del desarrollo de las plantas. Editorial Limusa. México. pp 262
- Ruíz, B. A., Ortega T.E. 1979. Química de suelos. Prácticas de laboratorio. Patronato de la Universidad Autónoma de Chapingo, México. pp 76.
- SAGAR 1995. Boletín Mensual de Información Básica del Sector Agropecuario y Forestal. Avance a octubre.
- Salisbury, F. B. y Ross, C. W. 1992. Plant Physiology. 4ª edición. Editorial Wadsworth, Belmont. California. pp 657.
- SEP. 1987. Manuales para la educación agropecuaria. Horticultura. Ed. Trillas. México. pp 52.
- SEP. 1990. Manuales para la educación agropecuaria. Tomates. Ed. Trillas. México. pp 47.
- Sprent, J.I. & Sprent, P. 1990. Nitrogen Fixing Organism. editorial Chapman and Hall. Great Britain. pp 255.
- Stacey, G. R. Burris & H. Evans. 1992. Biological Nitrogen Fixation. Editorial Chapman & Hall. USA. pp 601.
- Tarrand, J. J., Krieg, N. R., and Döbereiner, J. 1978. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with descriptions of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. Can. J. Microbiol. 24: 967-980.
- Terrazas, S. A. 1996. El sector agrícola mexicano y el TLCAN. Facultad de Economía. UNAM. pp 20.
- Tompson, I. 1978. El suelo y su fertilidad. Editorial Reverté, S.A. Barcelona, España. pp 649.
- Urzúa, H. M. C. 1997. Evaluación del efecto de *Azospirillum* sobre el rendimiento de *Lycopersicon esculentum* (bajo condiciones controladas). Tesis de Licenciatura. ENEP Iztacala. UNAM. Inédita.
- Walker, J. C. 1973. 2ª. edición. Patología Vegetal. Ediciones Omega, S. A. Barcelona. pp 818.
- Wild, A. 1992. Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russell. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. pp 801.
- Yufera, E. P. 1979. Química Agrícola III. Ed. Alhambra. España. pp 683.

ANEXO 1

Cálculo del fertilizante.

$$100 \times 100 \times 0.2^* \times 1.22^{**} = 2440 \text{ Ton/ha} = 2440,000 \text{ Kg/ha}$$

SULFATO DE AMONIO, $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$; dosis 180 Kg / ha (21 % N).

2,440,000 Kg / ha.....	180 Kg / ha
8 Kg / maceta.....	0.00059 Kg / ha
	0.59 g / maceta
100,000 g sulfato de amonio.....	21,000 g N
0.59 g / maceta “	0.124 g N / maceta

SUPERFOSFATO TRIPLE, $10\text{CaH}_4(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O} + 2\text{FH}$; dosis 250 Kg / ha (43 % P)

2,440,000 Kg / ha.....	250 Kg / ha
8 Kg / maceta.....	0.00082 Kg / ha
	0.82 g / maceta
100,000 g superfosfato triple.....	43,000 g P
0.82 g / maceta “	0.35 g P / maceta

SULFATO DE POTASA, K_2SO_4 ; dosis 250 Kg / ha (48 % K).

2,440,000 Kg / ha.....	250 Kg / ha
8 Kg / maceta.....	0.00082 Kg / ha
	0.82 g / maceta
100,000 g sulfato de potasa	48,000 g K
0.82 g / maceta “	0.39 g K / maceta

* profundidad a la que se tomó la muestra

** densidad aparente del suelo

ANEXO 2

Medios de cultivo.

Medio Nfb semisólido.

Recomendado por Tarrand *et al.*, (1978) para el aislamiento y caracterización primaria de *Azospirillum sp.*, el cual se manifiesta con el desarrollo de una película blanca en la superficie del medio con vire de color azul del indicador .

Ácido succínico.....	5.000 g
NaCl.....	0.100 g
K ₂ HPO ₄	0.500 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O.....	0.200 g
CaCl ₂	0.020 g
MnSO ₄ · H ₂ O.....	0.235 g
H ₃ BO ₃	0.280 g
Na ₂ MoO ₄ · H ₂ O.....	0.002 g
CuSO ₄	0.008 g
ZnSO ₄ · H ₂ O.....	0.024 g
Azul de bromotimol al 5 % en solución acuosa	
H ₂ O destilada.....	2,000 ml
Agar.....	1.750 g

Medio Nfb líquido (liq).

Se presenta la misma composición del semisólido, pero sin agar, ni indicador, además de contener 1 g/l de cloruro de amonio (NH₄Cl). Se adiciona el cloruro de amonio debido a que *Azospirillum* fija nitrógeno en condiciones microaerofilicas, pero es incapaz de crecer anaeróbicamente en ausencia de este elemento.

Medio de Gelosa Nutritiva (Merck, 1982).

Peptona de carne.....	0.50 g
Extracto de carne.....	0.30 g
Agar-Agar.....	1.50 g
H ₂ O destilada.....	100 ml
pH.....	7

ANEXO 3

Método de la acetona para determinación de Clorofila (Chl).

FUNDAMENTO:

La extracción total de los pigmentos a partir de tejidos intactos puede ser difícil. Los solventes más empleados son la acetona y el metanol. El tejido debe cortarse en pedazos pequeños para conseguir una penetración efectiva del solvente, la cual debe ayudarse mediante la maceración del tejido.

MATERIAL Y MÉTODO:

Pesar 0.5 g de tejido vegetal (hoja), colocar en un tubo de ensaye (16x150), macerar con 10 ml de acetona al 80 % (v/v) con un homogenizador de vidrio. Para evitar la pérdida de pigmentos por la descomposición a la luz, los tubos se cubren con papel aluminio, además la técnica se lleva en condiciones de obscuridad. Posteriormente se mide la absorbancia a 645 y 663 nm en un espectrofotómetro Spectronic 20 D empleando celdas de 10 mm.

La concentración de clorofila (Chl en $\mu\text{g/ml}$) se calcula con las siguientes ecuaciones:

$$\begin{aligned}\text{Chla} &= 12.7 \Delta_{663} - 2.69 \Delta_{645} \\ \text{Chlb} &= 22.9 \Delta_{645} - 4.68 \Delta_{663} \\ \text{Chltotal} &= 20.2 \Delta_{645} + 8.02 \Delta_{663}\end{aligned}$$

ANEXO 4

Ecuación de Hughes, Cockshull y Heath para determinar área foliar.

La fórmula se recomienda para trabajos en condiciones controladas.

$$L_A = 0.496 L_{H_2O} \pm 0.223$$

donde; L_A = Área foliar, (dm^2/g)

L_{H_2O} = Contenido absoluto de agua en las hojas (g)



ANEXO 5

Método del Micro-Kjeldahl para determinar N total en tejido vegetal.

BIBLIOTECA
INSTITUTO DE ECOLOGIA
UNAM

FUNDAMENTO:

La reacción de Berthelot de amonio con fenol e hipoclorito de sodio en un medio alcalino es usado para determinar nitrógeno en tejido animal.

El nitroprusiato de sodio se usa como catalizador para desarrollar color. La reacción con EDTA elimina la interferencia de los iones metálicos. Es importante controlar el pH de la mezcla, es recomendable neutralizarla alrededor del 90 %.

REACTIVOS:

Solución A - 4.8 g NaOH/100ml. agua destilada.

*Solución B - 5 g fenol + 25 mg nitroprusiato de sodio/500ml. agua destilada.

*Solución C - 2.5 g NaOH + 1.87 g Na_2HPO_4 anhidrido + 15.9 g $\text{NaPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ + 5ml. de Clorox/500ml agua destilada.

Solución EDTA - 1 g EDTA/100 ml. agua destilada, ajustar a pH 10 con NaOH conc.

Catalizador - 2g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ + 30 g K_2SO_4 .

Solución estándar de N- 0.472 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ /1000ml. agua destilada, diluir 10 ml. de ésta solución en 1000 ml. agua destilada ($1\mu\text{g N/ml}$).

MÉTODO:

Pesar 15 mg de papel filtro + 50 mg de muestra + 1 g de catalizador + 1 ml de H_2SO_4 conc., dirigir a un matraz Kjeldahl (30 ml), el digerido se diluye a 250 ml. Posteriormente se toman 5 ml + 1 ml EDTA + 5 ml solución A + 10 ml solución B + 10 ml solución C, aforando a 100 ml. Después de 1 hora se mide la absorbancia a 625 nm en un espectrofotómetro Spectronic 20 D empleando celdas de 10 mm.

*Guardar en frascos ámbar y en refrigeración.

ANEXO 6

Método del Vanadato-Molibdato para determinar P en tejido vegetal.

FUNDAMENTO:

La oxidación de la materia orgánica de los tejidos vegetales y la liberación de los elementos minerales, tales como Ca, Mg y P, se efectúan mediante la oxidación húmeda, mediante ácidos oxidantes como la mezcla ternaria de HNO_3 - H_2SO_4 - HClO_4 . Se utiliza HCl como disolvente, el Ca pasa a forma soluble, cloruro, y el HCl se utiliza, además con concentración suficiente para impedir que la sílice se rehidrate. No se conoce exactamente la naturaleza del compuesto cromógeno amarillo del sistema vanadomolibdofosfórico pero el color se atribuye a la sustitución de los átomos de O del radical PO_4^{3-} por radicales oxivanadio y oximolibdeno, para dar un heteropolicompuerto que es cromógeno.

REACTIVOS:

Dilución ternaria de los tres ácidos - 100ml HNO₃ conc. + 10 ml H₂SO₄ conc. + 40ml HClO₄ 60 % (proporción en volumen 10:1:4).

Disolución A - 25 g molibdato amónico/400ml agua destilada.

Disolución B - 1.25 g metavanadato amónico/300ml agua destilada hirviendo. Una vez fría se añade 250 ml HNO₃ conc.

Disolución vanadatamolibdato - Se mezclan las dos disoluciones y se aforan a 1000ml.

MÉTODO:

Para muestras pequeñas se realiza una predigestión.

Colocar 0.2 g de tejido vegetal desecado y pulverizado + 1 ml HNO₃ conc. en un matraz Erlenmeyer (250ml). Calentar en baño maría por 30min., después en una parilla de calentamiento a 180 °C durante 45min, hasta casi sequedad. Posteriormente, se añade 1 ml de la disolución ternaria, digerir a 180 °C, en algunos casos es necesaria la adición de 1 ml más de disolución ternaria, ya que las muestras casi secas presentan un color pardo, y seguir la digestión. La digestión final es clara, blanca y ligeramente humedecida. Después, adicionar al digerido 5 ml HCl conc. , mezclar y verter a tubos de ensaye (22x175 con 50 ml de capacidad) enjuagar el matraz con HCl 6 N. Los tubos se llenan hasta su volumen total con HCl 6 N. Una vez precipitada las sales se toman alícuotas de 5-35ml a un matraz aforado (50ml) + 10ml de disolución vanadatamolibdato. Una vez transcurridos 10 min. se lee la absorbancia a 460 nm en un espectrofotómetro Spectronic 20 D empleando celdas de 10 mm.

ANEXO 7

Método de Kjeldahl para determinar N total en suelo.

FUNDAMENTO:

Se realiza una digestión por calentamiento de la muestra con ácido sulfúrico conteniendo sustancias que aceleran y facilitan la oxidación de la materia orgánica a amonio, como sulfato de potasio o de sodio y sulfato de cobre. El amonio de la muestra digerida, es determinado por la titulación del amonio liberado durante la destilación.

REACTIVOS:

Mezcla digestora - 10 g K₂SO₄ + 0.2 g CuSO₄·5H₂O

Solución indicadora (verde de bromocresol y rojo de metilo) - 0.1 g verde de bromocresol + 2 ml NaOH 0.1 N + etanol 95 % / 100 ml etanol 95 % - 0.1 g rojo de metilo + pequeña cantidad de etanol + NaOH 0.1 N / 100 ml etanol 95 % . Mezclar 75 ml de la solución verde de bromocresol + 25 ml de la solución rojo de metilo / 200 ml etanol.

MÉTODO:

Pesar 2.5 g suelo + 11 g mezcla digestora + 20 ml H₂SO₄ conc., digerir en un matraz Kjeldahl (100ml) hasta obtener color paja. Posteriormente vertir el digerido en un matraz bola (1000ml) + 300 ml agua destilada + 125 ml NaOH 40 % + granallas de zinc + parafina, para ser destilado. Éste se recoge en un matraz Erlenmeyer (250ml) con 25 ml ácido bórico 4 % + 4 gotas de solución indicadora. La solución se titula con H₂SO₄ 0.01N.

Cálculos: $\% N T = (T-B) \cdot N \cdot 1.4 / S$ dónde; NT = nitrógeno total
T = ml H₂SO₄ valorado (muestra).
B = ml H₂SO₄ valorado (testigo).
N = normalidad del H₂SO₄.
S = peso de muestra (g).

ANEXO 8

Método de Olsen *et al.*, para determinar P aprovechable en suelo.

FUNDAMENTO:

La solución extractora esta formada por NaHCO₃ 0.5 M de pH 8.5. Bajo estas condiciones, la solubilidad del fosfato de calcio existente en los suelos calcáreos, alcalinos o neutros aumenta debido a la precipitación de Ca²⁺ como CaCO. En suelos ácidos que contengan fosfatos ligados al Al y Fe, la precipitación de P en la solución incrementa conforme sube el pH. Reacciones de precipitación secundaria se reducen al mínimo debido a que la concentración de Al, Ca y Fe, se mantiene a un bajo nivel en esta solución extractora.

REACTIVOS:

Solución extractora - 42 g bicarbonato de sodio/1000ml agua destilada, ajustar pH 8.5 con NaOH 1M.

Solución combinada - Mezclar 12 g molibdato de amonio (NH₄)₆Mo₇O₂₄ · 4H₂O / 250ml agua destilada + 0.2908 g tartrato doble de potasio y antimonio K(SbO)CH₄O₆ · 0.5H₂O / 1000ml H₂SO₄ 5 N y aforar a 2000 ml agua destilada.

Solución desarrollo de color - 0.739 g ácido ascórbico / 140 ml solución combinada.

Solución estándar - 0.4394 g fosfato de potasio monobásico KH₂PO₄, previamente secado a 100 °C / 40 ml solución extractora, aforar a 100 ml con solución extractora.

MÉTODO:

Pesar 2.5 g de suelo + 50 ml solución extractora. Aforar a 25 ml, 5 ml solución extractora + 5 ml de solución para desarrollo de color + 15 ml agua destilada, agitar y dejar reposar 15 minutos. Medir la transmitancia a 880 nm en un espectrofotómetro Spectronic 20 D empleando celdas de 10 mm.

APÉNDICE

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

ANÁLISIS 1. Variable dependiente: ALTURA DE LA PLANTA (24 DÍAS).

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
8.00	7.00	8.50	9.50	8.00	7.50	6.00
7.00	7.50	6.50	6.00	7.50	6.00	6.50
6.50	10.50	10.00	8.00	6.00	4.50	7.00
8.00	2.00	6.00	11.00	7.00	2.00	4.00
3.00	6.00	7.00	9.50	2.00	10.50	8.00
14.00	6.00	7.50	7.00	6.00	8.00	8.00
10.50	6.00	7.00	8.00	5.00	8.00	8.00
9.00	7.00	10.00	8.50	6.00	10.00	7.00
8.00	8.00	8.00	10.00	5.50	9.00	7.50
10.50	8.50	8.50	11.50	9.50	8.00	6.00
9.00	7.50	7.50	9.00	4.00	8.00	8.00
7.50	7.50	9.50	10.50	7.00	4.00	8.50
7.00	2.00	8.00	9.00	8.50	7.50	7.50
5.50	8.00	8.00	7.00	7.00	8.00	8.00
8.50	8.00	7.50	8.00	7.00	5.00	6.50
7.00	7.00	7.00	5.00	6.50	7.00	9.00
4.50	6.00	8.00	8.50	11.00	10.00	9.50
8.50		5.50	8.00	6.50	2.00	7.50
8.50		7.50	10.00	6.50	9.50	9.50
9.00		8.00	7.00	8.50	8.00	8.00
5.50		8.50	7.500	10.50	10.00	8.00
		8.00	9.00			
		8.50	10.50			

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	28	144.938109	5.17767519	1.49	0.0733
ERROR	118	409.892231	3.47366322		
TOTAL	146	554.850340			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	8.310	23	Cd
A	7.860	21	TSF
A	7.540	21	VS9
B	7.260	21	VS7
A	6.930	21	VS1
A	6.900	23	C4
A	6.730	17	TF

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 54; MSE = 0.03035; Diferencia Mínima Significativa = 0.2386

ANÁLISIS 2. Variable dependiente: ALTURA DE LA PLANTA (35 DÍAS).

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
15.00	14.50	13.00	13.00	17.00	17.00	17.00
13.50	7.50	19.50	19.50	14.00	20.50	16.50
5.00	14.00	14.50	21.50	10.50	17.00	14.00
23.00	17.50	15.00	13.00	13.50	16.50	18.50
18.50	6.00	13.50	16.00	14.50	14.00	17.00
16.00	14.00	13.00	6.00	10.00	11.50	20.00
15.00	14.50	16.00	20.50	15.50	5.50	19.50
11.50		14.50	18.00	14.00	19.00	19.00
14.50		14.50	10.50	13.00		15.50
14.00		12.50	14.00	17.00		17.00
11.50		16.00	15.50			
		15.00	16.50			
		15.00	17.00			
			16.00			

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	19	212.97.2321	11.2090709	0.83	0.0599
ERROR	53	713.034528	13.4534822		
TOTAL	72	926.006849			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	17.400	10	VS9
A	15.500	14	Cd
A	15.120	8	VS7
A	14.700	13	C4
A	14.320	11	TSF
A	13.900	10	VS1
A	12.570	7	TF

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 118; MSE = 3.473663 Diferencia Mínima Significativa = 4.2926

ANÁLISIS 3. Variable dependiente: ALTURA DE LA PLANTA (60 DÍAS).

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
32.00	35.00	35.00	35.00	35.00	37.00	34.00
28.00	34.00	37.00	41.00	45.00	30.00	37.00
32.00	33.00	35.00	43.00	37.00	30.00	40.00
23.00	35.00	40.00	33.00	43.00	30.00	40.00
26.00	26.00	33.00	31.00	33.00	37.00	30.00
25.00	37.00	38.00	34.00	35.00	35.00	35.00
35.00	25.00	38.00	30.00	36.00	35.00	32.00
33.00	35.00	30.00	36.00	35.00	41.00	37.00
28.00	30.00	33.00	37.00	30.00	28.00	40.00
28.00	37.00	42.00	40.00	40.00	37.00	38.00

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	15	710.285786	47.352300	3.17	0.0009
ERROR	54	806.857100	14.941700		
TOTAL	69	1517.14280			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	36.900	10	VS1
A	36.300	10	VS9
A	36.100	10	C4
A	36.000	10	Cd
B A	34.000	10	VS7
B A	32.700	10	TF
B A	29.000	10	TSF

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 54; MSE = 14.9418; Diferencia Mínima Significativa = 4.331

ANÁLISIS 4. Variable dependiente: ALTURA DE LA PLANTA (190 DÍAS).

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
127.30	90.00	118.50	114.00	91.00	90.00	132.00
98.00	122.00	107.00	128.00	112.00	112.00	130.00
128.00	103.00	132.00	117.00	107.00	107.00	103.00
140.00	116.00	101.00	116.00	129.00	129.00	117.00

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	9	1425.78071	158.42008	0.76	0.6551
ERROR	18	3764.39357	209.13298		
TOTAL	27	5190.17429			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	123.33	4	TSF
A	120.50	4	VS9
A	118.75	4	Cd
A	114.63	4	C4
A	109.75	4	VS1
A	109.50	4	VS7
A	107.75	4	TF

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 18; MSE = 209.133; Diferencia Mínima Significativa = 33.79

ANÁLISIS 5. Variable dependiente: LONGITUD DE LA RAÍZ (35 DÍAS).

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
3.50	4.50	4.00	2.00	2.50	6.00	2.00
3.00	1.50	3.00	4.00	2.00	3.50	2.00
1.50	3.00	2.00	3.00	3.00	2.50	4.00
5.00	5.00	2.50	2.00	3.00	2.50	4.00
4.00	2.00	4.00	2.00	2.00	4.50	3.00
4.00	3.00	3.00	1.00	1.50	2.50	2.00
4.00	2.50	2.00	2.00	2.00	1.50	3.00
3.00		3.00	2.00	2.50	3.50	2.00
3.00		3.50	2.00	2.50		2.00
3.50		2.50	3.00	3.50		2.50
3.50		3.00	2.50			
		2.00	2.50			
		2.00	3.00			
			2.50			

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	19	22.4268286	1.1803500	1.41	0.1646
ERROR	53	44.5115271	0.839840		
TOTAL	72	66.933350			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	36.900	10	VS1
A	36.300	10	VS9
A	36.100	13	C4
A	36.000	14	Cd
B A	34.000	8	VS7
B A	32.700	7	TF
B	29.000	11	TSF

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 54; MSE = 13.4534; Diferencia Mínima Significativa = 4.334

ANÁLISIS 6. Variable dependiente: LONGITUD DE LA RAÍZ (190 DÍAS).

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
18.00	15.50	15.50	12.50	18.00	23.50	23.00
17.00	17.50	22.00	14.00	15.00	17.00	22.50
31.00	2.00	12.50	13.50	13.00	18.50	15.50
21.00	18.50	21.00	17.00	16.00	15.00	22.50

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	9	299.946429	33.327381	1.49	0.2373
ERROR	18	411.910714	22.883929		
TOTAL	27	711.857143			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	21.750	4	TSF
A	20.875	4	VS9
A	18.500	4	VS7
A	17.750	4	C4
A	15.500	4	VS1
A	14.250	4	Cd
A	13.375	4	TF

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 18; MSE = 22.8839; Diferencia Mínima Significativa = 11.177.

ANÁLISIS 7. Variable dependiente: PESO DE RAÍZ (190 DÍAS).

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
17.10	13.20	30.00	4.00	20.80	19.00	24.90
15.20	13.00	30.30	13.80	14.50	20.90	23.30
15.90	24.00	23.70	12.90	15.70	20.20	15.00
8.90	9.20	24.70	17.70	22.00	11.50	16080

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	9	623.185000	69.242778	2.90	0.0260
ERROR	18	429.393571	23.855198		
TOTAL	27	1052.578571			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	27.175	4	C4
B A	20.000	4	VS9
B A	18.250	4	VS1
B A	17.900	4	VS7
B	14.850	4	TF
B	14.275	4	TSF
B	12.100	4	Cd

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 18; MSE = 23.8552; Diferencia Mínima Significativa = 11.412.

**ANÁLISIS 8. Variable dependiente: PESO FRESCO DE LA PLANTA
(190 DÍAS)**

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
97.40	132.00	146.95	56.00	99.20	108.70	166.20
63.00	107.20	155.85	113.75	70.45	141.20	147.10
91.00	157.25	153.20	115.50	147.70	79.70	181.20
96.20	90.90	129.90	116.10	115.70	118.50	204.00

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	9	22953.9786	2550.4421	3.95	0.0063
ERROR	18	11618.8957	645.4942		
TOTAL	27	34572.8743			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	174.63	4	VS9
B A	146.45	4	C4
B A C	121.83	4	TF
B C	112.03	4	VS7
B C	108.25	4	VS1
B C	100.33	4	Cd
C	086.90	4	TSF

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 18; MSE = 645.494; Diferencia Mínima Significativa = 59.364

ANÁLISIS 9. Variable dependiente: PESO SECO DE LA PLANTA (190 DÍAS).

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
40.80	47.30	52.35	37.35	38.05	43.80	42.50
38.60	47.50	44.10	41.45	44.25	42.80	42.80
39.25	51.20	48.60	42.60	44.35	36.50	49.50
47.70	45.35	46.70	45.70	42.60	45.80	44.70

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	9	220.542143	24.504683	2.01	0.0992
ERROR	18	219.482143	12.193452		
TOTAL	27	440.024286			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	47.925	4	C4
A	47.825	4	TF
A	44.875	4	VS9
A	42.275	4	VS1
A	42.225	4	VS7
A	41.750	4	Cd
A	41.575	4	TSF

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 18; MSE = 12.1934; Diferencia Mínima Significativa = 8.1591.

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

ANÁLISIS 10. Variable dependiente: DIÁMETRO DEL TALLO (190 DÍAS).

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
0.70	0.70	0.70	0.40	0.60	0.60	0.70
0.60	0.70	0.70	0.60	0.50	0.50	0.80
0.70	0.80	0.60	0.50	0.60	0.70	0.70
0.50	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.80

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	9	0.14535714	0.01615079	2.51	0.0460
ERROR	18	0.11571429	0.00642857		
TOTAL	27	0.26107143			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	0.75000	4	VS9
A	0.70000	4	TF
B A	0.65000	4	C4
B A	0.62500	4	TSF
B A	0.60000	4	VS7
B A	0.57500	4	VS1
B	0.52500	4	Cd

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 18; MSE = 0.00642; Diferencia Mínima Significativa = 0.1873

ANÁLISIS 11. Variable dependiente: ÁREA FOLIAR (190 DÍAS).

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
28.07	42.01	46.92	9.29	30.33	32.19	61.35
12.10	29.61	55.42	35.86	12.99	48.80	51.73
29.63	52.60	51.88	36.15	51.26	21.42	65.32
24.05	22.59	41.26	34.91	36.25	36.05	79.01

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	9	4917.83679	546.42631	3.89	0.0069
ERROR	18	2530.23571	140.56865		
TOTAL	27	7448.07250			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	64.325	4	VS9
B A	48.875	4	C4
B A	36.700	4	TF
B	34.600	4	VS7
B	32.675	4	VS1
B	29.050	4	Cd
B	23.450	4	TSF

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 18; MSE = 140.568; Diferencia Mínima Significativa = 27.703.

ANÁLISIS 12. Variable dependiente: NITRÓGENO ACUMULADO EN PLANTA (190 DÍAS).

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
0.1130	0.9318	0.5465	0.11092	0.4725	0.4791	0.9299
0.7222	0.9310	0.5935	0.6976	0.7075	0.4023	0.7053
0.5691	0.2457	0.2570	0.7190	0.4785	0.7117	0.9850
0.8872	1.1673	0.6631	0.9002	1.5770	0.2377	0.8627

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	9	1.27317400	0.1414630	1.57	0.1983
ERROR	18	1.62175500	0.090097		
TOTAL	27	2.89492900			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	0.8708	4	VS9
A	0.8186	4	TF
A	0.8084	4	VS1
A	0.6067	4	Cd
A	0.5727	4	TSF
A	0.5150	4	C4
A	0.4577	4	VS7

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 18; MSE = 0.09009; Diferencia Mínima Significativa = 0.7013.

**ANÁLISIS 13. Variable dependiente: FÓSFORO ACUMULADO EN PLANTA
(190 DÍAS).**

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
0.0249	0.0102	0.1052	0.0460	0.0765	0.0880	0.0655
0.0716	0.0584	0.0610	0.0446	0.0134	0.0460	0.0726
0.0179	0.0116	0.0673	0.0129	0.0935	0.0279	0.0918
0.0439	0.0417	0.0357	0.1570	0.0990	0.1064	0.0041

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	9	0.00733000	0.0008144	0.56	0.8090
ERROR	18	0.02601100	0.0014450		
TOTAL	27	0.03334100			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	0.07059	4	VS1
A	0.06780	4	VS9
A	0.06733	4	C4
A	0.00713	4	VS7
A	0.06515	4	Cd1
A	0.05359	4	TF
A	0.03960	4	TSF

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 18; MSE = 0.00144; Diferencia Mínima Significativa = 0.088

**ANÁLISIS 14. Variable dependiente: NITRÓGENO TOTAL EN SUELO
(190 DÍAS).**

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
0.0173	0.0154	0.0112	0.0179	0.0174	0.0176	0.0185
0.0213	0.0177	0.0157	0.0168	0.0246	0.0184	0.0185
0.0151	0.0137	0.0168	0.0157	0.0157	0.0162	0.0168
0.0146	0.0143	0.0179	0.0179	0.0358	0.0184	0.0162

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	9	2.44371429	0.27152381	1.90	0.1171
ERROR	18	2.56675714	0.14259762		
TOTAL	27	5.01047143			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	0.00233	4	VS1
A	0.00176	4	VS7
A	0.00175	4	VS9
A	0.00175	4	Cd
A	0.00170	4	TSF
A	0.00154	4	C4
A	0.00152	4	TF

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 18; MSE = 0.14259; Diferencia Mínima Significativa = 0.8823.

ANÁLISIS 15. Variable dependiente: FÓSFORO TOTAL EN SUELO (190 DÍAS).

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
0.003	0.005	0.006	0.006	0.004	0.005	0.007
0.004	0.006	0.004	0.006	0.006	0.005	0.008
0.003	0.006	0.004	0.008	0.004	0.006	0.006
0.012	0.007	0.008	0.006	0.006	0.007	0.009

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	9	0.00404943	0.00044994	1.09	0.4190
ERROR	18	0.00746199	0.00041456		
TOTAL	27	0.01151142			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	0.04023	4	Cd
A	0.01323	4	VS9
A	0.01280	4	TF
A	0.01245	4	VS7
A	0.01213	4	VS1
A	0.01210	4	C4
A	0.00933	4	TSF

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 18; MSE = 0.00041; Diferencia Mínima Significativa = 0.0476

ANÁLISIS 16. Variable dependiente: CLOROFILA a (190 DÍAS).

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
0.44	0.39	0.44	0.63	0.63	0.57	0.28
0.24	0.29	0.28	0.74	0.59	0.29	0.36
0.25	0.40	0.23	0.43	0.48	0.26	0.39
0.35	0.32	0.33	0.72	0.66	0.38	0.40
0.37	0.35	0.41	0.47	0.65	0.32	0.23
0.23	0.36	0.39	0.47	0.47	0.36	0.32
0.37	0.27	0.60	0.51	0.50	0.43	0.24
0.38	0.27	0.42	0.20	0.63	0.35	0.28
0.42	0.37	0.58	0.46	0.45	0.45	0.40
0.38	0.31	0.55	0.49	0.46	0.37	0.20

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	15	0.63663000	0.04244200	4.52	0.0001
ERROR	54	0.50655429	0.00938063		
TOTAL	69	1.14318429			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	0.55200	10	VS1
A	0.51200	10	Cd
B A	0.42300	10	VS7
B	0.37800	10	TSF
B	0.34300	10	VS1
B	0.33300	10	TF
B	0.31000	10	VS9

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 54; MSE = 0.00938; Diferencia Mínima Significativa = 0.1326

ANÁLISIS 17. Variable dependiente: CLOROFILA b (190 DÍAS).

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
0.31	0.28	0.30	0.38	0.43	0.45	0.21
0.18	0.22	0.21	0.48	0.38	0.31	0.23
0.18	0.33	0.15	0.23	0.33	0.18	0.27
0.29	0.25	0.19	0.45	0.44	0.34	0.30
0.28	0.32	0.27	0.28	0.46	0.21	0.13
0.16	0.26	0.43	0.28	0.31	0.20	0.17
0.26	0.20	0.43	0.35	0.35	0.30	0.15
0.27	0.22	0.23	0.13	0.40	0.30	0.17
0.31	0.25	0.38	0.24	0.31	0.27	0.29
0.27	0.23	0.35	0.30	0.33	0.28	0.09

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	15	0.24023143	0.01601543	2.86	0.0024
ERROR	54	0.30236286	0.00559931		
TOTAL	69	0.54259429			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	0.37400	10	VS1
B A	0.31200	10	Cd
B A C	0.29400	10	C4
B A C	0.28400	10	VS7
B C	0.25600	10	TF
B C	0.25100	10	TSF
C	0.20100	10	VS9

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 54; MSE = 0.00559; Diferencia Mínima Significativa = 0.1025

ANÁLISIS 18. Variable dependiente: CLOROFILA total (190 DÍAS).

TSF	TF	C4	Cd	VS1	VS7	VS9
0.75	0.67	0.74	1.01	1.02	1.02	0.49
0.42	0.51	0.49	0.97	0.60	0.60	0.78
0.43	0.73	0.38	0.81	0.44	0.44	0.10
0.64	0.58	0.52	1.09	0.72	0.72	0.96
0.65	0.67	0.68	1.11	0.52	0.52	0.36
0.39	0.62	0.82	0.78	0.56	0.56	0.49
0.63	0.47	1.03	0.85	0.72	0.72	0.39
0.66	0.49	0.64	1.02	0.66	0.66	0.45
0.73	0.62	0.96	0.77	0.72	0.72	0.69
0.65	0.54	0.90	0.79	0.66	0.66	0.30

Análisis de Varianza

	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	Pr > F
MODELO	15	1.85841286	0.12389419	4.08	0.0001
ERROR	54	1.63896571	0.03035122		
TOTAL	69	3.49737857			

Rango de Tukey

GRUPOS DE TUKEY	MEDIAS	N	TRATAMIENTO
A	0.92500	10	VS1
B A	0.82600	10	Cd
B A C	0.71600	10	C4
B C	0.66200	10	VS7
B C	0.59500	10	TSF
B C	0.59000	10	TF
C	0.50100	10	VS9

$\alpha = 0.05$; grados de libertad = 54; MSE = 0.03035; Diferencia Mínima Significativa = 0.2386