

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS AGRICOLAS
Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas

UNIVERSIDAD DE CIEGO DE AVILA
Facultad de Agronomía

**HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES Y
RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO
VEGETAL: ALTERNATIVAS PARA LA PRODUCCIÓN DE
POSTURAS DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Y
CEBOLLA (*Allium cepa* L.)**

Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas

Aspirante: Ing. Lázaro Eduardo Pulido Delgado

**Tutores: Dr.C. Nicolás L. Medina Basso
Dr.C. J. Adriano Cabrera Rodríguez**

La Habana
2002

Dedicatoria

- *A mi familia, retaguardia imprescindible para alcanzar el éxito*
- *A mi Universidad, quien me sirvió de apoyo en momentos difíciles*
- *Al INCA, y lo digo de todo corazón, al INCA entero*

Agradecimientos

Quizás por mi personalidad, esto, que debió haber sido lo primero, fue lo último y más difícil que pude hacer.

Pocas personas, que se consideren y sientan como personas humildes, podrán, en pocas palabras, agradecer a todos los que les han ayudado.

Este es un trabajo de entrega total, donde mente, corazón y alma tienen que estar consagrados. Nadie, por muy capaz que sea, podrá realizarlo por sí solo, por la envergadura que un trabajo científico como este conlleva.

Muchas personas hicieron posible la realidad de este maravilloso sueño a que todo profesional aspira. Muy poco pudiera haber hecho sin la ayuda, entrega y dedicación del Dr. Adriano Cabrera y el Dr. Nicolás Medina, mis tutores. A ellos, mi eterna gratitud.

Por la idiosincrasia del INCA, reconozco que un líder científico íntegro como el Dr. José Roberto Martín Triana, su Director General, es capaz de aglutinar y guiar a un colectivo con tantas cualidades políticas, humanas y científicas, que me acogió como parte de él; a TODOS, muchas gracias. Aquí desarrollé la parte científica más importante de mi carrera profesional.

Como los que me conocen saben que he criticado, en infinidad de ocasiones, la manida frase de “agradezco a los que de una forma u otra hicieron...”, tengo que reconocer que, no por reiterativa, encierra muchas cosas, pero no quisiera, sin herir a los que me quieren y estimulan, dejar de mencionar algunos nombres, sin los cuales este arduo trabajo no habría salido adelante: Caballero, Adalberto, Marianita, Yamila, Barbarita, Elenita, Ary Fidel, René, Ray, Yury, Ramón Rivera, Walfredo, Miriam Núñez, Soto, Tony, Leyvita, Juan Ramón, Evaldo y su “tropa”, Julio Calvo, María Esther, Brito, Moya, Eduardo, Mirtica, Yolanda, Félix, Annia, Ma. de los Ángeles y al Dpto. de Biofertilizantes del INCA en pleno. A los demás que no menciono, así como a los diferentes departamentos que también forman parte del INCA y aparecen en mi dedicatoria, muchas gracias. A todos los quiero por igual.

Un aporte muy especial y decisivo para mí ha sido la del colectivo de la casa de Postgrado y, dentro de ellos, a Riera, Luperio y Enio, con los que compartí desinteresadamente este largo período de tiempo y de los cuales aprendí que ser hermano no es solamente una razón biológica.

Muchas personas en mi Universidad me han estimulado para no sentirme apartado y olvidado, en especial Mario, Antonio Daquinta, Ramiro, Peña, Felipe, Ma. A. Mesa y Ma. Elena García. A ellos y a los que no mencioné involuntariamente, mi eterno agradecimiento.

Esta parte de “AGRADECIMIENTOS”, ya casi instaurada como “ley” en trabajos de esta índole, no está confeccionada en el mismo orden y secuencia de mis pensamientos, por lo que la posición que tienen dentro del texto, nada tiene que ver con el lugar que ocupan en mi corazón, razón por la cual dejo para el final a mi familia, de la que siempre recibí aliento, comprensión y entrega total, “en las buenas y en las malas”, la que nunca me falló y siempre confió en mi. Para ellos y por ellos, hice, entrego y defendiendo este trabajo científico.

Quisiera, con el mismo amor que expuse lo anterior, expresar también mi gratitud a las diferentes estructuras de la producción agrícola en la provincia de Ciego de Ávila, que me facilitaron la realización de este trabajo. Ojalá que con la introducción de estos modestos resultados ayudemos a paliar la falta de algunos insumos en la agricultura. Especial reconocimiento a Frank Castañeda, José Manuel León, Omelio Guemez y Frank Piñeiro.

*A TODOS, infinitas y nunca suficientemente recompensadoras **GRACIAS.***

“Para cosas grandes y arduas se necesitan combinación sosegada, voluntad decidida, acción vigorosa, cabeza de hielo, corazón de fuego y mano de hierro.”

Jaime Balmes

SÍNTESIS

En el área experimental de la Universidad de Ciego de Ávila, sobre un suelo Ferralítico Rojo compactado y durante las campañas hortícolas 1996-97, 1997-98 y 1999-2000, se evaluaron 4 especies de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV), 5 de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y las combinaciones de cada grupo de microorganismos, prescindiendo de la fertilización mineral, con el objetivo de seleccionar inóculos capaces de proporcionar posturas adecuadas de tomate y cebolla, usando como criterio de selección la altura y la longitud radical. Valorando las campañas 1996-97 y 1997-98 y comparando los tratamientos inoculados con el testigo sin fertilizar ni inocular, las RPCV *A. brasilense*, *A. chroococcum* y *B. cepacia* en tomate, incrementaron la altura entre 61,76 y 78,89 % y la longitud radical entre 68,38 y 91,20 %; en cebolla se destacaron sólo las dos primeras RPCV, logrando incrementos en altura entre 51,14 y 80,86 % y entre 90,78 y 106,34 % para la longitud radical. Con los HMA *G. clarum* y *G. fasciculatum* la altura se incrementó entre 70,54 y 101,36 % para tomate y entre 38,97 y 65,70 % para cebolla, mientras que para la longitud radical los incrementos oscilaron entre 93,44 y 119,74 % y 109,02 y 36,59 % para tomate y cebolla, respectivamente. En la campaña 1997-98 en tomate, las coinoculaciones *G. fasciculatum* + *A. brasilense* y *G. clarum* + *A. brasilense* potenciaron el efecto individual de cada microorganismo sólo para la altura; *G. fasciculatum* + *A. chroococcum* y *G. mosseae* + *A. chroococcum* influyeron de forma positiva sobre la altura pero deprimieron la longitud radical; *G. clarum* + *A. chroococcum* y *G. clarum* + *B. cepacia* no tuvieron efecto; *G. fasciculatum* + *B. cepacia* y *G. mosseae* + *A. brasilense* deprimieron la longitud radical, mientras que *G. mosseae* + *B. cepacia* deprimieron ambos indicadores. En cebolla, con excepción de *G. mosseae* + *A. chroococcum*, las restantes coinoculaciones potenciaron el efecto individual de los microorganismos. En la campaña 1999-2000 no hubo efecto de la coinoculación. Siempre los tratamientos que propiciaron las mayores extracciones de N, P y K, en ambas especies vegetales, estuvieron comprendidos entre los que garantizaron posturas adecuadas y mayor colonización rizosférica. Para tomate los niveles críticos fueron: población de *A. brasilense* = $4,1 \times 10^5$ ufc.g sr⁻¹, colonización radical = 32 % y masa del endófito = 3,2 mg.g⁻¹ s.r.; para la cebolla el nivel crítico de la población de *A. chroococcum* fue $3,9 \times 10^3$ ufc.g sr⁻¹. Posterior al trasplante, los mejores tratamientos inoculados se evaluaron ante 4 niveles de fertilización mineral. En tomate, *B. cepacia*, *A. brasilense* y la coinoculación *G. fasciculatum* + *A. brasilense* con N1 y *G. clarum* + *A. chroococcum*, *G. fasciculatum* + *A. chroococcum* y *G. fasciculatum* + *B. cepacia* con N4 y *G. clarum* + *A. brasilense* con N2, proporcionaron rendimientos similares

a los obtenidos con la fertilización mineral (N4). En cebolla, con todo el aporte de nutrientes (N4), *A. chroococcum* inoculado sólo y en combinación con *G. clarum*, proporcionaron los mayores rendimientos. Los tratamientos inoculados que garantizaron mayor producción de posturas en tomate alcanzaron relaciones Beneficio / Costo superiores al testigo fertilizado; en cebolla, *A. chroococcum*, independiente y combinado con *G. clarum*, también proporcionaron relaciones B/C que superaron a dicho testigo. Los resultados obtenidos demuestran la factibilidad, práctica y económica, de utilizar la inoculación con RPCV y HMA como alternativa nutricional para la producción de posturas adecuadas en tomate y cebolla

I - INTRODUCCIÓN

El tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill.) y la cebolla (*Allium cepa*, L.) están considerados entre las hortalizas más importantes a escala mundial. Las estadísticas de la FAO (2001) muestran su presencia en casi la totalidad de los países, observándose una expansión en el área dedicada a ellos.

Tanto el tomate como la cebolla pueden propagarse por siembra “directa” (mediante semillas) o por “trasplante” (mediante posturas), ocupando este último método la mayor área dedicada a ambas especies vegetales (Cuba. MINAG, 2001). En este caso, las plántulas o posturas se producen tradicionalmente en canteros denominados “semilleros”, debido a que las semillas requieren de cuidados especiales para su germinación y el normal crecimiento de las plántulas, posibilitando el empleo de los mismos un mejor control de la humedad y temperatura del suelo, así como la prevención de enfermedades y plagas (Gómez y col., 2000). Actualmente se utilizan otros sistemas más económicos y productivos, entre los que se destaca el conocido como “cepellón” (Casanova, 1999), requiriendo la generalización de este último, a nivel del país, una alta inversión y la garantía de obtener rendimientos altos y estables en las plantaciones de estos cultivos (Cuba. CITMA, 2000), lo que obliga, por el momento, a seguir perfeccionando la producción de posturas en los semilleros tradicionales. Según datos brindados por la Dirección Provincial de Cultivos Varios en la provincia Ciego de Ávila (Cuba. MINAG, 2001 a) en la campaña hortícola 2000-2001 se sembraron 6 628,14 ha de hortalizas, de las cuales 2 115 ha correspondieron a tomate y 261,69 ha a la cebolla, logrando un rendimiento promedio de 15,67 y 8,67 t.ha⁻¹, respectivamente. Del total de área ocupada por el tomate, el 89,46 % fue cubierta empleando posturas producidas en semilleros tradicionales, mientras que en la cebolla, el 100 % del área fue trasplantada.

La obtención de posturas se realiza empleando fertilizantes minerales, los que si bien es cierto garantizan posturas adecuadas, su uso inapropiado puede afectar negativamente al ambiente, acidificando los suelos, contaminando el manto freático con el lavado de los nitratos así como la atmósfera por liberación de gases nitrogenados (Martínez y col., 1997). Por lo anterior, resulta imprescindible la búsqueda y evaluación de alternativas que satisfagan las necesidades nutrimentales de los cultivos y permitan obtener niveles adecuados de rendimiento y calidad de los productos, posibiliten el ahorro parcial o total de los fertilizantes y

permitan incrementar los procesos biológicos en el suelo como índice de sostenibilidad del proceso agrícola (Altieri, 1997).

Una de estas fuentes alternativas la constituyen los biofertilizantes basados en inoculantes microbianos. Dentro de los microorganismos del suelo que se pueden utilizar como tales están las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) y los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), atribuyéndosele a ambos grupos beneficios tanto para las plantas como para el ecosistema en general.

Entre los principales procesos mediante los cuales las RPCV ejercen su acción benéfica se destacan la fijación biológica del nitrógeno, el incremento en la toma de agua y nutrientes por la planta, la producción de fitohormonas (Velázquez y col., 1999) y el biocontrol de patógenos (Fages, 1994; Hernández y col., 1995; Srivastava y col., 2001). Con relación a los HMA se señala que, al establecer simbiosis con las plantas, modifican la fisiología y exudación radical, trayendo consigo cambios en la población microbiana de la rizosfera, conectando los componentes bióticos del suelo entre sí y con los abióticos (Bethlenfalvay y Liderman, 1992) y, por su abundante micelio intra y extraradical, contribuyen a mejorar la nutrición de la planta al facilitar los procesos de absorción y translocación de nutrientes mediante la exploración de un mayor volumen de suelo en comparación con la raíz no micorrizada. Se señala, además, que la simbiosis también favorece la absorción de agua y la protección contra patógenos del suelo (Koide, 1991; Marschner y Dell, 1995).

Reviste actualidad la aplicación conjunta o coinoculación con rizobacterias y hongos micorrízicos, partiendo de que las inoculaciones mixtas pueden crear interacciones sinérgicas a nivel de rizosfera entre los microorganismos biofertilizantes. En tal sentido, Siqueira y Franco (1988) refieren que los HMA favorecen la proliferación de microorganismos productores de antibióticos y fitohormonas, fijadores de nitrógeno, solubilizadores y mineralizadores de nutrientes e, incluso, de aquellos que se involucran en los procesos de agregación y estabilidad de los suelos. Adicionalmente, mediante la red del micelio externo, pueden traslocar de forma más efectiva los productos de la actividad de las rizobacterias en la rizosfera de las plantas.

En los últimos años ha tomado auge a nivel mundial, y también en Cuba, tanto por razones económicas como ecológicas, el empleo de estas fuentes alternativas en varias especies de plantas (Sieverding, 1991; Bashan, 1993; Rivera, 2000; Ruiz, 2001), correspondiéndole a las hortalizas un lugar cimero

(Dibut, 2000; Ramírez, 2001), destacándose su uso en la producción de posturas en semilleros hortícolas. Trabajos desarrollados por Martínez y col. (1992; 1995) en diferentes cultivos hortícolas, dentro de los que se incluyen el tomate y la cebolla, lograron sustituir cantidades considerables de portadores minerales (entre 15 y 50 % de las aplicaciones de nitrógeno), incrementando la germinación de las semillas y acortando el período de semillero, al inocular diferentes cepas de *A. chroococcum*. Salazar (1996) logró incrementos en la producción de bulbillos de cebolla con la combinación de HMA y *Pseudomonas* sp, disminuyendo las cantidades de fertilizantes minerales con el uso de estos microorganismos. En este mismo cultivo, Dibut y col., (1992) y Dibut, (2000) encontraron incrementos en el porcentaje de germinación y en los rendimientos con posturas inoculadas con *A. chroococcum* en el semillero. Por su parte, Llonín (1998), Hernández (2000) y Ramírez (2001) en tomate y en presencia de cantidades variables de nutrientes primarios y con la aplicación de HMA y RPCV de los géneros *Azospirillum*, *Azotobacter* y *Burkholderia*, lograron efectos positivos sobre el crecimiento y desarrollo de las posturas y la sustitución de diferentes cantidades de estos nutrientes, con la inoculación simple o combinada de ambos grupos de microorganismos.

En todos los resultados científicos antes referidos, la respuesta de las especies hortícolas estudiadas ante los microorganismos inoculados, varió en dependencia de la especie vegetal, condiciones edafoclimáticas, disponibilidad de nutrientes del suelo y especie de microorganismo utilizado.

Teniendo en cuenta la necesidad de emplear alternativas que permitan lograr una mayor eficiencia en los procesos productivos, hacer un uso racional de los fertilizantes minerales con un adecuado equilibrio ambiental, unido a la necesidad de desarrollar estudios sobre el comportamiento en el ecosistema de los microorganismos utilizados como inoculantes, se desarrolló el presente estudio, partiendo de la HIPOTESIS:

"La producción de posturas de tomate y cebolla resulta factible a partir de la inoculación simple o combinada de sus semillas con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal y hongos micorrízicos arbusculares, prescindiendo del empleo de fertilizantes minerales".

En base a la hipótesis planteada se ejecutó un conjunto de investigaciones dirigido a alcanzar los siguientes objetivos:

❖ Seleccionar y proponer el uso de especies eficientes de HMA y RPCV, tanto individualmente como en combinaciones, para obtener posturas de tomate y cebolla, sin la aplicación de fertilizantes minerales, en las condiciones de suelos Ferralíticos Rojos compactados de la provincia Ciego de Ávila.

❖ Evaluar los efectos de la inoculación simple y combinada con estos microorganismos sobre algunos índices de crecimiento, colonización radical, y extracción de nutrientes en plántulas de dichas especies hortícolas en la etapa de semillero.

❖ Determinar, con posterioridad al trasplante, el comportamiento productivo del tomate y la cebolla previamente inoculados con HMA y RPCV y la factibilidad práctica y económica de disminuir las dosis de fertilizantes nitrogenados y fosfóricos a aplicar en esta etapa.

II - REVISION DE LA LITERATURA

2.1 - Características de los cultivos hortícolas.

2.1.1 – Generalidades.

Las hortalizas son de gran importancia para la dieta humana. Participan en la neutralización de sustancias ácidas producidas durante el proceso de digestión de carnes, quesos y otros alimentos, así como son fuentes de elementos minerales que el cuerpo necesita, especialmente de calcio y hierro; son proveedoras de vitaminas como A, C y B₁, entre otras. El restante valor nutritivo que se encuentra en las hortalizas es derivado de proteínas, grasas y carbohidratos, aunque, en sentido general, sus contenidos de calorías y grasas son bajos.

Tomate. El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es una solanácea oriunda de regiones tropicales de América. Es una planta perenne de porte arbustivo que se cultiva como anual. La planta puede desarrollarse de forma rastrera, semierecta 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 (Nuez, 1995). El fruto es una baya de forma globular, ovoide o aplastada, cuya masa oscila, según variedades, entre 5 y 500 g. Cuando la planta crece directamente de la semilla, sin sufrir trasplante, desarrolla una potente raíz principal que le permite adaptarse a ecosistemas semidesérticos, pero cuando la raíz principal se daña, por ejemplo a consecuencia del trasplante, se desarrolla un sistema de raíces laterales adventicias. La producción mundial actual supera los 100 millones de toneladas al año (FAO, 2001).

En Cuba el tomate constituye la principal hortaliza, tanto por la superficie que ocupa (36 % de las áreas destinadas al cultivo de hortalizas) como por su producción. Su alta demanda está dada no sólo por sus propiedades nutritivas sino, también, por el buen sabor que le imparte a las diferentes especialidades de la cocina cubana. La producción de este cultivo, además de destinarse al consumo fresco de la población, constituye una de las materias primas de la industria conservera (Cuba. MINAG, 1997).

Las plantaciones de tomate en todo el país, en la campaña hortícola 2000-2001, ocuparon un área de 24 679,38 ha , con un rendimiento medio nacional de 15,6 t.ha⁻¹. Ese mismo año, en la provincia Ciego de Ávila el rendimiento medio fue de 15,67 t.ha⁻¹, destinándosele 2 115 ha (Piñeiro, 2001).

Cebolla. La cebolla (*Allium cepa* L.) pertenece a la familia *Alliaceae* y se considera originaria de Asia. Es una especie herbácea bienal o perenne en estado

natural y anual bajo cultivo. Las plantas son altas, con hojas de ligera a notablemente aplanadas en la cara superior, compuestas por vaina y limbo. Las tunicas, cilíndricas y ensanchadas, se superponen y forman el "falso tallo" que, posteriormente, da lugar al bulbo por acumulación de sustancias de reserva. El tallo o "plato" es corto (0,5 - 1,5 cm de alto y 1,5 - 2,0 cm de ancho) y de él surgen yemas, hojas, raíces adventicias y, en algunos casos, las yemas vegetativas, que prolongan la vida de la planta.

Existen tres grupos de cebolla: la común (*A. cepa* L.) que responde a la descripción anterior; la multiplicadora (*A. cepa* var. *Multiplicans*, *A. cepa* var. *Solanium* y *A. agregatum*) con partes aéreas semejantes a la común pero con rara floración, bulbos que contienen dos o más corazones y que forman varios bulbos agrupados en plantón y la arbórea (*A. cepa* var. *Proliferum*, *A. cepa* var. *Viviparum*, *A. cepa* var. *Canadiense*), que no produce bulbos subterráneos desarrollados, sino que forma bulbillos en la inflorescencia, los que sirven como material de propagación.

La producción mundial de cebolla se ubica en 51,9 millones de toneladas al año (FAO, 2001), siendo el rendimiento medio nacional en el año 2000 de 14,57 t.ha⁻¹, ocupando un área de 2 433,04 ha, mientras que, en ese mismo año, en la provincia Ciego de Ávila se obtuvo un rendimiento medio de 8,67 t.ha⁻¹, destinándosele 261,69 ha (Piñeiro, 2001).

La composición química, en sentido general, de estas dos especies hortícolas se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1 - Composición química de los frutos de tomate y cebolla (crudas) en 100 g de partes comestibles utilizadas para alimentación.

Espe cie	Carbohidratos (g)	Proteína s (g)	Lípidos (g)	Fibra (g)	Acido ascórbic o (mg)	Niacina (mg)	Riboflavina (mg)
Tomate	4,7	1,1	0,2	0,5	23	0,7	40
Cebolla	8,7	1,5	0,1	0,6	10	0,2	40

Fuente: Cobbe (1983), citado por Menezes Dos Santos (1992).

2.1.2 - Sistema radical de los cultivos hortícolas.

Conocer y dominar los aspectos que influyen en el grado de evolución del sistema radical de las plantas cultivadas, en cada fase de desarrollo de las mismas, es de vital importancia pues éste determina la capacidad de sostén y

alimentación que dichas plantas tendrán; de ahí que se debe pensar, independientemente de las ventajas y/o desventajas que se le atribuyen a cada método de propagación, en garantizar la obtención de un sistema radical sano y vigoroso, ya que el mismo influirá en la vida de esa plantación.

Las funciones principales que realiza el sistema radical de las plantas son, entre otras, las de absorción de agua y elementos nutrientes para su transporte a las partes aéreas, la producción de fitohormonas, la acumulación de materiales de reserva y el sostén o soporte de la planta en el suelo y es el nicho donde viven, en la rizosfera, la mayoría de las poblaciones microbianas que participan en la transformación y suministro de nutrientes, por lo que resulta necesario garantizarle a las raíces condiciones favorables en el suelo sobre el cual se desarrollarán, mencionándose, entre otras, la facilidad para su penetración, profundidad adecuada, así como valores óptimos de humedad, aireación, temperatura y fertilidad del mismo.

La morfología y el esquema de distribución de las raíces son características propias de cada especie vegetal. Sin embargo, el desarrollo de las mismas está supeditado hasta tal punto a las condiciones del medio, es decir, al estado de compactación del suelo, que dicho sistema puede llegar a adoptar una distribución totalmente diferente a la típica de una especie determinada (Domínguez, 1989).

La distribución del sistema radical puede adoptar dos tendencias diferentes: horizontal o vertical. En el primer caso se obtiene un sistema radical de tipo extensivo, fasciculado, de gran proliferación y desarrollo superficial (ejemplo de esto es la familia *Liliaceae*); en el segundo caso, se crea un sistema radical pivotante en profundidad y variable en el desarrollo horizontal (ejemplo de esto es la familia *Solanaceae*), lo que puede esto depender de la estructura del suelo, ya que esta propiedad determina la aireación y la humedad del suelo.

Por otra parte, la estructura del suelo tiene un efecto directo sobre la resistencia física que se opone a la penetración de las raíces. De igual forma, el sistema radical es capaz de modificar las condiciones físicas de los suelos, así como puede crear en la rizosfera condiciones localizadas muy diferentes a las generales en la masa del suelo, tales como cambios en el pH, mayor cantidad de oxígeno, excreción de sustancias orgánicas, aumento en la capacidad de quelación de elementos y reducción de los mismos. También las raíces excretan al suelo sustancias orgánicas, tanto en las zonas apicales como en la superficie radical, que estimulan el desarrollo de los microorganismos y aumentan la estabilidad estructural del suelo. Todo lo anterior determina que el desarrollo

radical sea resultado de un equilibrio entre raíces nuevas, viejas y muertas; por eso, en condiciones de estrés hídrico, se producen pérdidas de raíces finas causando una disminución considerable de la longitud y densidad radical (Gavito de Oliveira y Martín, 1993).

La longitud del sistema radical tiene efectos directos sobre la tasa de absorción de nutrientes del suelo; por lo tanto, mientras menos desarrollado esté el sistema radical de una especie y menor sea su capacidad de absorción, tanto mayor será su exigencia al balance nutricional.

El sistema radical del tomate es pivotante, con una raíz principal y un amplio sistema de raíces adventicias. Aunque las raíces no profundizan mucho en el suelo, la raíz principal puede penetrar hasta 120 cm, aunque Huerres y Caraballo (1988) son del criterio que alcanzan una profundidad entre 70 y 80 cm y coinciden en que el mayor volumen de raíces se sitúa entre los 5 y 40 cm de profundidad; por su parte, el de la cebolla es limitado, con pobre capacidad de absorción y las raíces adventicias no alcanzan una profundidad mayor de 40 cm, exigiendo alta humedad del suelo en las etapas de germinación y formación del follaje, mientras que para la maduración del bulbo esta debe ser baja.

2.1.3 - Métodos de siembra y plantación empleados en el cultivo de tomate y cebolla.

Estas especies hortícolas, en sentido general, pueden propagarse por siembra directa (mediante semillas) o por trasplante (con la utilización de posturas producidas en semilleros “a raíz desnuda” o en “cepellones”), decidiendo el productor por una u otra variante en dependencia de diferentes criterios y condiciones propias del lugar, que van desde la especie a establecer, la época de siembra y el tipo de suelo, hasta facilidades económicas, entre otras, argumentándole a uno u otro método ventajas y desventajas que más adelante se señalarán; de ahí que los criterios sean diversos entre los especialistas.

Menezes dos Santos (1992), al referirse a los métodos de plantación, señala que estos dependen de la interrelación entre el tamaño del área cultivada, el tipo de equipo disponible y el destino de la producción (industria o mercado fresco), señalando que, en el caso del tomate fresco para mercado, la plantación se realiza casi en su totalidad a través de trasplante, representando menor gasto de semilla (250 a 300 g.ha⁻¹) pero requiere más mano de obra durante la preparación de los almácigos (“semilleros”), pudiendo establecer éstos en canteros o en bandejas de “isopor” bajo túneles plásticos. Las mudas (posturas)

son llevadas al campo con 4 - 5 hojas, aproximadamente a los 25 días después de la siembra. Este autor plantea otro método de obtención de posturas mediante la siembra en "vasitos de papel", llenos con un sustrato artificial mezclando tierra y abono orgánico. Se le atribuyen ventajas como la de no causar daño a las mudas en el momento del trasplante, disminución de la transmisión de enfermedades desde el suelo y entre las plantas del almácigo, evitar la destrucción de raíces durante el repique y raleo y no interrupción del crecimiento de las mudas debido al estrés causado por la operación de trasplante.

Al comparar los sistemas de plantación, Rodríguez del Rincón (1995) les atribuye ventajas e inconvenientes a cada uno de ellos, destacando que la siembra directa es un sistema más fácil de mecanizar porque con ella se obtiene una mayor uniformidad de cultivo, debido a que el material del que parte, la semilla, es mucho más uniforme que las plantas, las que presentan un grado de variabilidad elevado, derivado de la localización de cada una dentro del semillero. Este mismo autor refiere que en el cultivo extensivo, el trasplante con cepellón no presenta ventajas importantes frente al trasplante a raíz desnuda, de modo que sólo se justifica su empleo por el mayor aprovechamiento de la semilla en el semillero cuando se utiliza semilla de alto costo. El sistema más común de producción de posturas en España es el de almácigo (canteros) de 1 m de ancho elevados 20 a 25 cm del suelo, produciendo cerca de 300 posturas por m².

El Informe Final de la campaña hortícola 2000-2001 (Cuba. MINAG, 2001), al centrar la atención en el cultivo del tomate y referirse a las distintas modalidades de producción de posturas, plantea que la producción de estas, en semilleros "a raíz desnuda", continuó siendo más del 95 % del total que se produjo (el tomate ocupó 24 679,38 ha a nivel nacional), augurando que la tendencia para los próximos años sería a disminuir, motivado fundamentalmente por el ahorro de semillas con la producción de posturas en cepellones, la obtención de posturas libres de plagas y enfermedades y el porcentaje de supervivencia después del trasplante, superior al 95 %. La variedad Roma VF P/73 ocupó el 16 % de las áreas sembradas en la campaña 1998-1999 (penúltimo año en que se sembró al ser severamente atacada por el geminivirus), logrando un rendimiento promedio de 11,04 t.ha⁻¹ (Piñeiro, 2001). Según esta misma fuente, la cebolla en la campaña 2000-2001 ocupó un área de 3 7039,92 ha, con un rendimiento medio nacional de 15,26 t.ha⁻¹, mientras que, en la provincia Ciego de Ávila, el rendimiento medio fue de 8,76 t.ha⁻¹.

Según datos proporcionados por el Grupo Nacional de Cultivos Varios (Piñeiro, 2001) la tendencia es ir a la reducción de las siembras directas en las empresas estatales por problemas económicos (costo de la semillas y eficiencia en la utilización de las mismas, entendido como número de plantas logradas por metro lineal) y la incidencia de enfermedades. La producción de las posturas se logra en semilleros tradicionales y, más recientemente, con cepellones.

El Ministerio de Agricultura de Cuba promueve en varias provincias, desde el año 1994, la producción protegida de hortalizas, la cual contempla el trasplante en cepellones, teniendo en cuenta las ventajas que presenta dicha tecnología en cuanto a maximizar el ahorro de semilla de híbridos costosos, reducción de pérdidas en el trasplante, mayor calidad agronómica de las posturas, seguridad en el cumplimiento de los plazos de producción, mayor uniformidad y precocidad de la producción y obtención de mayor número de posturas por superficie / año (Casanova y González, 1999).

Para el cultivo del tomate se establece en la Guía Técnica (Cuba. MINAG, 2001a) que se pueden utilizar dos métodos clásicos de multiplicación: el trasplante y la siembra directa y, ante la problemática afectación de mosca blanca-geminivirus, una de las estrategias de control es el empleo de trasplante teniendo en cuenta que el período crítico del cultivo ante esta enfermedad es de 7 semanas, de las cuales las 4 primeras pueden transcurrir en el semillero con todas las medidas preventivas, quedando prohibida, por las razones anteriores, la siembra directa. En el mismo documento se recomienda la siembra en hileras separadas a 10 - 15 cm lo que permite hasta 5 hileras sobre la superficie del cantero (100 - 110 cm de ancho), donde la densidad de siembra del semillero oscila entre 60 y 90 semillas por metro lineal ó 1,2 - 2 g.m², en dependencia del suelo, período de siembra y otros factores.

Sin embargo, en la Guía Técnica para la producción de cebolla (Cuba. MINAG, 2001b) se plantea que, por ser la cebolla alógama, autocompatible y multiplicarse por semillas o bulbos, los métodos de siembra a emplear pueden ser la siembra directa, el trasplante y los bulbitos o bulbillos. Al comparar los métodos de siembra y/o plantación, en el propio documento se manifiesta que la siembra directa tiene como ventajas eliminar la labor de semillero y trasplante con ahorro de fuerza de trabajo, permite lograr altas poblaciones y, además, reduce el tiempo semilla – cosecha, pues en el trasplante la postura, al tener una "parada" fisiológica, pierde alrededor de un mes en su adaptación al nuevo medio. Este método de siembra requiere condiciones especiales en cuanto a la calidad de la

preparación del suelo, topografía adecuada, buena nivelación, sembradoras de precisión, empleo de herbicidas y estricta disciplina tecnológica.

2.1.4 - Particularidades en la nutrición del tomate y la cebolla.

Para obtener rendimientos económicos en los cultivos hortícolas es necesario conjugar las dosis de nutrientes más adecuadas con el mejor momento de su aplicación. Esto se puede lograr conociendo los diferentes períodos de absorción de estos por las plantas, la función de los mismos y la extracción que realizan las plantas de dichos elementos.

El N es el elemento de efectos más rápidos; forma parte de múltiples compuestos como las proteínas y las enzimas, lo que favorece el rápido desarrollo de los tejidos y órganos de la planta al estimular el desarrollo de hojas y tallos, así como interviene en la formación de la clorofila e influye en la asimilación de los hidratos de carbono (Marschner, 1995).

El P participa en la composición de compuestos vitales para las plantas como los ácidos nucleicos y el ATP. Este elemento toma parte en la composición de los núcleos celulares, los cromosomas, el plasma celular y las enzimas (Domínguez, 1989), por lo que juega un papel importante en la formación y crecimiento del sistema radical y su presencia es indispensable para la fecundación de las flores; tiende a adelantar la madurez de los frutos, interviene en una mejor calidad de la producción (frutos, raíces carnosas y hojas) y en el incremento de las posibilidades de almacenamiento de los productos hortícolas.

Además, este nutriente regula los efectos derivados de la presencia de un exceso de nitrógeno. Por este motivo, Giaconi y Escaff (1993), plantean que el uso de altas dosis de fertilizantes nitrogenados debe realizarse paralelamente con la incorporación de suficientes cantidades de fósforo.

El K no entra en la composición de ninguno de los constituyentes de las plantas relacionados con el metabolismo, como las proteínas, la clorofila, las grasas y los carbohidratos. Se destaca entre los demás elementos por su movilidad y solubilidad dentro de los tejidos, propiedades que explican sin dudas la rapidez con que puede ser reutilizado por los tejidos cuando es deficiente (Yagodin, 1986).

Domínguez (1989), plantea que el potasio ejerce una función importante como osmorregulador disuelto en el jugo celular y que su acumulación en la raíz crea un gradiente osmótico que permite el movimiento del agua en la planta, por lo que es notable su efecto sobre la resistencia de las plantas a la sequía, actuando

como elemento regulador de la actividad de los estomas para reducir la transpiración y mejorar la utilización del agua. Este elemento es indispensable para la formación de los carbohidratos pues, de forma directa, favorece el proceso fotosintético y tiene un papel activo en el transporte de las sustancias formadas en dicha reacción (Maroto, 1995).

Según este mismo autor, en varios cultivos hortícolas, aprovechables por sus frutos, la fertilización potásica se asocia con la calidad de estos por la consistencia que induce. En otras hortalizas, cuya parte comestible está constituida por raíces y tubérculos, es tomado en altas proporciones como elemento fundamental para la acumulación de sustancias de reserva (Giacconi y Escaff, 1993).

Al estudiar las variaciones en el tiempo que siguen las concentraciones de nitrógeno, fósforo y potasio en plantas de tomate cultivadas en primavera, Maestrey y col. (1987), encontraron que la concentración de P y K en los órganos vegetativos tiene una tendencia a disminuir a medida que el ciclo del cultivo transcurre, lo que es menos marcado para el nitrógeno, posiblemente por la participación de éste en compuestos estructurales de las plantas. El órgano con mayor concentración de los tres elementos fue el fruto y le siguieron, en orden decreciente, las hojas, el tallo y las raíces.

El tomate es considerado como un cultivo de alta demanda de fertilización mineral, la que se encuentra en el orden de 120 - 200 kg de N.ha⁻¹, 140 - 160 kg de P₂O₅.ha⁻¹ y 100 - 225 kg de K₂O.ha⁻¹, de acuerdo al tipo de suelo y al rendimiento esperado (Maestrey, 1986). Esta autora recomendó, para suelos Ferralíticos Rojos con contenidos de 15 - 30 mg. 100 g⁻¹ de P₂O₅ y más de 26 mg.100 g⁻¹ de K₂O, la dosis de 50 kg.ha⁻¹ de N, 30 kg.ha⁻¹ de P₂O₅ y 50 kg.ha⁻¹ de K₂O. Según International Fertilizer Industry Association (IFA, 1999), para formar 24 t de frutos, el tomate requiere de 177, 46 y 319 kg de N, P₂O₅ y K₂O, respectivamente.

Por medio del análisis foliar de plantas de cebolla, realizado con una periodicidad decenal entre un muestreo y otro, Rodríguez y col. (1994), pudieron determinar las curvas de formación de masa seca y las extracciones de N, P₂O₅ y K₂O. Los resultados mostraron que, en el período comprendido entre el inicio del engrosamiento del bulbo y la cosecha, se extrae alrededor del 85 % del N y del P₂O₅ y el 80 % de K₂O. Lo anterior explica la importancia que tiene el conocimiento de la fase de mayor extracción para establecer una correcta nutrición de las plantas. Cualquier deficiencia en este período puede provocar afectaciones importantes de los rendimientos. De acuerdo a International Fertilizer

Industry Association (IFA, 1999), para formar 41 t de bulbos la cebolla requiere de 102, 41 y 112 kg de N, P₂O₅ y K₂O, respectivamente.

Según se establece en la Guía Técnica para la producción de tomate (Cuba.MINAG, 2001a), para la fase de semillero se indica la aplicación de 3 - 4 kg de materia orgánica bien descompuesta y la adición de 70 – 100 g.m² de fertilizante mineral de fórmula completa (en los últimos años se ha empleado 9-13-17) en la proporción 1:2:1.

Las exigencias de fertilización para la cebolla también varían en dependencia del tipo de suelo, época de siembra, variedades, entre otros factores, tomándose como base para determinar las dosis las disponibilidades de P₂O₅ y K₂O del suelo, recomendándose para suelos Ferralíticos Rojos 100, 50 y 75 kg.ha⁻¹ de N, P₂O₅ y K₂O, respectivamente. No obstante, diferentes autores plantean rangos entre 60 – 300, 35 – 225 y 35 - 300 kg.ha⁻¹ de N, P₂O₅ y K₂O, respectivamente, fraccionando la misma en dos o tres aplicaciones, en dependencia del tipo de siembra, sugiriendo para los trasplantes dos aplicaciones: en la siembra y 25-30 días después de ésta (Cuba.MINAG, 2001 b).

2.2 – La biofertilización como alternativa nutricional.

2.2.1 – Principios y fundamentos.

El uso indiscriminado de productos agroquímicos y otras sustancias en la actividad agrícola, con la supuesta finalidad de mejorar la productividad y la calidad de la producción, puede generar serios desequilibrios en los ecosistemas por la contaminación del suelo, del agua, del aire y los alimentos, lo cual pone en peligro la salud humana (Peña y Torres, 1992). Lo anterior promueve la necesidad de buscar y evaluar fuentes alternativas de fertilización que satisfagan las necesidades nutrimentales de los cultivos. Una variante para beneficiar los cultivos, sin causar daño ecológico, es el empleo de microorganismos que se asocian a las plantas o a su entorno, muchos de los cuales se encuentran, naturalmente, formando parte del sistema radical o del suelo (Viñals y Villar, 1999).

Las tendencias que se esperan en las complejas interrelaciones entre la agricultura y el medio ambiente a nivel mundial se enmarcan en una demanda creciente de alimentos, con una mayor presión sobre el medio ambiente, en general, y sobre el suelo y el agua, en particular, unido a una mayor preocupación y exigencia de los consumidores por la seguridad alimentaria y la limpieza medioambiental del proceso productivo y de mercado (Cuba. CITMA, 2000).

Entre las alternativas posibles, propuestas contra tal situación, está la biofertilización, constituyendo una tecnología racional, que responde a la Agenda 21 de la Conferencia sobre Medio Ambiente y Desarrollo, firmada en Río de Janeiro en junio de 1992 (Mesa y col., 1995) y da cumplimiento a algunos postulados de su Capítulo 3, entre los cuales están:

- encontrar sustitutos o mejoras ecológicamente racionales de los procesos de producción que son nocivos para el medio ambiente.
- elaborar aplicaciones para reducir al mínimo la necesidad de insumos químicos sintéticos insostenibles y para utilizar al máximo productos ecológicamente adecuados incluidos los naturales.
- elaborar nuevas tecnologías para la selección rápida de organismos que puedan tener propiedades biológicamente útiles.

Martínez (1994) plantea que los biofertilizantes incluyen a todos los recursos biológicos que ayuden o estimulen el desarrollo de los cultivos agrícolas mediante transformaciones de elementos o compuestos que se encuentran en formas no aprovechables, de manera que se conviertan en formas que puedan ser utilizadas mediante la acción de los microorganismos o de asociaciones microorganismos-plantas.

De esta forma, el mismo autor plantea adoptar una estrategia de suministro de nutrientes a las plantas mediante una combinación de fertilizantes minerales con abonos orgánicos y biofertilizantes, poniendo énfasis en estos últimos por su bajo costo. También manifiesta que la productividad agrícola en estas últimas cuatro décadas ha ido acompañada del consumo de formas no renovables de energía, las cuales se han convertido en el principal factor limitante para la elevación futura de la productividad agrícola.

Desde 1972, con la fundación de IFOAM (International Federation of Organic Agriculture Movements), se estableció que la agricultura orgánica debía aumentar la fertilidad de los suelos y su actividad microbiana e incrementar el reciclaje de los nutrimentos. En la década de los 90, los biofertilizantes se convirtieron en un punto común de investigación teniendo en cuenta los serios problemas ambientales causados con la aplicación irracional de los fertilizantes químicos (IFOAM, 1998).

Se consideran tres grupos de microorganismos beneficiosos para las plantas. El primero está constituido por aquellos que pueden incrementar el suplemento a la planta de nutrientes minerales esenciales para el crecimiento, tales como nitrógeno y fósforo y son los microorganismos del suelo responsables directos de la biofertilización. El segundo comprende aquellos microorganismos

que estimulan el crecimiento de las plantas de forma indirecta mediante la prevención del crecimiento o acción de organismos patógenos a las plantas. Esta forma de prevención de enfermedades es algunas veces llamada biocontrol. El tercero incluye a aquellos microorganismos que son responsables directamente de estimular el crecimiento de las plantas, por ejemplo por la producción de fitohormonas en la rizosfera. Las investigaciones de esta forma de promoción de crecimiento ha comenzado recientemente y ofrece múltiples oportunidades, destacándose el incremento de la velocidad de germinación de la semilla, aspecto que es especialmente importante en áreas con cortos períodos para el crecimiento vegetal.

Desde el punto de vista ecológico, la utilización y/o aplicación correcta de estos microorganismos permite reducir el uso de energía, la degradación del agroecosistema y las pérdidas de nutrientes. En adición, se mantiene la capacidad productiva del sistema, se preservan la biodiversidad y se contribuye con una producción más estable y sostenida a largo plazo en equilibrio con el entorno (Hernández, 2000).

El uso cada vez mayor de microorganismos edáficos en la agricultura constituye una alternativa promisorio frente a los fertilizantes minerales (Corbera y Nápoles, 2000). Una de estas fuentes alternativas la constituyen los inoculantes microbianos a partir de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) y de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA).

La actividad de todos los microorganismos considerados como biofertilizantes se enmarca, fundamentalmente, en la rizosfera, "esfera" de influencia de la raíz, la cual es una zona de dimensiones variables que contiene una población de microorganismos que se desarrollan dentro y fuera de las raíces de las plantas. Bajo condiciones normales de crecimiento, la actividad rizosférica existe a causa de la liberación continua de metabolitos proporcionados por las plantas, que son rápidamente utilizados como sustrato por los microorganismos.

Lynch (1992), propone la división de la rizosfera en "endorrizosfera" y "ectorrizosfera", definiendo, además, el término "espermosfera" como la zona que rodea la semilla en estado de germinación y donde los microorganismos desarrollan una intensa actividad que afecta el futuro desarrollo de la planta, manejándose a partir de los últimos años que, en esta fase, es donde realmente comienza la actividad rizosférica.

En la zona rizosférica la microbiota se modifica profundamente por la influencia de exudados radicales y el aporte de restos de tejidos, mientras que los

microorganismos ponen a disposición de la planta moléculas orgánicas absorbibles por las raíces y mejoran su nutrición solubilizando o mineralizando sustancias orgánicas. Además, dichos microorganismos provocan incrementos en los ritmos de exudación (Arines y col., 1992).

García (1996), señala, además, que todas estas interacciones entre las plantas y los microorganismos en el ámbito de las raíces están gobernadas por las condiciones del ambiente, por la naturaleza, estado fisiológico y vigor de la planta en desarrollo, por las características del suelo, su régimen hídrico y por el manejo agronómico a que se someta la planta.

Todas las especies de plantas exudan sustancias específicas. En la rizosfera se forma una especial biocenosis, en la cual se originan complicadas interacciones, pudiendo un grupo determinado o un microorganismo dado ver estimulado su crecimiento. Por otra parte, los microorganismos no siempre encuentran aquí condiciones igualmente favorables para su desarrollo, por lo que existen diferencias no sólo cuantitativas, sino también cualitativas entre una y otra población microbiana rizosférica (Marschner, 1995).

2.2.2 - Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV).

El término rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (cuyas siglas en idioma inglés son PGPR, pero que en nuestro trabajo se les denominará por sus siglas en idioma español, es decir, RPCV) es empleado para describir a las bacterias que habitan la rizosfera de las plantas y que pueden tener un efecto positivo sobre los cultivos (Dileep y Dubet, 1992). Por su parte, Schrot y Hancock (1982), definen como "rizobacterias" a todas las bacterias que poseen la aptitud de colonizar las raíces de las plantas de forma muy intensa. Este efecto puede ser directo sobre el crecimiento de las plantas a través de la promoción del mismo o indirecto manifestado por la influencia que causan en el medio ambiente de la rizosfera (Bashan y col., 1996).

La selección de las RPCV abarca diferentes criterios que van desde su largo período de existencia en la rizosfera posterior a su inoculación (característica que les confiere facilidad competitiva con la microflora nativa), su habilidad para colonizar eficientemente las raíces (Weller y col., 1995), su metabolismo versátil (utilizando varios sustratos liberados por las raíces), su corto tiempo de generación que facilita su rápida multiplicación (Bashan y Levanony, 1990), hasta su motilidad y respuesta a factores quimiotácticos .

En esta clasificación se incluyen varios grupos bacterianos, encontrándose entre ellos los géneros *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas* (Kapulnik, 1991) y *Azospirillum* (Bashan, 1993; Bacilio-Jiménez y col., 2001).

La posibilidad de utilizar microorganismos del suelo, que favorezcan la nutrición y desarrollo de las plantas, ofrece nuevas alternativas para incrementar el rendimiento y mejorar la eficiencia de utilización de los fertilizantes minerales. Algunos de estos organismos se vinculan con la fijación biológica de nitrógeno e incorporan al suelo cantidades variables de nitrógeno.

Género *Azospirillum*. Se ha demostrado que las bacterias pertenecientes a este género son promisorias como inoculantes para las plantas. Las mismas poseen características que le permite sobrevivir y establecerse ellas mismas en el extremadamente complejo medio competitivo de la rizosfera (Pazos y Hernández, 1999). Además, las cepas de *Azospirillum* son muy versátiles en su utilización de fuentes de carbono y nitrógeno; ellas crecen perfectamente en ácidos orgánicos tales como malato y succinato, los cuales están presentes en los exudados de las raíces. Como fuente de nitrógeno, ellas pueden usar amonio o nitrato y en condiciones microaeróbicas pueden fijar nitrógeno atmosférico (Pazos, 2000).

Los efectos obtenidos en los cultivos por la inoculación de este microorganismo parecen ser dependientes del tipo de planta hospedera, de la cepa de *Azospirillum* usada y de las condiciones del medio ambiente (Okon y Labandera-González, 1994); estos autores llamaron a la toma de nitrato, fosfato y potasio por las plantas, como "efecto esponja de una inoculación de *Azospirillum*".

Este microorganismo produce una asociación bacteria-raíz capaz de estimular la producción de sustancias estimuladoras del crecimiento, incrementándose el número de pelos radicales y generando con ello una mayor superficie radical y mejor disponibilidad de agua y nutrientes, debido a que las raíces pueden explorar un volumen mayor de suelo (Pazos, 2000).

La colonización de las raíces es el factor clave en el éxito de la interacción de las plantas con *Azospirillum*. Las especies de este género son conocidas por colonizar las superficies de las raíces de algunas especies de plantas (Bashan y Levanony, 1990), así como la corteza interior de las mismas. Generalmente, las células de *Azospirillum* pueden ser encontradas en cualquier lugar a lo largo de los sistemas de raíces inoculadas, pero ellas están concentradas principalmente en la zona de elongación y en los pelos radicales.

Los efectos más marcados de las bacterias pertenecientes a este género bacteriano están relacionados con los cambios morfológicos provocados en el sistema radical (Fallik y col., 1994). Estos cambios están directamente relacionados con las concentraciones del inóculo (niveles más altos que el óptimo pueden inhibir el efecto, mientras dosis bajas de bacterias pueden no afectar). La colonización de las raíces puede ser interna o externa; en la colonización externa la bacteria forma agregados pequeños y en la colonización interna las células de *Azospirillum* pueden colonizar las raíces penetrando dentro de los espacios intercelulares, aunque pueden colonizar enteramente el sistema radical (Bashan y col., 1996). La colonización eficiente por las células de *Azospirillum* después de la inoculación es esencial para obtener una respuesta de las plantas a la presencia de la bacteria .

En los últimos años se ha discutido sobre el empleo de grupos microbianos para incrementar el rendimiento ya sea por medio de la fijación biológica del nitrógeno o por la producción de hormonas estimuladoras del crecimiento. Ramírez (2001), citando a diversos investigadores, señala respuestas positivas a la inoculación con *Azospirillum* cuando no se ha utilizado fertilizante nitrogenado. Otros han observado una mayor respuesta al adicionar pequeñas cantidades de nitrógeno; sin embargo, también se ha encontrado que las plantas tratadas con esta bacteria incrementan sus rendimientos aun con altos niveles de nitrógeno .

Género *Pseudomonas*. Este género es común en la rizosfera (Hebbar y col., 1994; Hernández y col., 1999a) y abarca un gran número de grupos que se distinguen por sus múltiples diferencias fenotípicas no relacionadas. Presenta un amplio espectro nutricional y no requiere de factores de crecimiento para su desarrollo (Hernández y col., 1997; Ortiz, 2001).

Se divide en dos grandes grupos, determinados por la producción de pigmentos, encontrando, de esta forma, especies fluorescentes y no fluorescentes, que pueden resultar beneficiosas o patógenas a plantas o animales (Pallerony, 1984). En la década del 90, los taxónomos determinaron que las cepas de *Pseudomonas cepacia* se encontraban muy distantes del género *Pseudomonas* y, específicamente, de la especie tipo del género *Pseudomonas aeruginosa*, renombrándola como *Burkholderia cepacia* (Guillis y col., 1995). Vandanme y col. (1997), demostraron que esta especie puede ser dividida en dos grupos o subpoblaciones (genomovares) planteando que las diferencias entre los genomovares radicaban fundamentalmente en la resistencia a los antibióticos y en la patogenicidad de la cepa *B. cepacia*, la cual se caracteriza por producir pigmentos no fluorescentes difusibles en agar (piocianina) y producir sideróforos

del tipo hidroxamato (Meyer y col., 1998) y ácido indol acético –AIA- (Velázquez y col., 1999), mientras que *P. fluorescens*, en contraste con ésta, produce fundamentalmente pioverdines y sideróforos del tipo catecol (Hernández y col., 1999a; Ortiz, 2001).

Estas poblaciones microbianas tienen un papel importante en el crecimiento y el desarrollo de las plantas; son capaces de colonizar las raíces de forma externa y, en algunos casos, internamente (Kloepper y col., 1992). El interés sobre estas se basa en tres aspectos básicos: influencia en la nutrición de las plantas (Hernández y col., 1995), protección de la raíz del ataque de patógenos procedentes del suelo (De Meyer y Hofte, 1997; Bigiramana, 2000) y producción de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, tales como AIA, giberelinas, citoquininas y otros (Lynch, 1992; De Salmone y col., 2001).

Género *Azotobacter*. Este género se destaca fundamentalmente, como microorganismo de vida libre, por fijar el nitrógeno atmosférico (Rubenchik, 1963; Yate y Campbell, 1989) y, además, producir sustancias estimuladoras del crecimiento, entre ellas auxinas, giberelinas, citoquininas, aminoácidos y vitaminas (González- López y col., 1986).

La capacidad de fijación de N_2 varía en dependencia de ciertos factores como la fuente de carbono y nitrógeno que empleen así como de algunos microelementos; otros factores físicos y físico-químicos pueden tener influencia sobre ellas como son el pH, la aireación y la temperatura del suelo (Dibut, 1995; Dibut y col., 1997). La propagación de las bacterias de este género está estrechamente relacionada con la presencia en el medio de suficientes cantidades de fósforo y potasio, siendo mayor el efecto en el caso del fósforo, cuya escasez o ausencia puede hasta inhibir el desarrollo de la bacteria. Este elemento estimula el metabolismo del carbono, la multiplicación y la fijación del dinitrógeno (Dibut, 2000).

Mecanismos de acción de las rizobacterias. Entre los principales mecanismos a través de los cuales las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal ejercen su acción se destacan la fijación biológica del nitrógeno (Fages, 1994), la toma de agua y nutrientes por la planta (Hernández y col., 1995), la producción de fitohormonas (Velázquez y col., 1999) y el biocontrol de patógenos (Picard y col., 2000; Scott, 2001; Srivastava y col., 2001).

Los microorganismos pueden alterar la velocidad de absorción de las plantas por tres vías: por un efecto directo en las raíces, por efectos sobre el medio ambiente que provoquen modificaciones en el comportamiento de la raíz o por competencia directa por los nutrientes (Watt, 1993). Además, las bacterias

convierten en asimilables para las plantas diferentes nutrientes, lo que ocurre mediante procesos de mineralización, inmovilización, oxidación, reducción y solubilización (Fernández y Novo, 1988).

Por otra parte, las rizobacterias también pueden provocar alteración en la permeabilidad celular de las raíces, conduciendo a un incremento en la toma de iones por la planta, fundamentalmente nitrato, potasio y fosfato, e incrementar la formación de pelos radicales, lo que está dado por la estimulación que induce el microorganismo en las raíces, incrementando el sistema radical, lo que conlleva, posteriormente, a un aumento en la adquisición de sustancias nutritivas y agua por la planta (Vosé, 1983; Hernández, 1996).

Este incremento en la velocidad de absorción de agua y nutrientes por las raíces se hace más marcado en la medida en que existe una mayor especificidad planta-microorganismo.

De igual forma, se plantea que las RPCV estimulan la producción de fitohormonas que influyen sobre el metabolismo de las plantas, conllevando a variaciones en su crecimiento y desarrollo, tanto por inhibición como por promoción (Nieto y Frankenberger, 1990). Un ejemplo de esto lo constituye *Pseudomonas* spp. la cual produce fitohormonas tales como auxinas, citoquininas y giberelinas (Gould, 1990).

Asimismo, la aplicación de antagonistas microbianos para el control biológico de fitopatógenos ha sido catalogada como un componente importante en el manejo integrado de las enfermedades de las plantas, siendo las bacterias pertenecientes a los géneros *Pseudomonas* y *Burkholderia* ejemplo de ello, atribuyéndose este efecto a la inhibición del patógeno debido a competencia por Fe (III) -hipótesis de los sideróforos- (Barelman y col., 1996), por producción de sustancias volátiles o difusibles (antibiosis) Maurhofer y col., (1994), y por inducción de resistencia en la planta (Cruz y col., 1992; Maurhofer y col., 1998).

Algunos resultados experimentales obtenidos con la utilización de RPCV. Durante varias décadas se han utilizado como inoculantes microbianos bacterias aisladas de la rizosfera de diferentes cultivos, comprobándose que estos son capaces de influir positivamente sobre la germinación de las semillas y posterior desarrollo de las raíces, de incrementar el rendimiento de las cosechas en plantas de interés agrícola así como de mejorar la fertilidad de los suelos (Velázquez y col., 1999).

En Cuba, Martínez y col., (1992) informan de la inoculación con rizobacterias a semillas de tomate, donde se probaron 12 variedades y, en 12

aplicaciones realizadas en condiciones de producción, en época de invierno y primavera, sobre un suelo Ferralítico Rojo de la provincia La Habana, obtuvieron incrementos de la germinación entre 30 y 55 % de acuerdo con la variedad, así como una aceleración del crecimiento y desarrollo de las posturas, las que alcanzaron con mayor rapidez la altura y el vigor necesarios para el trasplante. En los campos donde se trasplantaron las posturas inoculadas fue mayor el número de flores y frutos por plantas, lo que trajo como consecuencia 30 % de incremento en los rendimientos, como promedio. Estos resultados también han sido confirmados en condiciones experimentales sobre suelos Pardos sin Carbonatos de la provincia Holguín, suelos Ferralíticos de la provincia Camagüey y en suelos Ferralíticos Cuarcíticos de la provincia Pinar del Río, utilizando para cada tipo de suelo la cepa de *Azotobacter* con mayor capacidad de estimulación, seleccionada en bioensayos para cada condición específica.

Al estudiar la producción de aminoácidos y citoquininas en una cepa cubana de *Azotobacter chroococcum*, Dibut y col. (1992b) encontraron la presencia de diferentes tipos de estos compuestos, lo que explica la influencia que tiene la inoculación de esta bacteria sobre el incremento del vigor general de la planta, la aceleración de su desarrollo y los incrementos de la floración, la fructificación y el rendimiento en general. A partir de estos resultados se realizaron, a escala de producción, diferentes investigaciones, entre las que se encuentran las desarrolladas por Martínez y Hernández (1995), quienes comprobaron que las bacterias del género *Azotobacter* poseen un complejo enzimático capaz de reducir el nitrógeno del aire a amonio para ser asimilado por las plantas y aportar sustancias bioestimuladoras del crecimiento tales como citoquininas, auxinas, giberelinas, aminoácidos y vitaminas. Estos biopreparados se han aplicado en hortalizas, lográndose con ellos suplir entre 15 y 50 % de sus necesidades de nitrógeno, pudiendo al mismo tiempo, dada su capacidad de síntesis de sustancias biológicamente activas, acortar los ciclos de los cultivos y estimular los rendimientos entre 30 y 50 %.

Igualmente, Martínez (1994), informa que, con cepas nativas de *Azotobacter*, inocularon más de 500 000 ha de hortalizas, arroz, yuca, boniato, plátano, maíz y cítricos, lo que permitió sustituir entre 25 y 40 % del fertilizante necesario en estos cultivos e incrementar los rendimientos entre 30 y 50 %. En el caso de los semilleros y viveros, se logra el acortamiento del período necesario para el trasplante, logrando posturas más vigorosas y desarrolladas. También

señala reducción del aborto floral, lo que trajo como consecuencia mayor número de frutos de mayor tamaño, acortándose el ciclo total del cultivo .

Acosta y col. (1992), determinaron el efecto de la inoculación con la cepa INIFAT 12 de *Azotobacter chroococcum*, aislada en un suelo Ferralítico Rojo, sobre la fotosíntesis, la respiración, la producción de pigmentos, el crecimiento y el desarrollo de las plantas de tomate de la variedad M-10 en la etapa de semillero, encontrando que las plantas inoculadas con dicha bacteria incrementaron dos veces el área foliar y el contenido de clorofila B, mientras que el de carotenoides se quintuplicó; sin embargo, la actividad fotosintética y la respiración fue menor al compararla con plantas que no recibieron esa bacteria.

Acosta y col. (1993), estudiaron la influencia de un biopreparado a base de *Azotobacter* sobre la fotosíntesis y la respiración de hojas de tomate, encontrando, de forma general, una acción reguladora del biopreparado sobre los procesos biosintéticos y respirativo en las hojas; la actividad fotosintética tendió a ser mayor durante las etapas del desarrollo estudiadas en las plantas testigo, comprobando que, en todos los casos, la acumulación de masa seca, el crecimiento y el desarrollo fueron mayores en las plantas biofertilizadas, concluyendo que este biopreparado influyó positivamente en la acumulación de reservas y el mejor aprovechamiento de estas por el cultivo.

Ravelo y col., (1998), estudiaron diferentes dosis (10, 15, 20 y 30 L.ha⁻¹) de *Azotobacter chroococcum* en dos momentos de aplicación: recuperación de las posturas e inicio de la formación del bulbo de la cebolla, demostrando que el biofertilizante influyó positivamente en las variables de crecimiento, el rendimiento y la composición interna del bulbo. Estos estudios fueron repetidos, con resultados similares, en otros años por estos mismos autores (Ravelo y col., 2000), sobre un suelo Ferralítico Cuarcítico Rojo lixiviado cultivado de cebolla cv Red creole y los resultados corroboraron la influencia positiva del biofertilizante sobre el número y largo de las hojas, diámetro del falso tallo y del bulbo, rendimiento y composición interna del fruto.

Investigaciones realizadas sobre el efecto del *Azotobacter* en el cultivo de la cebolla, donde se realizaron 16 bacterizaciones en condiciones experimentales y en campos de producción, con cinco variedades (Martínez y col., 1988; 1991), demostraron que *Azotobacter* produjo un incremento de la germinación de un 40 % como promedio, produciendo también una aceleración en el desarrollo de las posturas, lo que al final se tradujo en un incremento del rendimiento del 18 % (2,6 t.ha⁻¹). Resultados similares obtuvieron Martínez y col. (1993), para el efecto de

este biopreparado en el acortamiento del período de semillero en 9 variedades de cebolla, comprobando que el mismo provoca una marcada estimulación del crecimiento que se manifiesta en un incremento en la altura de alrededor del 30 %, entre 20 y 50 % para el número de hojas y del 35 al 80 % en la masa seca, trayendo como consecuencia una reducción de los días en el semillero entre 7 y 10 días.

Méndez y col. (1992), al determinar el efecto de la "Fosforina" (nombre comercial del biopreparado a partir del empleo de la cepa IS-16 de *Burkholderia cepacia*) en la disminución del uso de fertilizante fosfórico, así como su influencia en el rendimiento del tomate Campbell 28, informan que en suelos Ferralíticos Cuarcíticos Amarillo Rojizo lixiviado se podía reducir hasta el 75 % del fertilizante fosfórico recomendado por el Servicio Agroquímico y el 50 % en los suelos Ferralíticos Cuarcíticos Amarillos, logrando incrementar los rendimientos del cultivo.

Por otro lado, Almaguer y col. (1992), realizaron experimentos para determinar la efectividad de una cepa solubilizadora de fósforo mineral, aislada de un suelo Ferralítico Pardo rojizo de Topes de Collantes, conduciendo la investigación sobre un suelo Pardo Grisáceo con la variedad de tomate Campbell 28. Los resultados mostraron que, de las dos variantes donde no se aplicó el P_2O_5 , la que más rindió fue la inoculada con la cepa, aunque ninguno de los tratamientos inoculados igualaron en rendimiento al tratamiento donde se aplicó la dosis de NPK recomendada. En el suelo se observó un incremento de P_2O_5 cuando se aplicó fósforo, con un efecto marcado en el tratamiento donde se inoculó y se añadió 2/3 de la dosis de P_2O_5 . Estos mismos autores al evaluar la efectividad de la "Fosforina" en tomate de trasplante como inoculantes microbianos (Almaguer y col., 1996), encontraron que la variante que recibió el biofertilizante superó a aquella con ausencia de aplicación en más de 4 t.ha^{-1} .

Martínez (1993), en investigaciones sobre la utilización de la "Fosforina" en el cultivo del tomate en diferentes tipos de suelos: Ferralíticos Cuarcíticos de Pinar del Río e Isla de la Juventud, Ferralíticos Rojos compactados de La Habana y Pardos sin Carbonatos de Holguín (todos con diferentes contenidos de fósforo asimilable), obtuvo como resultado que el efecto del biofertilizante varió con el tipo de suelo y el contenido de fósforo de los mismos, pudiendo sustituir desde 100 hasta 75 % del fósforo recomendado para cada tipo de suelo, a la vez que se obtuvieron incrementos notables de los rendimientos, que variaron entre 5 y 38 %.

Vega y col. (1992), estudiaron la influencia del método de inoculación de la Fosforina (remojo de las semillas o por aspersión al suelo) sobre los rendimientos agrícolas del tomate cv HC- 3680 en un suelo Ferralítico Rojo típico de La Habana, encontrando que no existían diferencias entre ambos métodos de aplicación, pero sí cuando se aplicaba sólo la Fosforina con o sin la aplicación de fósforo inorgánico, lo que trajo consigo beneficios económicos por la reducción de este elemento con la presencia del biopreparado.

Terry y col. (1996a), comprobaron el efecto positivo que ejerció la bacteria nitrificadora *A. brasilense* UAP- 154, logrando incrementos en la altura de las plantas, la longitud del sistema radical, la masa fresca y seca de la parte aérea, así como del sistema radical, en plantas de tomate en la fase de producción de posturas. Resultados similares fueron obtenidos con la especie *A. lipoferum* en el mismo cultivo, favoreciéndose el crecimiento y lográndose disminuir los requerimientos de nitrógeno de los mismos (Terry y col., 1996b). En cuanto a las dosis de aplicación, Castro y González (1995), en experimentos de campo, señalaron que la dosis más eficiente para aplicar *Azospirillum* se encuentra entre 20 y 40 L.ha⁻¹, obteniendo respuestas positivas en los rendimientos del tomate y del pimiento con incrementos de 25 a 35 % y de 62 a 100 %, respectivamente.

2.2.3 - Hongos micorrízicos arbusculares (HMA).

El estudio de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) tiene cada vez mayor relevancia, ya que el sistema radical de un gran número de plantas desarrolladas en ambientes naturales no existe simplemente como raíces sino como complejas asociaciones con dichos hongos o micorrizas.

La distribución geográfica de las asociaciones micorrízicas es muy amplia, encontrándolas desde los polos hasta los trópicos (Mosse, 1973, citado por Perry, 1990). Esta asociación da lugar a un nuevo órgano que tiene morfología y fisiología propia y que autores como Lecaton y Obaton (1983) y Strullu (1991), llamaron hongo-raíz. Aunque la micorrización aporte un beneficio mutuo para ambos organismos, hay que tener en cuenta el punto de vista aportado por Dommerges y Mangenot (1970) y Palma y col. (1993), citados estos últimos por Fernández (1999), quienes plantearon que la asociación micorrízica, en un sentido mucho más estricto, resulta de la unión íntima entre huésped y hospedero, donde intervienen factores como la virulencia del hospedero y la reacción de defensa del macrosimbionte, mucho menos severo y de carácter temporal con relación a los microorganismos patógenos típicos. Se ha estimado que alrededor del 95% de las

especies de plantas vasculares pertenecen a familias que son característicamente micorrízicas (Safir, 1994).

Las micorrizas se han clasificado en base a su estructura, morfología y modo de “infección” en tres tipos principales: ectomicorrizas, ectendomicorriza y endomicorrizas. Este último se divide a su vez en varios subtipos: ericoides, orquidáceas y las arbusculares, que son las más comunes (Sieverding, 1991). Las micorrizas arbusculares (MA) pertenecen al orden Glomales. El suborden Glominaceae tiene cuatro familias: *Glomaceae*, que comprende los géneros *Glomus* y *Sclerocystis*; *Acaulosporaceae*, que incluye dos géneros, *Acaulospora* y *Entrophospora*; *Paraglomaceae* con los géneros *Paraglomus* y *Archaesporaceae* y *Gigasporaceae*, la que a su vez incluye los géneros *Scutellospora* y *Gigaspora* (Morton y Redecker, 2001).

La importancia de los hongos micorrizógenos no estriba sólo en que pueden representar la fracción mayor de la biomasa del suelo, alcanzando hasta 20 % del total de la masa seca de la micorriza (Bethlenfalvay, 1992). Su función radica en que su abundante micelio, intra y extraradical, constituye un enlace o puente entre las plantas y el suelo. Así como se habla de plantas hospederas, Bethlenfalvay y Liderman (1992), propusieron el concepto de suelo hospedero para enfatizar el hecho de que, como las plantas, el suelo es un medio viviente. En este sentido, la micorriza influye y conecta los componentes bióticos del suelo entre sí y con los abióticos.

Cuando se forma la micorriza, se alteran la fisiología y exudación radicales, lo que, a su vez, cambia la población microbiana circundante. Esto ha dado lugar a redefinir la rizosfera, zona de influencia directa de las raíces en la biología del suelo, como micorrizosfera (Liderman, 1992). Además, el micelio extraradical, que en sí mismo es un sustrato alimenticio para otros microorganismos, puede extenderse más allá de los 9 cm desde la raíz, en contraste con los 2 mm de la rizosfera (Bethlenfalvay, 1992), transfiriendo así compuestos de carbono y ampliando la esfera de influencia de la biota rizosférica a mayor distancia. Desde esta óptica, la micorriza no sólo contribuye a la nutrición de la planta, puesto que explora un volumen de suelo mayor que el de la raíz sola, sino también a la nutrición del suelo (Bethlenfalvay y Liderman, 1992), por cuanto incrementa la actividad microbiana.

La simbiosis también favorece la absorción de agua, señalándose que la transpiración en plantas micorrizadas aumenta y esto va asociado a una disminución en la resistencia a la entrada del agua a la planta y un incremento de

la conductividad hidráulica. Este incremento de la conductividad del agua les proporciona a estas una recuperación más rápida en situaciones de estrés hídrico o sequía.

Son múltiples y variados los efectos benéficos que se le atribuyen a los HMA, abarcando aspectos que van desde los nutricionales y del desarrollo vegetativo hasta los relacionados con la protección de las plantas, no todos estudiados con la misma profundidad ni logrando uniformidad de criterio entre los investigadores, dado esto por la existencia de interacciones múltiples entre los HMA, las plantas, el suelo, la microflora y la microfauna y el ambiente circundante.

Estas interacciones se establecen a partir de la simbiosis que se manifiesta entre ambos organismos (planta y hongo), lo que representa un proceso sucesivo de intercambio de sustancias nutritivas, metabolitos esenciales, sustancias hormonales, resultando un beneficio mutuo para ambas (Trappe, 1987). Este tipo de asociación está regida, fundamentalmente, por los genomas de la planta y el hongo, modelada a su vez por el medio ambiente (Krishna y col., 1985; Dehne, 1988, citados por Gianinazzi y col., 1991).

Durante la penetración y distribución del hongo en las raíces ocurren modificaciones fisiológicas tales como:

- incremento de la actividad nuclear, de la masa citoplasmática y del grado de vacuolación de las células corticales y generación de nuevos organelos.
- aumento de la diferenciación de los tejidos vasculares.
- aumento de la tasa fotosintética.
- incremento de la síntesis de proteínas, clorofila, sustancias de crecimiento y metabolitos secundarios.
- activación de los sistemas enzimáticos.
- favorecimiento de la absorción, translocación de nutrientes y agua.

El establecimiento del hongo representa un drenaje neto de fotosintatos desde la parte aérea hasta la zona radical, donde, de la parte que toma el simbionte, la mayoría se utiliza para producir energía metabólica, asegurando a través de esta vía su mantenimiento y desarrollo y el resto se moviliza en forma de azúcares y lípidos dentro de la masa fúngica intra y extrarradical (Bowen, 1987; Bonfante-Fassolo y Perotto, 1992; Azcón y Tobar, 1998).

Las hifas absorben el fósforo del suelo a través de un proceso activo; después, este se convierte, previo proceso de fosforilación, en gránulos de polifosfato (PP), los que son transportados por la corriente citoplasmática hasta las vesículas, donde pueden ser almacenados temporalmente o ir directamente hacia

los arbusculos como fosfatos inorgánicos (Pi) que, a su vez, son transferidos a la célula vegetal, pasando por la interfase hongo-planta denominada matriz (Tarafdar y Marschner, 1994). Este proceso de transferencia es mediado por el sistema ATP-asa / bomba de protones (Dexheimer y col., 1986, citados por Gianinazzi y col., 1991). Simultáneamente, en el sentido contrario, desde la planta hacia el hongo, ocurre la transferencia de carbohidratos provenientes de la fotosíntesis vía floema. Estos van en forma de sacarosa y son hidrolizados a través de una enzima llamada invertasa, convertida en dos monómeros, que a su vez se descomponen posteriormente y se fosforilan en moléculas de triosa-P, para ser transferidos al simbionte vía arbusculos (Lecaton y Obatón, 1983).

El beneficio reportado por el uso de las asociaciones micorrízicas arbusculares en el crecimiento de las plantas resulta espectacular, particularmente en suelos tropicales, generalmente deficientes en fósforo asimilable y donde el potencial de explotación de estas es mucho mayor que en regiones de clima templado (Sieverding, 1991). La inoculación de las plantas con hongos micorrizógenos provoca, de manera general, un marcado incremento en los procesos de absorción y translocación de nutrientes tales como P, N, K, Ca, Mg, Zn, Cu, Mo, B (Koide, 1991; Marschner y Dell, 1995), pudiendo tenerse en cuenta que estas asociaciones son un factor importante para el incremento de las posibilidades de las plantas en países tropicales, por las razones citadas por Black (1980):

- los bajos niveles de P asimilable o la alta capacidad de fijación de este elemento en suelo.
- la alta velocidad de los procesos de fijación en suelo y sus respectivas pérdidas.
- la creciente dificultad de producir fertilizantes fosfóricos solubles, debido a la escasez de los yacimientos, así como su alto costo de producción y precio público.
- el hábito micotrófico vesículo - arbuscular de la mayoría de las especies de interés económico en los trópicos.

Desde el punto de vista nutricional, el mayor beneficio que las plantas derivan de la micorrización es un mayor crecimiento debido a un incremento de la absorción de P cuando este elemento es limitante. Cuando el P no es limitante, el beneficio puede ser nulo o reducido, según el grado de dependencia micorrízica de la planta. Es conocido, además, que altos niveles de P inhiben la simbiosis (Johanson y col., 1994).

La respuesta de la planta a la inoculación con HMA depende del nivel de fertilidad del suelo, de la planta hospedera y del hongo MA. Plantas micótrofas obligadas pueden presentar una respuesta alta (yuca) o leve; plantas micótrofas facultativas podrían presentar una respuesta alta a la micorrización (maíz) o baja (sorgo) (Sieverding, 1991).

Por otro lado, Ruiz (2001), plantea que se han observado diferencias intraespecíficas en la respuesta de la plantas a la inoculación con MA. Además, según el mismo autor, las especies fúngicas MA también presentan diferencias interespecíficas de efectividad para absorber P y otros nutrientes y translocarlos en la planta.

Los hongos formadores de MA ayudan a la captación de elementos minerales del suelo mediante dos mecanismos, uno puramente físico, donde el micelio del hongo es capaz de extenderse y explorar mayor volumen de suelo que las raíces por sí solas, por lo que puede extraer elementos minerales y agua de un volumen mayor de suelo. Iónes como el fosfato, el zinc o el cobre son transportados más rápidamente a través de las hifas del hongo que por difusión a través del suelo. El segundo es un mecanismo bioquímico que incrementa la afinidad de la raíz micorrizada por el fosfato soluble, de manera que las raíces captan fosfatos a partir de concentraciones más bajas en el suelo.

La necesidad de añadir fertilizantes no se elimina inoculando las plantas con hongos formadores de MA, ya que las micorrizas no producen fósforo ni otros nutrimentos, pero sí permiten potenciar el rendimiento del fertilizante reduciendo de esta manera su aporte. La rentabilidad de la aplicación de los HMA dependerá de factores como la dependencia de la planta hospedera de los HMA y la ausencia de hongos MA naturales o nativos efectivos en el suelo o medio de cultivo.

Normalmente, las especies vegetales con menos capacidad para absorber fósforo y micronutrientes del suelo son las especies más dependientes de los HMA. La elevada aptitud para la micorrización que presentan algunas especies vegetales se ha relacionado con la morfología de las raíces, con la ausencia de raíces finas y de pelos radicales bien desarrollados y con un elevado potencial de crecimiento. La habilidad de la micorriza para suplir P y otros nutrientes a las plantas es ampliamente conocido. Por el contrario, el efecto de la fertilización en la micorriza no está suficientemente estudiado; se sabe que depende de numerosos factores: clase de fertilizante, características del suelo, cultivo, tipo de agrosistema, hongos MA en el suelo, entre otros. (Louis y Lim, 1988; Sieverding, 1991). En general, altos niveles de N y P afectan negativamente el funcionamiento

de la micorriza, mientras que bajas concentraciones de K son benéficas (Kurle y Pflieger, 1994; Dominique 1998).

Se sabe que distintas especies de HMA varían en su respuesta a la fertilización, lo que puede resultar en selección de especies poco sensitivas al fertilizante y menos efectivas como mutualista (Kurle y Pflieger, 1994). Diferentes ecotipos dentro de una misma especie de HMA también pueden responder en forma distinta a incrementos de P agregado (Louis y Lim , 1988).

Factores que afectan la micorrización.

A. Climáticos. Entre estos se encuentran el efecto estimulante de la luz, que ha sido objeto de estudio por autores como Hayman (1974) y Furlan y Fortin (1997). Durante el desarrollo del proceso de formación de las micorrizas vesículo-arbusculares, la ausencia de luz, tanto por sombra como por poca iluminación, no sólo reduce la infección micorrízica de las raíces y, por ende, la normal producción de esporas, sino que también puede afectar la respuesta de las plantas a esta asociación. Este fenómeno se origina en gran medida debido a la reducción del grado de suministro de metabolitos a las estructuras fúngicas presentes en la raíz y en consecuencia la traslocación de nutrientes a través de la interfase hongo-planta

Orozco (1986), refiere trabajos realizados por Daniels y Trappe (1980), quienes señalan a la temperatura del suelo como uno de los factores que determinan el comportamiento de los HMA, al señalar que el establecimiento de estos presenta tres fases: germinación de las esporas en el suelo, penetración de la hifa en la raíz y desarrollo dentro de las células del córtex, comprobando que para la germinación existe un amplio rango de temperatura óptima, dependiendo de la especie. Por ejemplo, ciertas especies de *Glomus* y *Gigaspora*, aisladas en zonas de la Florida (sub-tropical), germinaron excelentemente a una temperatura de 34 °C, la que resulta considerablemente alta si las comparamos con otras especies de *Glomus*, que germinan a una temperatura de 20 °C en climas fríos. Por otra parte, Strullu (1991) señala que la infección natural de manera general, disminuye con el incremento de la temperatura.

B. Físico-químicos. El contenido de agua presente en el suelo influye en el proceso de micorrización. A pesar de que los hongos MA forman simbiosis

con plantas acuáticas (Secilia y Bagyaraj, 1992), se admite generalmente que su desarrollo es lento o adverso en suelos anegados. La influencia que tiene la falta de agua sobre la infección micorrízica dentro y fuera de la raíz es diferente. Strullu (1991), al abordar la temática refleja trabajos realizados por Daniels y Trappe (1980), quienes observaron que, cuando el contenido de agua se encontraba por encima de la capacidad de campo, se favoreció la germinación de esporas de hongos micorrizógenos.

Orozco (1986), refiere experimentos realizados con *Khaya grandifolia*, donde se encontró que la germinación y el micelio extramatricial se vio afectado por condiciones de sequía; sin embargo, la infección fue alta debido a que los contenidos hídricos en el interior de la raíz irrigaban suficientemente las hifas del hongo. La formación de micorrizas juega un papel importante en el crecimiento de las plantas bajo condiciones de estrés hídrico, sobre todo en aquellas plantas que se exponen un largo período de tiempo a la falta de agua. Estas plantas logran desarrollar una capacidad de absorción superior, que les permite, a su vez, una mayor absorción del agua y nutrientes que ya, bajo esta situación, no se moverían por efecto de masa, sino por un aumento de la “pseudodifusión”, ocurriendo de hecho una irrigación en la planta que, entre otras cosas, mantiene a las hifas del hongo, aún en condiciones adversas, desarrollando satisfactoriamente la asociación planta-HMA (Ruiz-Lozano y Azcón, 1995).

Sánchez-Díaz (1990), indicó que las plantas deficientes de fósforo son muy susceptibles a la falta de agua, demostrando que en plantas de *Glycine max* bien nutridas en P se produce una mejor conducción de agua, producto de un buen desarrollo del micelio externo. Se determinó que la cantidad de agua necesaria para producir 1 g de masa seca es mucho más baja en plantas con asociaciones micorrízicas que en plantas sin “infectar” (Fitter, 1988).

Fernández (1999), refiere la importancia del pH del suelo a partir de criterios informados por diferentes investigadores, entre los que cita a Green y col.(1976), quienes señalan que esta propiedad del suelo determina, en muchos casos, la eficiencia del endófito, el porcentaje de germinación de las esporas y el desarrollo de los HMA. Además, señalan que la relación que se establece entre los rangos de pH del suelo y el efecto de la “infección” micorrizógena es complejo, al depender no sólo de la especie micótica, sino también del tipo de suelo, forma en que se encuentran los

nutrientes, fundamentalmente P, N y otros elementos como Cu, Zn, Mo y B, resultando de menor importancia el tipo de especie de planta sobre la que se desarrolla. De igual forma, plantean que la variación del pH en el suelo tiene un efecto importante sobre el aumento o disminución de la flora fúngica y bacteriana. Reportes científicos realizados por Primavesi (1990) indican que la microbiota de los suelos tropicales está adaptada a pH entre 5,3 y 6,1 y, puede decirse, que en los suelos con pH 5,6 la mayoría de los microorganismos benéficos se desarrollan bien y sus enzimas se activan. También señaló que la influencia del pH es clara, observando que los microorganismos activos en la movilización del fósforo son aeróbicos y necesitan un pH alrededor de neutro para su actividad en la rizosfera. La existencia de determinados microorganismos como los fijadores de nitrógeno, agregadores del suelo y movilizadores de nutrientes sólo lo consiguen con pH adecuados, señalando que para los primeros un suelo con pH 4,5 permite su presencia y que el óptimo es de 5,6.

El efecto de la reacción del suelo puede ser muy marcado bajo condiciones de extrema acidez, aunque el efecto de la concentración del ion hidrógeno (H^+) puede ser de menor importancia que los efectos asociados a la falta de Ca y P o la presencia de compuestos de Mn y Al solubles. Ferrer y Herrera (1991), señalan que el pH es un factor que puede afectar el desarrollo de la simbiosis de los cultivos con las MA y que las diferentes especies del hongo tienen distintas preferencias por el pH. Estos mismos autores hacen referencia a trabajos desarrollados por Potty (1984) quien había informado que el pH óptimo para el desarrollo de las MA es de 5,5 - 6,0. De igual forma se refieren a lo señalado por Gerdeman y Trappe (1974), quienes habían referido distribuciones de *G. mosseae* en suelos alcalinos, mientras que Mosse (1972), señaló que *G. fasciculatum* se encontró en suelos ácidos.

Miranda y Miranda (1994), determinaron el efecto de la acidez del suelo sobre la eficiencia de los HMA nativos al estudiar 25 especies de hongos y tres niveles de pH: 4,7; 5,3 y 5,8; la especie *G. manihotis* fue la más eficiente en el pH más bajo, mientras que *Glomus* spp. y *E. colombiana* lo fueron a los pH más altos. Cañizares y Azcón-Aguar (1993) probaron cepas combinadas procedentes de suelo alcalino con microflora de pH alcalino y ácido en sustratos con pH alcalino y ácido. El mismo procedimiento se utilizó pero empleando cepas aisladas de suelos con pH ácido. Se

comprobó la influencia de la microflora del suelo en la adaptabilidad de las MA a diferentes condiciones de pH hasta el punto que las interacciones de estos pueden amortiguar el efecto del cambio de pH; también se comprobó la existencia de comportamientos individuales de las cepas. Howeler (1987), encontró que algunas cepas de MA son específicas para ciertas condiciones, pero otras están adaptadas a diversas condiciones edafoclimáticas y toleran variaciones en la acidez, fertilidad y niveles de nitrógeno y potasio del suelo.

- C. **Biológicos.** Los microorganismos del suelo presentan interacciones complejas entre si que afectan la fertilidad del suelo y el desarrollo de las plantas. Los hongos HMA, además de su efecto directo en la nutrición de las plantas, inducen cambios fisiológicos que comprenden un aumento en la tasa fotosintética y redistribución del carbono fijado en mayor proporción hacia las raíces.

Estudios realizados por Lynch y Whipps (1990), encontraron que las plantas micorrizadas transfirieron hacia la micorriza entre 6 y 12 % adicional del total del carbono fijado en comparación con las plantas no micorrizadas, lo que representa un notable aumento del carbono disponible para la actividad microbiana.

Procedimientos de inoculación. Rodríguez del Rincón (1995), cita trabajos realizados por Borie (1986), quien señala que la inoculación en campo es una técnica impracticable debido a las elevadas dosis del inóculo que se requieren, por lo que resulta más atractiva y eficiente su inoculación en plantas a nivel de semillero de modo que, una vez lograda la infección con el hongo más efectivo, la planta se traslada al sitio definitivo con su raíz ya colonizada, evitando así el antagonismo propio de la rizosfera. Este hecho es de especial importancia para las hortalizas, sobre todo si se tiene en cuenta que en Cuba la mayoría de la superficie dedicada a su producción se establece utilizando el método de trasplante de plántulas o posturas obtenidas en semillero.

Siquiera y Franco (1988), señalaron que el hongo seleccionado como inoculante debe persistir en el nuevo hábitat, por lo que debe tener una pureza alta, ya que competirá con los nativos, e incluso con microorganismos patógenos. Por su parte, Sieverding (1991), resume las características fundamentales que deben poseer los hongos VA para ser utilizado como inoculantes en las siguientes aspectos: a) capacidad de colonización en un amplio margen de condiciones, b)

efectividad, pues el hongo debe ser eficaz en la captación, traslocación y transferencia de nutrientes desde el suelo hasta la planta, c) capacidad de inoculación y dispersión del inóculo, siendo conveniente que el inoculante tenga una capacidad reproductiva alta, que sus propágulos germinen con facilidad y sus hifas crezcan y se extiendan abundantemente en el suelo y, d) sobrevivencia del inóculo y persistencia de sus efectos, refiriéndose a la capacidad de producir estructuras (esporas, esporocarpos, vesículas intraradicales), todo lo cual les confiere una amplia gama de posibilidades ante condiciones ambientales adversas.

Uno de los inconvenientes que se presentan con la inoculación es la cantidad de inóculo que se necesita. En Cuba se ha patentado una tecnología novedosa y de bajo costo, a partir de insumos nacionales y demostrada para diferentes sistemas de producción y cultivos, consistente en revestir la semilla con cierta cantidad de inoculante capaz de establecer la simbiosis con la planta y garantizar la infección de las raíces (Fernández y col., 2000). Esta tecnología permite un ahorro del 99 % del inoculante micorrizógeno y entre un 25 y 50 % del fertilizante químico, dependiendo de la fertilidad del suelo y tipo de fertilizante utilizado.

Ruiz y col. (1997), al estudiar las dosis del biofertilizante EcoMic (nombre comercial para un inoculante basado en HMA) en el recubrimiento de semillas de diferentes cultivos, determinaron que para el cultivo del tomate, la dosis óptima se encuentra en la proporción 1:7,5 (13,3 % de inóculo en relación con el peso de la semilla). Ruiz y col. (1998), compararon el método tradicional de inoculación (1kg HMA. m⁻²) con la tecnología de recubrimiento de semillas, obteniendo resultados positivos con el empleo de hasta un 10 % de inoculante con respecto al peso de la semilla, lográndose buena infección de las raíces.

Fernández y col. (1998), señalan que en la actualidad existen tres sistemas de aplicación de las endomicorrizas arbusculares (HMA); la primera, a través del empleo de un inoculante tradicional, ya sea un concentrado de cepas nativas o por aislamiento de determinadas cepas y su reproducción en un sustrato de suelo y materia orgánica, aplicado sobre cultivo de viveros o semilleros para trasplante; la segunda, a partir de la micorrización "in vitro", produciéndose el proceso infectivo en condiciones artificiales y bajo extremas medidas de bioseguridad; la tercera, a partir del recubrimiento de semillas para ser empleadas en siembra directa con un inoculante de nuevo tipo, con alta concentración de estructuras

“infectivas”, lo que ha generado un cambio en la aplicación de estos bioproductos a nivel mundial.

Algunos resultados experimentales obtenidos con la utilización de HMA. La biofertilización con hongos micorrízicos constituye una tecnología que puede favorecer el trasplante y el posterior desarrollo de los cultivos y aportar un nivel de protección frente a condiciones adversas. Estos factores redundan en la protección del medio productivo y la conservación de los recursos naturales ya que se reduce el aporte de insumos químicos, sean fertilizantes o productos fitosanitarios. La micorrización es un factor esencial para la fertilidad del suelo. La inoculación artificial con hongos seleccionados tiene un especial significado en cultivos con un alto valor económico y en prácticas viveristas intensivas.

Debido a su efecto positivo en la absorción de nutrientes, la inoculación con HMA permite disminuir las dosis de fertilizantes minerales recomendadas para los cultivos, posibilitando el incremento de los rendimientos. En este sentido Medina y Pino (1992), confirmaron el efecto beneficioso de los HMA sobre la producción de tomate al observar que resultaba factible la sustitución de la fertilización nitrogenada establecida para el cultivo en más de un 80 % mediante la inoculación de la cepa *Glomus mosseae* en la fase de semillero. Similares resultados obtuvieron Ferrer y col. (1992a), al observar una mayor altura, número de flores, masa seca del follaje y de la raíz en plantas de tomate establecidas en un suelo Ferralítico Rojo e inoculadas con los hongos micorrizógenos *Glomus manihotis* y *G. fasciculatum*. Estos autores registraron un ahorro de fertilizante de 79,83, 62,33 y 78,92 % de N, P y K, respectivamente, con relación a lo aplicado en la producción.

Al estudiar la utilización de los biofertilizantes como una alternativa para la nutrición del tomate, Medina (1994), observó que el empleo de las micorrizas arbusculares permitía incrementar el vigor de las posturas de tomate en el semillero y a su vez sustituir el 100 % del P y K y el 70 % de N. Por su parte, Bejerano y col. (1995), encontraron que la inoculación de posturas de tomate Campbell 28 con hongos micorrizógenos incrementó el rendimiento en un 63,9 y en un 37 % con la utilización de las cepas *Glomus manihotis* y *G. agregatum*, respectivamente, sobre el testigo sin micorrizar. Pulido y Peralta (1996b), confirmaron que la inoculación con micorrizas al cultivo del tomate en fase de semillero permitía disminuir en un 50 % las aplicaciones de fósforo sin afectaciones en la calidad de las posturas desarrolladas en un suelo Ferralítico Rojo.

Novella y Medina (1998), al estudiar el efecto de la aplicación de hongos micorrizógenos como alternativa para garantizar la disponibilidad de nitrógeno en la producción de tomate sobre suelo Ferralítico Rojo desaturado de baja fertilidad, probaron dos cepas de hongos MA (*G. manihotis* y *G. fasciculatum*) y la aplicación de dos fuentes de nitrógeno (nitríca y amoniacal) en dos dosis (45 y 90 kg N.ha⁻¹), obteniendo resultados similares al comparar ambas cepas, mientras que los mejores resultados se alcanzaron con *G. fasciculatum* y la fuente amoniacal con 45 kg N.ha⁻¹.

Llonín y col. (1998), realizaron un experimento para conocer sobre el efecto de la aplicación de fuentes y dosis de fertilización fosfórica en presencia o no de micorrizas arbusculares sobre el desarrollo del tomate sobre un suelo Ferrasol, empleando dos fuentes de fósforo (superfosfato simple y fosfato de sodio) y tres dosis de fertilizantes fosfórico (0, 30 y 60 kg P₂O₅.ha⁻¹) con las cepas *Glomus manihotis* y *G. fasciculatum*, mostrando los resultados que hubo un marcado efecto de la aplicación de las distintas dosis de fertilizantes, aumentando la respuesta de la producción a medida que estas se incrementan. Este efecto se vio potenciado con la aplicación de la cepa *G. fasciculatum*, encontrando incrementos en el rendimiento de hasta 25 %.

Al evaluar los contenidos foliares de aminoácidos, nitratos, proteínas y la actividad de las enzimas nitrato reductasa, glutamato sintasa, glutamina sintetasa y glutamato deshidrogenasa en plantas de tomate micorrizadas con *Glomus fasciculatum*, Reynaldo y col. (2000), encontraron mayor acumulación foliar de los mismos con relación al testigo sin inocular, variando dichos contenidos en dependencia de la fuente utilizada: amoniacal o nitrática.

Llonín y col. (2000), estudiando diferentes relaciones de nutrientes N, P y K y la inoculación de dos cepas de HMA (*G. clarum* y *G. fasciculatum*) en fase de campo para determinar su posible potenciación de los rendimientos y la absorción de dichos elementos por las plantas, encontraron incrementos en los contenidos de estos minerales en las plantas, atribuyéndoselos a la eficiencia del endófito arbuscular en la absorción y translocación de éstos, lo que evidencia que los incrementos en los contenidos de N, P y K pueden ser explicados en gran medida por el eficiente funcionamiento de la simbiosis micorrízica.

Empleando un suelo Pardo con Carbonatos para evaluar la efectividad de endomicorrizas arbusculares nativas de la región Bayamo en el cultivo del tomate, Alarcón y col. (1998), encontraron que la cepa *Glomus mosseae* mostró los porcentajes más altos en cuanto a índice de eficiencia micorrízica, relación de

dependencia micorrízica, colonización micorrízica y densidad visual, con valores de 79,34, 385,13, 87,00 y 16,20 %, respectivamente. Esta cepa logró un incremento de un 68,8 % del rendimiento en comparación con el testigo sin aplicación de micorrizas, lo que demostró su elevado grado de infectividad y efectividad simbiótica.

Los resultados obtenidos confirman que la utilización de inóculos micorrízicos es una técnica factible, pero para ello es necesario tener cuidado al definir la dosis a aplicar, la especificidad del hospedero y la eficiencia y respuesta del hongo, ya que estos indicadores se comportan de una manera diferente para cada tipo de suelo, cultivo e, incluso, para variedades diferentes dentro de una misma especie. Rubio y col. (1995) plantean que existen diferentes grados de afinidad entre los HMA y sus hospederos, demostrando la existencia de hongos más eficientes que otros. Reportes científicos similares realizaron Blanco y Salas (1997).

2.2.4 - Coinoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) y hongos micorrízicos arbusculares (HMA).

Las endomicorrizas arbusculares favorecen la proliferación de microorganismos productores de antibióticos y fitohormonas, fijadores de nitrógeno, solubilizadores y mineralizadores de nutrientes e, incluso, de aquellos que se involucran en los procesos de agregación y estabilidad de los suelos. Mediante la red del micelio externo, pueden traslocar de forma más efectiva los productos de la actividad de las rizobacterias cuando se encuentran juntas en la rizosfera de los cultivos, por lo que las inoculaciones mixtas pueden crear interacciones sinérgicas entre los microorganismos biofertilizantes (Siqueira y Franco, 1988; Fitter y Garbage, 1994; Gryndler, 2000).

Pulido y col. (1998), citan a otros autores que estudiaron la influencia de las MA sobre la microflora de la rizosfera y los mecanismos que tienen lugar. Para ello se aplicaron seis cepas de HMA y varios tratamientos con fertilizantes fosfóricos a la raíz de *Leucaena*. Se realizaron, periódicamente, observaciones cualitativas y cuantitativas de la microflora y de los constituyentes de los exudados radicales. Los resultados obtenidos indican que la presencia de la microflora depende de los exudados y no de la nutrición mejorada de fósforo.

Inghan y Molina (1991), señalan que muchas interacciones tienen lugar entre las MA y los microorganismos de la rizosfera y que la respuesta de la planta a MA involucra no sólo al hongo, sino a todos los hongos y bacterias de

"compañía" presentes, estando regida por una serie de mecanismos. Las interacciones pueden ser indirectas, por lo que las correlaciones entre el crecimiento de la colonización de MA y la disminución del crecimiento de la planta, o viceversa, no necesariamente significa que la colonización es perjudicial a la salud vegetal. Por ejemplo, se obtuvo correlación entre la disminución de la colonización del hongo MA *G. microcarpum* y la disminución de las esporas del agente que causa la enfermedad del debilitamiento del tabaco, debido a la aplicación de Benomyl, lo que trajo como consecuencia que los microorganismos que normalmente se alimentan de HMA, se comenzaran a alimentar de hongos patógenos y, como resultado, se pudo observar un aumento en el crecimiento de la planta aunque se reduzcan las MA.

González y col. (2000), indican que, de acuerdo a las experiencias realizadas desde hace unos años en diferentes especies vegetales, se está ensayando la recolonización del sistema radical de la planta con bacterias que promueven el crecimiento de las plantas (RPCV), que incluyen un grupo diverso de bacterias del suelo con formas de vida libre y que podrían estimular el crecimiento de las plantas mediante uno o varios mecanismos. Para potenciar su efecto existe una estimulación directa, a través de la provisión a las plantas de compuestos como nitrógeno fijado, fitohormonas o hierro solubilizado del suelo, y otra indirecta, para la prevención de la aparición de fitopatógenos que inhiben el crecimiento y desarrollo de los cultivos. Debido a la poca movilidad que tienen estos microorganismos, la repoblación de esas zonas hay que hacerla a base de la inoculación del sistema radicular de la planta en los estadios iniciales de crecimiento, "infectando" el sustrato donde se realiza la siembra.

En este sentido, Gianinazzi-Pearson y col. (1982), determinaron que las bacterias de vida libre como *Azotobacter* y *Azospirillum* aumentaron su población en la rizosfera de la planta hospedera al estar micorrizadas las raíces. Al señalar los principales resultados obtenidos en el estudio de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal y su relación con las micorrizas arbusculares, Barea y Azcón-Aguilar (1982), en inoculaciones conjuntas de los microorganismos, encontraron que la infección micorrízica se incrementó con la presencia de *Azotobacter*, mientras que Bashan (1999), se refiere a trabajos realizados con *A. brasilense* y otros microorganismos del suelo.

Existe evidencia de que bacterias promotoras del crecimiento como *Pseudomonas putida* F-44, actúan sinérgicamente con algunas especies de hongos MA; el efecto es mayor si son inoculados simultáneamente en la siembra.

El hongo es favorecido con una mayor producción de esporas, aspecto que podría considerarse en la producción de inoculo de MA (Sieverding, 1991).

Se ha considerado que la producción de sideróforos es un mecanismo de acción de las bacterias promotoras del crecimiento. Actualmente, a los HMA se les involucra en el suplemento de Fe a las plantas y los sideróforos pueden estar participando en la transferencia del elemento a las zonas de absorción de las micorrizas (Azcón-Aguilar y Barea, 1992).

Por otra parte, se han observado interacciones positivas para las plantas entre las bacterias solubilizadoras de P y los hongos MA. Sin embargo, no se sabe si el aumento en el crecimiento es debido a incrementos de la disponibilidad de P solubilizado por las bacterias o es debido a otros mecanismos (Liderman, 1992). En este sentido, ha sido informado por Barea y col. (1975) y Azcón-Aguilar y Barea (1992), que el uso de bacterias solubilizadoras de fósforo (BSF) y su interrelación con las MA resultan de gran beneficio para el crecimiento y desarrollo de las plantas en cultivos tales como tomate, cebolla y cítricos, entre otros. Los estudios de inoculación de estos microorganismos reviste gran interés, ya que estos hongos incrementan el vigor y desarrollo de las posturas, asegurando de esta forma un mayor porcentaje de éxito al transplantarlas, incrementan el sistema radical y de hecho sus capacidades nutricionales y se logra la total implantación de la especie micorrizógena en estas condiciones, manteniéndose su posterior funcionamiento en la etapa de plantación.

Glandorf (1994) y Cuervo y Rivas-Platero (1997), demostraron que la inoculación de *Pseudomonas fluorescens* en tomate estimula la colonización micorrízica en la raíz e incrementa significativamente la producción del cultivo. Por su parte, Guerrero y col. (1996) y Edwards y col. (1998), señalan que las micorrizas podrían captar los iones fosfato que se liberan por acción de las bacterias solubilizadoras de fósforo, debido a la mayor capacidad que poseen para explorar el suelo a través de las hifas. Estos autores indican que la inoculación con *Azotobacter* y *Azospirillum* incrementa los niveles de colonización micorrízica y que las poblaciones de *Pseudomonas fluorescens* aumentan en presencia de los HMA pertenecientes a la especie *Glomus mosseae*.

Son evidentes los efectos beneficiosos que pueden aportar las inoculaciones mixtas al sistema planta-suelo-microorganismo. Sin embargo, esta práctica puede conllevar a la alteración de las poblaciones nativas del suelo por la introducción de una o más especies microbianas en un mismo ecosistema agrícola. Entre las consecuencias inmediatas y a largo plazo se destacan cambios

en la composición de especies microbianas en el suelo y efectos antagónicos entre las poblaciones de dos o más biopreparados (Fernández, 1994).

Parte de los nutrientes absorbidos del suelo son almacenados en la biomasa fúngica. Este almacenamiento es temporal, pero contribuye a la reducción de la inmovilización causada por las reacciones de adsorción por los coloides del suelo, de precipitación y a las pérdidas por lavado. Los HMA, por su pequeña biomasa fúngica y no producir manto, almacenan pequeñas cantidades de nutrientes, más hay indicaciones de que ellos pueden promover un reciclaje interno de los mismos en las raíces a través de conexiones de hifas entre raíces con estadios fisiológicos diferentes, de la misma planta o de plantas diferentes (Siqueira y Franco, 1988; Fernández y col., 1998). Además de este efecto directo sobre el crecimiento de las plantas, el favorecimiento en la absorción de fósforo aumenta el crecimiento de las raíces y la fijación biológica de N_2 en plantas que forman simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno, contribuyendo así a elevar el nivel de otro factor limitante del crecimiento vegetal en la mayoría de los suelos tropicales, que es la disponibilidad de nitrógeno (Siqueira y Franco, 1988).

Arines (1992), hace referencia a trabajos desarrollados por Barea y col. (1975), donde sugieren que una cooperación entre bacterias solubilizadoras de fosfato y HMA sería muy provechosa ya que el fósforo liberado por los primeros sería absorbido por las segundas. Este hecho fue comprobado posteriormente en diversos experimentos.

No obstante, las bacterias solubilizadoras de fosfato tienen un efecto benéfico si actúan en un medio no fijador de fósforo como observaron Piccini y Azcón (1987). Suministrando roca fosfórica como fuente de P, tanto estas bacterias como los HMA, solos o en combinación, mejoraron el crecimiento y nutrición de la alfalfa. En este experimento también se observó que mientras *G. fasciculatum* podía actuar solo, *G. mosseae* necesitó la presencia de la bacteria.

En un estudio para conocer los microorganismos asociados a las paredes del hongo micorrizógeno *G. clarum*, se encontraron diferentes géneros microbianos, donde predominó *Pseudomonas* (Mirabal y col., 2000). Velazco y col. (2000), por otra parte, estudiaron las poblaciones diazotróficas asociadas a las esporas de *Glomus intraradices*, aislando representantes de los géneros *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Herbaspirillum* sp. y *Burkholderia*, variando, en dependencia de cada diazótrofo, su distribución, proporción y población, lo que demuestra una acción selectiva por parte de esta estructura de micorriza arbuscular en la asociación con los diferentes endófitos.

En condiciones experimentales de campo sobre un suelo Ferralítico Rojo compactado se determinó el efecto como bioestimulante para el tomate sembrado fuera de época, de dos especies de bacterias: *Azospirillum lipoferum* y *Azotobacter chroococcum* y tres especies de hongos micorrízicos: *Glomus fasciculatum*, *G. manihotis* y *G. mosseae*, así como un grupo de combinaciones de ellos para formar inóculos mixtos. Los resultados mostraron que, en las condiciones estudiadas, resulta factible la sustitución parcial de la fertilización nitrogenada del cultivo, obteniendo altos niveles de rendimiento y manteniendo las plantas un buen estado nutrimental, mediante la utilización de biofertilizantes suplementados con una baja dosis de fertilizante nitrogenado (30 kg N.ha⁻¹), alcanzando resultados positivos con la combinación entre grupos de microorganismos, por ejemplo, *G. manihotis* + *A. chroococcum* y *G. manihotis* + *A. lipoferum* (Medina y Pino, 1992).

Pérez y col. (1993), determinaron la efectividad de la inoculación con diferentes poblaciones de *Azotobacter* y dos cepas de micorrizas en un suelo Pardo con Carbonatos con la variedad de tomate IS CAB-9. Los datos morfológicos de las plantas y el rendimiento del cultivo demostraron las ventajas del efecto bioestimulante de *Azotobacter* y las cepas de micorrizas del género *Glomus*.

Al estudiar la biofertilización como alternativa para la nutrición mineral del tomate en la etapa de semillero, Medina (1994), logró los mayores incrementos en la variante que disponía de los requerimientos de NPK más el *Azotobacter chroococcum*, aunque fueron inferiores cuando se utilizó el *Azospirillum brasilense* o el hongo *Glomus manihotis*, permitiendo la coinoculación con estos dos últimos microorganismos la sustitución del 50 % del fertilizante requerido en la etapa de plantación.

Okon y Labandera-González (1994), utilizando *Azospirillum brasilense* y *A. lipoferum* en diferentes cultivos, lograron incrementar los rendimientos en el orden de 5 - 30 %, al estimular el desarrollo radical y la toma de agua y nutrientes en los primeros estadios de desarrollo, pudiendo ahorrar hasta 35 % del fertilizante nitrogenado. Por su parte, la asociación o coinoculación de *Azospirillum* con HMA y *Rhizobium* mejoran su estatus de microsimbiantes y potencialmente incrementan su rendimiento.

Hernández y col. (1998a), para complementar la nutrición mineral del tomate, emplearon tres cepas de MVA (*Glomus mosseae*, *G. manihotis* y *G. fasciculatum*) y cinco rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (*Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Azospirillum lipoferum*,

Azospirillum brasilense y *Azotobacter chroococcum*), obteniendo que a los 25 días del semillero, los mayores valores en cuanto a masa seca y fresca, total y foliar, correspondieron a tratamientos inoculados con *G. mosseae*, *G. fasciculatum*, *A. brasilense*, *A. chroococcum*, *G. mosseae* + *P. fluorescens* y *G. mosseae* + *A. brasilense*. Resultados similares informaron Ferrer y col. (1992a), en este mismo cultivo, al estudiar la influencia de varias cepas de hongos MA aplicadas de forma individual y combinada, obteniendo efectos positivos sobre el crecimiento de tres variedades ensayadas.

Terry, Pino y Medina (1998), al estudiar sobre un suelo Ferralítico Rojo la inoculación, de forma independiente y combinada, de *Azospirillum sp.* y *Glomus manihotis* en el cultivo del tomate, lograron los mejores resultados cuando se emplearon los inóculos mixtos, incrementando los rendimientos sin afectar la calidad, pudiendo reducir en un 30 % el fertilizante mineral y logrando que el sistema empleado fuera agronómicamente eficiente.

III - MATERIALES Y METODOS

3.1 – Ubicación y caracterización edafoclimática del área experimental.

El trabajo experimental fue realizado en el período comprendido entre los años 1996 y 2000 en áreas de la UCT "Juan Tomás Roig", perteneciente a la Universidad de Ciego de Ávila (UNICA), situada a 21°47' de latitud Norte y 78°17' de longitud Oeste, sobre un suelo Ferralítico Rojo compactado eútrico, sobre caliza dura, según la Nueva Versión de Clasificación de los Suelos de Cuba (Hernández y col., 1999), que correlaciona con un Rhodic Eustrtox de la Soil Taxonomy (Soil Survey Staff, 1995) y con un Rhodic Ferralsol, de la World Reference Base (Driessen y col., 2001). Sus principales características aparecen reflejadas en la Tabla 2 (a, b y c) y son representativas de las condiciones edáficas de las principales áreas en que se desarrollan los cultivos hortícolas en la provincia.

Tabla 2 – Características del suelo en el horizonte húmico acumulativo (0 – 20 cm)

a) Composición mecánica.

Granulometría (%)				
Arcilla (< 2µm)	Limo (2 – 20 µm)	Limo grueso (20 – 50 µm)	Arena (50 – 200 µm)	Arena gruesa (200 – 2 000 µm)
65,8	6,9	1,7	11,2	14,4

b) Componentes de la fertilidad.

Campaña hortícola	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	P asim. (µg. g ⁻¹)	MO (%)	pH
	(cmol. kg ⁻¹)					
1996-1997	0,38±0,01	9,51±0,06	4,00±0,15	53,00±2,40	2,15±0,03	6,9±0,05
1997-1998	0,47±0,07	10,00±1,25	2,50±0,04	56,00±1,25	2,38±0,09	7,1±0,04
1999-2000	0,43±0,05	9,00±0,25	3,25±0,10	51,00±0,74	2,22±0,01	7,4±0,02

c) Poblaciones microbianas.

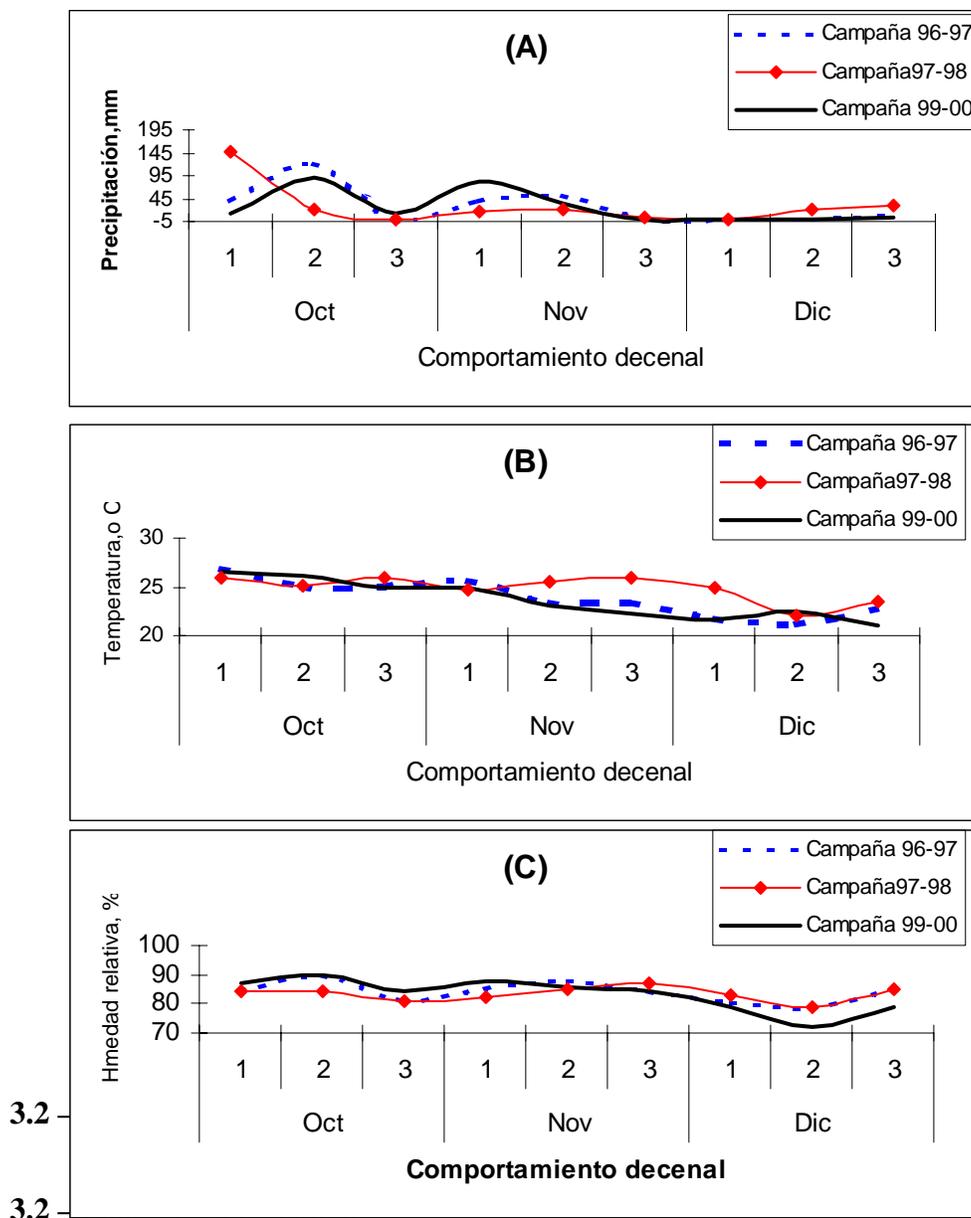
Microorganismo	Población
Microbiota total	8,96 x 10 ⁷ ufc. g ⁻¹ suelo rizosférico
<i>Azospirillum brasilense</i>	3,83 x 10 ⁴ “
<i>Burkholderia cepacia</i>	2,36 x 10 ⁴ “
<i>Azotobacter chroococcum</i>	1,10 x 10 ² “
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2,25 x 10 ³ “
Hongos micorrízicos arbusculares	20 - 50 esporas. 50 g ⁻¹ suelo

Es un suelo arcilloso, con una fertilidad de media a baja, caracterizada por contenidos medios de Ca²⁺ y materia orgánica, disponibilidad media de K⁺

intercambiable y baja de P asimilable y un pH neutro a ligeramente alcalino, que lo diferencia de la mayoría de los suelos Ferralíticos Rojos compactados de Cuba que, según Cabrera (1991), son algo más ácidos. Las poblaciones microbianas son típicas para un suelo sometido a gran explotación agrícola, encontrándose presentes todos los microorganismos que se estudiaron. Integralmente, puede ser evaluado como un suelo apto para la producción de especies hortícolas.

El clima local, de acuerdo a la clasificación de Köppen, se caracteriza por la prevalencia de condiciones tropicales con distribución estacional de la lluvia, clasificando como Tropical húmedo (Aw), que mantiene un régimen relativamente estable de humedad estacional y alta evaporación. El comportamiento de algunas variables climáticas durante el período de desarrollo de los experimentos se refleja en la Figura 1 (A, B y C).

Figura 1 – Valores decenales de algunas variables climáticas preva lentes en el área experimental. (Datos de la Estación Agrometeorológica de la UNICA).



Las investigaciones se organizaron por etapas de desarrollo (semillero y plantación) para los dos cultivos estudiados: tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) cv. Roma VF/ P 73 y cebolla (*Allium cepa* L.) cv. Red creole. En cada cultivo y etapa de desarrollo se evaluaron dos grupos de microorganismos con los que se inocularon las semillas: rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) y

hongos micorrízicos arbusculares (HMA), así como sus coinoculaciones, tal como se detalla a continuación.

3.2. - Evaluación y selección de especies de RPCV y HMA en la etapa de semillero para su empleo como inóculos simples y combinados.

Para cada cultivo se realizaron 5 experimentos, repetidos en tiempo durante las campañas hortícolas 1996-1997 y 1997-1998, donde se evaluaron para selección por mejor efecto en cada cultivo, 4 especies de RPCV y 5 especies de HMA. En la campaña 1997-1998 se estudiaron, además, las inoculaciones simples y combinadas de 3 especies de RPCV con 3 especies de HMA. En todos los experimentos (Tabla 3 a, b y c) se incluyeron una variante sin fertilización mineral y sin inoculación (testigo absoluto) y otra donde sólo se aplicó la fertilización mineral recomendada (testigo de producción). En todos los casos, el diseño experimental utilizado fue de Bloques al Azar con tres réplicas.

Tabla 3 - Tratamientos evaluados para comparar y seleccionar especies en los dos cultivos.

a) Inoculación simple con RPCV.

Tratamiento	Variante
1	Testigo absoluto
2	Testigo de producción
3	<i>Azospirillum brasilense</i>
4	<i>Azotobacter chroococcum</i>
5	<i>Burkholderia cepacia</i>
6	<i>Pseudomonas fluorescens</i>

b) Inoculación simple con HMA.

Tratamiento	Variante
1	Testigo absoluto
2	Testigo de producción
3	<i>Glomus clarum</i>
4	<i>Glomus fasciculatum</i>
5	<i>Glomus mosseae</i> (México)
6	<i>Glomus agregatum</i>
7	<i>Glomus versiculiferum</i> (Canada)

c) Inoculación simple y coinoculación con RPCV y HMA

Tratamiento	Variante	Tratamiento	Variante
1	Testigo absoluto	9	<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i>
2	Testigo de producción	10	<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>
3	<i>G. clarum</i>	11	<i>G. clarum</i> + <i>B. cepacia</i> ¹
4	<i>G. fasciculatum</i>	12	<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i>
5	<i>G. mosseae</i>	13	<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i>
6	<i>A. brasilense</i>	14	<i>G. fasciculatum</i> + <i>B. cepacia</i> ¹
7	<i>A. chroococcum</i>	15	<i>G. mosseae</i> + <i>A. brasilense</i>
8	<i>B. cepacia</i> ¹	16	<i>G. mosseae</i> + <i>A. chroococcum</i>
		17	<i>G. mosseae</i> + <i>B. cepacia</i> ¹

¹ Tratamientos con *B. cepacia* sólo en tomate

Con la excepción de la rizobacteria *Azotobacter chroococcum* (cepa INIFAT 12), con la que se imbibieron las semillas en un soporte líquido con un título de $1,10 \times 10^8$ ufc. mL⁻¹ durante 5 minutos, la inoculación con las restantes especies de microorganismos se realizó por el método de recubrimiento de las semillas (Fernández y col, 2000), aplicando 1,5 g de cada inoculante para 1.5 y 5 g de semillas de tomate y cebolla, respectivamente. Las cepas y títulos de cada inóculo fueron: *Azospirillum brasilense* (Sp 7) = $3,55 \times 10^9$ ufc.g⁻¹; *Burkholderia cepacia* (0057) = $3,24 \times 10^9$ ufc.g⁻¹ y *Pseudomonas fluorescens* (J- 143) = $2,78 \times 10^9$ ufc.g⁻¹, todos en soporte sólido (turba tamizada y estéril). Los hongos MA también se inocularon mediante recubrimiento de las semillas, a una dosis del 10 % de la masa de estas.

Los semilleros se establecieron en el período comprendido entre el 20 y 25 de octubre de cada año, contando cada tratamiento, por parcela, con un área total de 1 m² (área evaluada de 0,25 m²). Las normas de siembra fueron: 1,5 y 5 g.m⁻² de semilla para el tomate y la cebolla, respectivamente, y las posturas se mantuvieron en el cantero durante el número de días establecido en los Instructivos Técnicos de cada cultivo (Cuba.MINAG, 1983; 1984). De igual forma, siguiendo las indicaciones de estos documentos, se realizaron todas las atenciones culturales requeridas. Ningún tratamiento recibió fertilización mineral, excepto el testigo de producción, al cual se le aplicó la dosis recomendada para cada cultivo (Tabla 6).

Como criterio de selección de las posturas se siguieron los índices recomendados en el Instructivo Técnico de cada cultivo (Cuba. MINAG, 1983; 1984), según se refleja en la Tabla 4, sin considerar predominio de un indicador sobre otro.

Tabla 4 – Rangos de valores óptimos de los indicadores de calidad de las posturas para cada especie vegetal.

Indicador	Tomate	Cebolla
Altura (cm)	16 - 20	16 - 18
Longitud radical (cm)	> 10	> 9

3.2.1 - Efectos de la inoculación, simple y combinada, con RPCV y HMA sobre la colonización radical y el estado nutricional de las posturas. A partir de la selección como inoculantes de las especies más efectivas de HMA y RPCV durante los estudios anteriores, se realizaron dos experimentos de campo en la etapa de semillero, en la campaña 1999 - 2000, dirigidos a evaluar los efectos de la inoculación, simple y combinada, con dichos microorganismos sobre la efectividad de la colonización radical y la extracción de nutrientes en las plántulas. En la Tabla 5 se reflejan los tratamientos estudiados, donde se incluyen nuevamente un testigo absoluto (sin fertilización mineral) y una variante donde se aplicó la fertilización mineral recomendada (testigo de producción), ambos sin inoculación. La forma y calidad de la inoculación, el material de siembra y el diseño, características y manejo del área experimental fueron similares a las descritas en el epígrafe 3.2.1

Tabla 5.- Tratamientos evaluados para estudiar el efecto sobre la colonización radical y el estado nutricional de los cultivos.

Tratamiento	Variante
1	Testigo absoluto
2	Testigo de producción
3	<i>Glomus clarum</i>
4	<i>Glomus fasciculatum</i>
5	<i>Azotobacter chroococcum</i>
6	<i>Burkholderia cepacia</i> ¹
7	<i>Azospirillum brasilense</i>
8	<i>G. clarum</i> + <i>Azotobacter chroococcum</i>
9	<i>G. clarum</i> + <i>Burkholderia cepacia</i> ¹
10	<i>G. clarum</i> + <i>Azospirillum brasilense</i>
11	<i>G. fasciculatum</i> + <i>Azotobacter chroococcum</i>
12	<i>G. fasciculatum</i> + <i>Burkholderia cepacia</i> ¹
13	<i>G. fasciculatum</i> + <i>Azospirillum brasilense</i>

¹ Tratamientos con *B. cepacia* sólo en tomate

3.2.2 - Comportamiento de las posturas inoculadas con RPCV y HMA ante diferentes niveles de fertilización nitrogenada y fosfórica, después del trasplante. Las posturas producidas en los experimentos descritos en 3.2.2 , cuando transcurrió el tiempo establecido en los Instructivos Técnicos para cada especie vegetal (Cuba MINAG, 1983; 1984), se trasplantaron y se evaluaron ante 4 niveles de fertilización mineral, tomando como referencia las dosis recomendadas en dichos documentos, variando sólo las cantidades a aplicar de nitrógeno y fósforo, según se muestra en la Tabla 6. Se empleó un diseño experimental de Bloques al Azar con arreglo factorial y tres repeticiones. En la etapa de trasplante las posturas no volvieron a ser inoculadas.

Tabla 6 - Dosis de fertilización mineral recomendadas y evaluadas.

Cultivo	Dosis recomendadas, kg.ha ⁻¹		
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Tomate	150	94	125
Cebolla	140	90	125
Nivel	% de la dosis recomendada		
N ₁	50	50	100
N ₂	100	50	100
N ₃	50	100	100
N ₄	100	100	100

Las fuentes de nutrientes utilizadas en la fertilización fueron: urea (46% N), superfosfato triple (46% P₂O₅) y cloruro de potasio (60% K₂O). El N se aplicó de forma fraccionada (2/3 en el momento del trasplante y 1/3 a los 30 días después de efectuado el mismo), mientras que los restantes nutrientes se aplicaron de fondo al momento del trasplante. Se utilizó un nivel fijo de K en todos los tratamientos. Cada variante se evaluó en parcelas de 16,8 m² (5 surcos), con 8,4 m² como área de cálculo (3 surcos centrales), empleando los marcos de plantación 1,40 x 0,30 m para el tomate y 0,70 + 0,20 x 0,10 m para la cebolla. Las atenciones culturales realizadas en la etapa posterior al trasplante también se realizaron de acuerdo a lo recomendado en los respectivos Instructivos Técnicos.

3.3 - Evaluaciones realizadas.

1. **Análisis de suelo:** El muestreo de suelo se realizó con barrena edafológica antes de comenzar cada etapa. El método utilizado fue en “forma de sobre”, tomándose 5 submuestras en los primeros 20 cm de profundidad del perfil y conformando una muestra compuesta representativa de cada réplica por tratamiento. El suelo fue secado al aire, molinado y tamizado por malla de 2 mm. Las evaluaciones realizadas fueron:

- materia orgánica (%): por el método de Walkley and Black
- pH (H₂O): por el método potenciométrico, con una relación suelo: solución 1: 2,5
- P asimilable (µg. g⁻¹): mediante extracción con H₂SO₄ 0,1 N, con relación suelo: solución 1:2,5
- K, Ca y Mg intercambiables (cmol.kg⁻¹): mediante extracción con NH₄Ac 1N a pH 7 y determinación de K por fotometría de llama y Ca y Mg por complexometría
- análisis textural del suelo: según la metodología descrita por Kachinski (1984)

Todas las técnicas se encuentran descritas en el Manual de Técnicas Analíticas para el Análisis de Suelo, Foliar, Abonos Orgánicos y Fertilizantes Químicos (INCA, 1999).

2. **A las plantas:** en el semillero, al momento del trasplante de las posturas, evaluando los siguientes indicadores:

- altura (cm): con regla graduada, a los 25 y 55 días después de germinada las semillas de tomate y cebolla, respectivamente, midiendo desde el cuello de la raíz hasta la axila de la hoja más joven, a 20 plantas por réplica de cada tratamiento
- longitud radical (cm): con regla graduada. a la raíz principal (tomate) y al grupo de raíces (cebolla), a los 25 y 55 días después de germinada las semillas de tomate y cebolla, respectivamente, a 20 plantas por réplicas de cada tratamiento
- masa fresca y seca total (t.ha⁻¹): por pesada y secado en estufa a 65 °C hasta masa constante, a 2 muestras por réplica de cada tratamiento, compuestas cada una por 10 plantas y extrapolando los resultados a 1 ha de semillero

- contenidos de N, P y K (%): por digestión húmeda con H_2SO_4 + Se, según método Kjeldahl y determinación colorimétrica con el reactivo de Nessler y azul de molibdeno para N y P, respectivamente, y fotometría de llama para el K, a 2 muestras por réplica de cada tratamiento, compuestas cada una por 10 plantas
 - extracción de N, P y K ($\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$): por cálculo a partir de la masa seca y los contenidos de cada nutriente, por réplica de cada tratamiento
 - rendimiento en cosecha ($\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}$): por pesada de la producción total del área de cálculo, extrapolando a 1 ha
 - calidad de los frutos: a 20 frutos de tomate y 20 bulbos de cebolla, por réplica de cada tratamiento, se les determinaron los contenidos de:
 - sólidos solubles (%): por el método refractométrico
 - vitamina C ($\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$): por el método de Murri, valorando con 2,6- diclorofenol indofenol
 - acidez (%): por valoración con NaOH 0,1 N, utilizando fenolftaleína como indicador
3. **Análisis microbiológicos:** al finalizar la etapa de semillero, evaluando los siguientes indicadores:
- colonización micorrízica (%): tomando muestras de raicillas de 20 plantas por tratamiento y aplicando la metodología descrita por Phillips y Hayman (Herrera y col., 1995) para clarificar y teñir las raicillas
 - masa de endófito arbuscular ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ suelo rizosférico): según la metodología descrita por Herrera y col. (1995)
 - poblaciones bacterianas en la rizosfera ($\text{ufc}\cdot\text{g}^{-1}$ suelo rizosférico): según los métodos convencionales (Bashan y col., 1996), utilizando los medios de cultivos y condiciones de incubación descritos en la Tabla 7.

Tabla 7 – Medios de cultivos y condiciones de incubación utilizados.

Género	Medio de cultivo	Tiempo y temperatura de incubación	Referencias
Microbiota total	Agar nutriente	24 h – 30 ⁰ C	Harrigan y Mac Cance, 1968
<i>Azotobacter</i>	Ashby	24 h – 30 ⁰ C	Subba Rao, 1982
<i>Azospirillum</i>	Nfb	96 h – 37 ⁰ C	Day y Döbereiner, 1976
	Rojo congo	72 h – 37 ⁰ C	
<i>Pseudomonas</i>	King B	24 h – 28 ⁰ C	King y col., 1954
<i>Burkholderia</i>	King B	24 h – 40 ⁰ C	

3.4 - Validación de los resultados experimentales en condiciones de producción.

Los tratamientos seleccionados en el estudio descrito en el epígrafe 3.2.2 se evaluaron también en condiciones de producción. Los correspondientes a la etapa de semillero fueron establecidos sobre una superficie de 1 ha en dos sitios: Finca “El Lenin” de la Empresa Municipal de Suministros Agropecuarios y la UBPC “24 de Febrero” de la ECV “Juventud Heroica”, ambas en la provincia Ciego de Ávila; en esta última se realizó el trasplante de las posturas ocupando 5 ha para cada cultivo.

En la etapa de semillero no se aplicaron fertilizantes minerales, mientras que en la de trasplante se garantizó el 100 % de las dosis recomendadas por la producción de N, P y K, realizando dicha labor conforme a lo establecido en los respectivos Instructivos Técnicos. En ambos sitios los suelos existentes se clasifican también como Ferralíticos Rojos compactados, eútricos.

3.5 - Análisis estadísticos.

Todos los resultados experimentales fueron sometidos a Análisis de Varianza según el diseño experimental empleado y, en los casos que existieron diferencias significativas entre las medias de tratamientos, se utilizó como criterio discriminante la prueba de rangos múltiples de Duncan, según Lerch (1977). Los datos originales correspondientes a las variables: población de cada rizobacteria (ufc.g^{-1} sr) y colonización micorrízica (%) fueron transformados con las funciones $\log x$ y $\arcsen \sqrt{\%}$, respectivamente, para el posterior análisis de varianza.

En el procesamiento de toda la información fue utilizado el paquete de análisis estadístico STATISTICA versión 6.0 sobre Windows.

Los niveles críticos para las variables microbiológicas se calcularon según el procedimiento matemático descrito por Cate y Nelson (1971), considerando al Valor Relativo del indicador evaluado (altura, longitud radical o rendimiento), como la relación entre el valor obtenido del indicador referido por tratamiento y el mayor valor de dicho indicador multiplicado por 100.

3.6 - Evaluación económica.

La valoración económica de los resultados para la etapa de semillero (mejores tratamientos en cada cultivo) se realizó según la metodología propuesta por la FAO (1980), evaluando los siguientes indicadores:

- valor de venta (\$· ha⁻¹): según el precio de venta de las posturas, multiplicado por el número de posturas producidas equivalente a una hectárea de semillero
- costo de producción (\$· ha⁻¹): según los gastos incurridos para la producción de 1 ha de semillero
- beneficio (\$· ha⁻¹): según la ganancia neta obtenida de acuerdo a la diferencia entre el valor de venta de las posturas y los costos de producción
- relación B/C¹: cociente obtenido de dividir el beneficio entre el costo de producción. Valores de la relación beneficio / costo mayores a 1 indican el aporte de ganancia y un valor de 2 la obtención de un beneficio del 100 %. Valores de 3 o superiores corresponden a ganancias muy notables (FAO, 1980).

Para el cálculo de estos indicadores, se utilizó como información básica:

- 1) Precio de los fertilizantes minerales (\$· t⁻¹), según Dirección de Cultivos Varios, Ciego de Ávila. (Cuba. MINAG, 2001a).
 - Urea..... 273,40
 - Superfosfato triple.....264,41
 - KCl.....162,20
- 2) Precio de venta de 1000 posturas (\$), según Listado Oficial de Precios (Cuba. MINAG, 2001 b).
 - Tomate..... 15,00
 - Cebolla..... 30,00

- 3) Precio de venta de los inóculos microbianos (\$· kg⁻¹), según Listados de Precios del INCA (2000) y el INIFAT (Cuba. MINAG, 2000)
- Azospirillum brasilense*..... 20,00
 - Burkholderia. cepacia*..... 36,00
 - Azotobacter chroococcum*..... 3,50
 - EcoMic (hongos MA)..... 2,50
- 4) Costo de producción de 1 ha de semillero (\$), según Dirección Nacional de Cultivos Varios (Cuba. MINAG , 2001c)
- Tomate..... 4 548,00
 - Cebolla..... 6 758,00

IV - RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 - Evaluación y selección de especies de RPCV y HMA en la etapa de semillero para su empleo como inóculos simples y combinados.

4.1.1 - Efectos de las RPCV sobre el crecimiento de las posturas.

Tomate. Los efectos de la inoculación con rizobacterias sobre la altura y la longitud radical de las posturas, en las 2 campañas estudiadas, se muestran en la Figura 2.

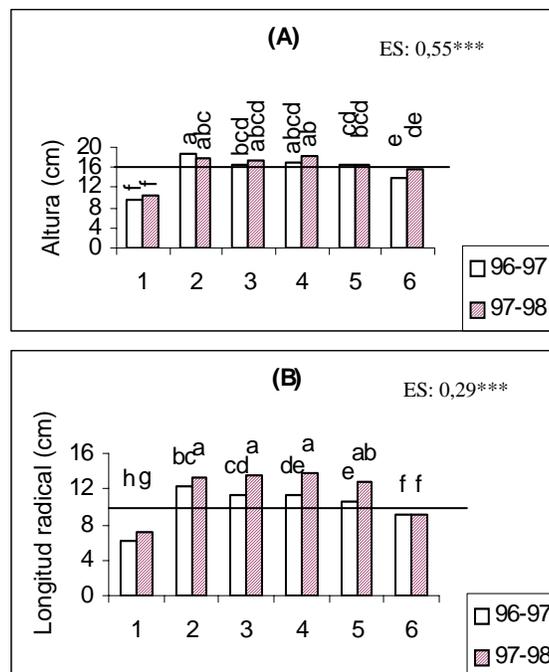


Figura 2 - Crecimiento vegetativo de plántulas de tomate inoculadas con diferentes RPCV en dos campañas hortícolas.

1: T. absoluto; 2: T. producción; 3: *A. brasilense*; 4: *A. chroococcum*; 5: *B. cepacia*; 6: *P. fluorescens*.

Letras comunes no difieren a $p < 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Duncan.

Dentro de los tratamientos que proporcionaron posturas de calidad en cuanto a la altura (Figura 2A) – valores iguales o superiores al valor mínimo del rango óptimo del indicador (Tabla 4), señalado por la línea horizontal en cada figura -, se encuentran aquellos en que se inoculó con las rizobacterias *A. chroococcum*, *A. brasilense* y *B. cepacia*, no ocurriendo así cuando se utilizó *P. fluorescens* en la primera campaña, mientras que en la segunda campaña las posturas obtenidas a partir de semillas inoculadas con esta última rizobacteria no se diferenciaron estadísticamente de aquellas inoculadas con *A. brasilense* y *B. cepacia*.

Las longitudes radicales de las posturas que se lograron con los tratamientos inoculados con las RPCV *A. brasilense*, *A. chroococcum* y *B. cepacia* estuvieron por

encima del límite mínimo establecido como adecuado (Figura 2B), mientras que aquellas inoculadas con *P. fluorescens*, en ambas campañas, no superaron dicho límite.

Aunque al inocular con las rizobacterias más destacadas se obtuvieron posturas de adecuada calidad, tanto la altura como la longitud radical resultaron estadísticamente similares o inferiores al crecimiento provocado por la fertilización mineral (testigo de producción) en cada campaña, tratamiento con el que siempre se obtuvieron posturas que reunieron las características exigidas para considerarlas óptimas, según ambos indicadores evaluados.

Por otra parte, los resultados que se alcanzaron con los testigos absoluto y de producción evidenciaron la necesidad de suministrar, mediante la fertilización mineral, los nutrientes requeridos para obtener posturas de calidad. Dichos resultados también pusieron de manifiesto el efecto favorable que se obtuvo al realizar inoculaciones, sin fertilización mineral, con las RPCV evaluadas. Esto último indicó, además, que las poblaciones nativas de dichos microorganismos no fueron capaces de favorecer el crecimiento de las posturas.

Los incrementos obtenidos en los valores de ambos índices de crecimiento demostraron que todos los tratamientos inoculados con RPCV superaron al testigo absoluto, según se muestra en la Tabla 8, con valores de incremento para la altura que estuvieron en el rango de 46,04 a 78,89 %, mientras que para la longitud radical dichos valores oscilaron entre 28,35 y 91,20 %.

Tabla 8.- Incrementos en altura y longitud radical de las posturas de tomate al inocular con diferentes RPCV en dos campañas hortícolas.

Tratamientos	Altura (%)		Longitud radical (%)	
	Campaña 96-97	Campaña 97-98	Campaña 96-97	Campaña 97-98
T. absoluto	-	-	-	-
T. producción	96,88	75,80	96,63	84,78
<i>A. brasilense</i>	73,96	67,71	82,99	87,71
<i>A. chroococcum</i>	78,44	78,89	80,04	91,20
<i>B. cepacia</i>	70,94	61,76	68,38	78,77
<i>P. fluorescens</i>	46,04	51,02	44,62	28,35

Cebolla. En la Figura 3 se muestran los efectos de la inoculación con rizobacterias sobre la altura y la longitud radical de las posturas de cebolla, en las 2 campañas estudiadas. Para ambas, los tratamientos que proporcionaron posturas

de adecuada calidad en cuanto a la altura (Figura 3A) fueron el testigo de producción y aquellos inoculados con *A. chroococcum* y *A. brasilense*, destacándose que, con esta última, se lograron posturas de menor altura. Ningún tratamiento produjo en la primera campaña un crecimiento radical tal que alcanzaran el límite mínimo del rango establecido como adecuado (Figura 3B). Ya en la segunda campaña, tanto el testigo de producción como la inoculación con las RPCV *A. brasilense*, *A. chroococcum* y *B. cepacia* proporcionaron un crecimiento adecuado de las raíces.

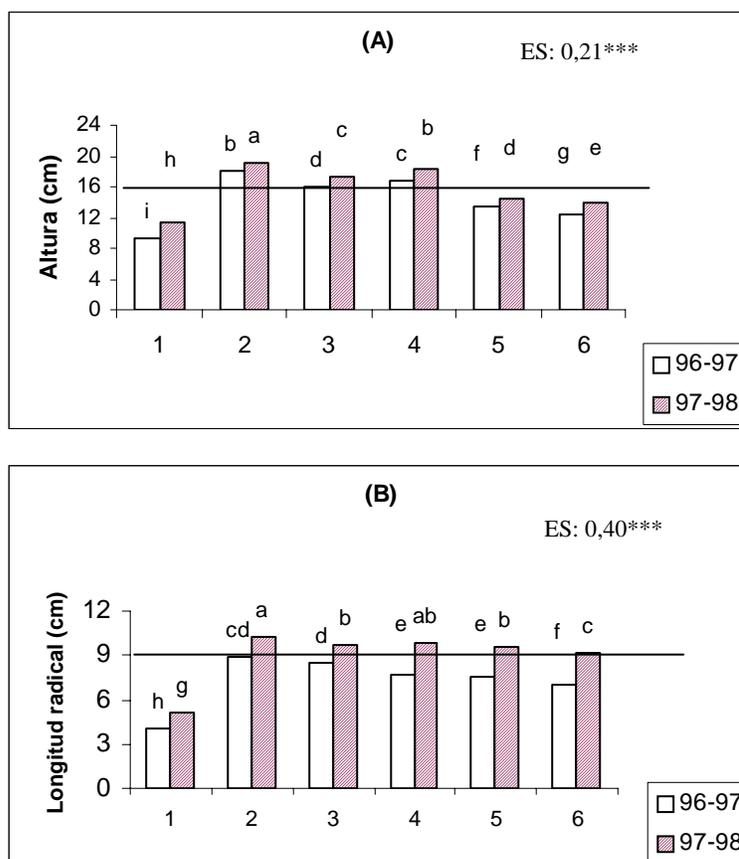


Figura 3 - Crecimiento vegetativo de plántulas de cebolla inoculadas con diferentes RPCV en dos campañas hortícolas.

1: T. absoluto; 2: T. producción; 3: *A. brasilense*; 4: *A. chroococcum*; 5: *B. cepacia*; 6: *P. fluorescens*.

Letras comunes no difieren a $p < 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Duncan.

Los incrementos del crecimiento provocados por las diferentes RPCV en la altura y la longitud radical de las plantas de cebolla en dos campañas hortícolas se presentan en la Tabla 9 y permiten apreciar que, para el primer indicador evaluado, los valores respecto al testigo absoluto fueron superiores entre 22,15 y 80,86 %, mientras que la longitud radical aumentó en valores comprendidos entre 70,73 y 106,34 %.

Tabla 9 - Incrementos en altura y longitud radical de las posturas de cebolla al inocular con diferentes RPCV en dos campañas hortícola.

Tratamientos	Altura (%)		Longitud radical (%)	
	Campaña 96-97	Campaña 97-98	Campaña 96-97	Campaña 97-98
T. absoluto	-	-	-	-
T. producción	94,95	67,25	117,07	100,98
<i>A. brasilense</i>	72,58	51,14	106,34	90,78
<i>A. chroococcum</i>	80,86	61,56	87,80	94,12
<i>B. cepacia</i>	43,12	25,48	82,93	88,24
<i>P. fluorescens</i>	31,94	22,15	70,73	79,22

Los resultados obtenidos evidencian que el suministro de nutrientes mediante la fertilización mineral o la inoculación con las rizobacterias ensayadas, promovieron el crecimiento y desarrollo de las posturas, aún cuando en ocasiones, estas no alcanzaron las dimensiones requeridas para considerarlas adecuadas.

Los efectos de las diferentes rizobacterias sobre el crecimiento y desarrollo de especies hortícolas, han sido señalados por diferentes autores. Así, Martínez y col. (1988), al inocular semilleros de tomate con *Azotobacter*, con aplicaciones de fertilizantes químicos, encontraron estimulación de la germinación de las semillas y del desarrollo de las posturas, lo que les permitió lograr mayor número de plantas con igual cantidad de semillas que las que no se inocularon y acortar el periodo o etapa de semillero en comparación con la no inoculación. En otras investigaciones sobre distintos suelos cubanos, dirigidas a conocer el efecto de la inoculación con diferentes cepas de *Azotobacter* sobre el desarrollo de plántulas de ocho variedades de tomate, luego de realizada la fertilización mineral, se evidenció una marcada estimulación del crecimiento, que se manifestó en incrementos entre 30 y 100 % para la altura de las plantas y el diámetro del tallo, entre 20 y 50 % para el número de hojas y entre 35 y 50 % para la masa seca; el tiempo necesario para el trasplante se acortó entre 7 y 10 días, con el consiguiente ahorro de agua,

plaguicidas y mano de obra (Martínez y col, 1993). Resultados similares informan Calderón y col. (2000), cuando al realizar estudios en la microbiota de la rizosfera de tomate y pepino en agroecosistemas de Sabaneta, aislaron cepas de bacterias solubilizadoras de fósforo y al inocular a estas, junto a cepas autóctonas y comerciales de *Azotobacter*, con la aplicación de fertilizantes minerales, observaron la influencia positiva de estos biofertilizantes sobre la germinación, el crecimiento, el desarrollo y en los rendimientos agrícolas de ambos cultivos.

Los resultados anteriormente referidos fueron obtenidos en presencia de un nivel nutricional garantizado por medio de la fertilización mineral, lo que unido a las diferencias edafoclimáticas, varietales y tal vez de manejo entre dichos resultados y los de este estudio, pudiesen ser las causas de las diferencias encontradas.

La estimulación del crecimiento de las plantas que provocan las RPCV se ha atribuido a diferentes mecanismos de acción. Gould (1990), atribuye el efecto benéfico de las RPCV a la producción de fitohormonas tales como auxinas, citoquininas y giberelinas, contribuyendo al desarrollo de las plantas en diferentes especies vegetales, al influir sobre el metabolismo de las mismas, conllevando a variaciones en su crecimiento y desarrollo, tanto por inhibición como por promoción (Nieto y Frankenberger, 1990). Efectos similares reporta Watt (1993), al señalar que este grupo de microorganismos provocan el aumento en la absorción de agua y nutrientes por diferentes vías o mecanismos.

Bashan y Levanony (1990), para explicar el incremento en el desarrollo de las plantas, se refieren a la hipótesis aditiva, la cual plantea que, probablemente, más de un mecanismo está involucrado en la asociación, los que operan simultáneamente o en sucesión, ya sea en el aumento de la toma de agua y nutrientes, en la producción de fitohormonas y en el control biológico de fitopatógenos. En este sentido Dibut y col. (1992b), Martínez (1994) y Acosta y col. (1994), atribuyen el adecuado vigor manifestado por las posturas de cebolla inoculadas con *A. chroococcum*, al aporte de sustancias bioestimuladoras del crecimiento tales como citoquininas, auxinas, giberelinas, aminoácidos y vitaminas, lo que permite la aceleración del desarrollo de las posturas. Mas recientemente, Terry y col. (1996a), plantearon que estos microorganismos ejercen su efecto, fundamentalmente, por medio de la fijación del N₂ atmosférico, la producción de fitohormonas, enzimas y la mineralización de nutrientes.

Hernández (1998), refiere que la influencia de la inoculación en el desarrollo y funciones de la raíz, es probablemente uno de los factores de mayores beneficios para los cultivos, pudiendo desempeñar un papel rector en este efecto la producción

de sustancias reguladoras del crecimiento por las especies inoculadas o por las propias raíces, como una reacción a la colonización bacteriana. En este sentido, las especies utilizadas para la obtención de inoculantes microbianos producen auxinas del tipo AIA, las cuales podrían estar involucradas en los resultados obtenidos. Velázquez y col. (1999) y Pazos (2000), encontraron que *B. cepacia* 0057 y *A. brasilense* Sp 7 producían 20,1 y 11,92 $\mu\text{g. ml}^{-1}$ de AIA, respectivamente.

En los resultados obtenidos y para ambas especies hortícolas se encontraron diferencias de comportamiento entre campañas. En el caso del tomate, referidas a la longitud radical y en la cebolla para los dos indicadores evaluados. Dada la igualdad en las características del suelo de las áreas experimentales (Tabla 2 b), esto pudiera estar relacionado con la interacción entre las condiciones climáticas, la especie vegetal y las RPCV utilizadas.

Así, en la primera campaña, las precipitaciones caídas durante noviembre duplicaron a las correspondientes a este mes en el segundo año (Figura 1A). Esto pudo haber ocasionado exceso de humedad y defecto de oxígeno en el semillero. La cebolla, al ser más susceptible a estas condiciones se vio más afectada que el tomate, lo que se reflejó en el crecimiento de la misma; por otro lado, las temperaturas medias del mes mencionado fueron superiores en el segundo año (Figura 1 B) lo que pudo haber propiciado un mayor crecimiento del cultivo.

Para el tomate, las rizobacterias más promisorias resultaron ser *A. chroococcum*, *A. brasilense* y *B. cepacia*; mientras que para la cebolla siempre lo fue *A. chroococcum* y, de forma inestable, *A. brasilense*.

Estudios realizados por diferentes autores han demostrado la interacción existente entre los exudados radicales del tomate y las especies *A. brasilense* y *A. chroococcum* (Terry y col., 1996a, b; Lara, 1999; Ramírez, 2001). Los resultados de estas investigaciones corroboran la importancia de los estudios de la especificidad planta- microorganismos con vista a obtener efectos benéficos en plantas. Asimismo, Dibut (2000), señaló la interacción existente entre *A. chroococcum* y la cebolla

En diferentes investigaciones se ha demostrado que *P. fluorescens* J-143 produce metabolitos activos que estimulan de forma directa y/o indirecta el crecimiento vegetal; entre ellos se destacan el AIA (14,60 $\mu\text{g. ml}^{-1}$), sideróforos (31,55 μm) y el ácido salicílico (17,20 $\mu\text{g. ml}^{-1}$) (Hernández, 1998; Hernández y col., 1999a). Informes realizados por Méndez y col. (1992); Hernández y col. (1995) y Almaguer y col. (1996), evidenciaron la efectividad de *P. fluorescens* en la estimulación del crecimiento vegetal en cultivos de importancia económica, entre los

que se encuentran el maíz y el tomate. Los resultados obtenidos difieren de los alcanzados por estos autores, pues en las condiciones en que se realizó este estudio, para ambas especies vegetales, la respuesta a la inoculación con *P. fluorescens* fue limitada. Este comportamiento podría estar relacionado con la baja disponibilidad fosfórica del suelo (Tabla 1 b), lo que unido a que no se aplicó fertilizante nitrogenado y el relativamente bajo contenido de materia orgánica del suelo, pudo haber provocado un desequilibrio en la relación N:P, que convirtió al N en un nutriente limitante para la nutrición del cultivo. Esto traería como consecuencia un efecto desfavorable que incide de modo adverso en el crecimiento y desarrollo de las plantas y en la exudación de compuestos específicos requeridos por *P. fluorescens* para la asociación.

Marschner y Dell (1995) argumentaron que la exudación es una estrategia de las plantas que estimula la actividad de los microorganismos del suelo provechosos para las mismas; a su vez los microorganismos mejoran el estado nutricional de las plantas, pudiendo ser capaces de modificar los exudados que estas producen para favorecer y seleccionar a las bacterias que más contribuyan a su desarrollo. Siguiendo estos mismos criterios, informan resultados similares Velázquez y col. (1999) y Knee y col. (2001). De forma similar, Margallo y col. (2001) plantearon que la mayor o menor eficiencia en la asociación entre una bacteria y una especie vegetal determinada depende de varios factores, entre los que se destacan la propia especie de planta, sus condiciones de crecimiento o estado fisiológico y las condiciones ambientales como temperatura, radiación solar, contenido de nutrientes en el suelo, todo lo cual trae como consecuencia que se puede modificar la producción de exudados radicales y, por tanto, haber más influencia sobre una especie microbiana dada que sobre otra. Todos los argumentos expuestos anteriormente permiten explicar el comportamiento diferente manifestado por *B. cepacia* en ambas especies hortícolas.

4.1.2 – Efectos de los HMA sobre el crecimiento de las posturas.

Tomate. En la Figura 4 se muestran los efectos de la inoculación con hongos MA sobre la altura y la longitud radical de las posturas en las 2 campañas estudiadas.

Los tratamientos que proporcionaron posturas de calidad en cuanto a la altura, en las 2 campañas (Figura 4 A), fueron aquellos en que se inoculó con las especies *G. clarum*, *G. fasciculatum* y *G. mosseae*. Las especies *G. agregatum* y *G.*

versiculiferum no proporcionaron incrementos en la altura de las plantas de modo que superaran el límite inferior establecido.

Por otra parte, todos los tratamientos inoculados con HMA produjeron una longitud radical en las posturas comprendida dentro del rango establecido como adecuado (Figura 4 B), destacándose que *G. agregatum* y *G. versiculiferum* fueron las que en menor medida incrementaron este indicador.

Complementariamente, a partir de los resultados alcanzados por ambos testigos, quedó evidenciada la necesidad de suministrar los nutrientes requeridos para obtener posturas de calidad así como el efecto favorable que ejercieron las inoculaciones con HMA en ausencia de fertilización mineral. Esto último también indica que las poblaciones nativas de estos hongos, en caso de existir, no fueron capaces de garantizar el adecuado crecimiento de las posturas.

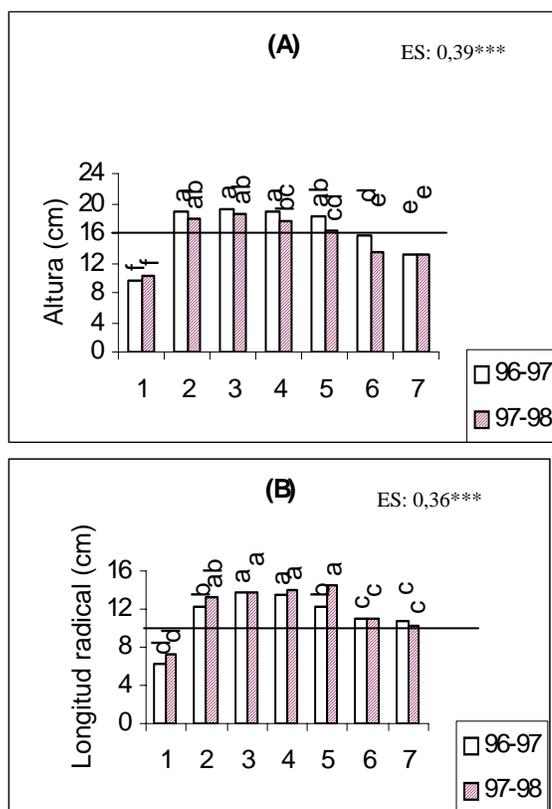


Figura 4 – Crecimiento vegetativo de plántulas de tomate inoculadas con diferentes HMA en dos campañas hortícolas.

1: T. absoluto; 2: T. producción; 3: *G. clarum*; 4: *G. fasciculatum*; 5: *G. mosseae*; 6: *G. agregatum*; 7: *G. versiculiferum*.

Letras comunes no difieren a $p < 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Duncan

Los incrementos en altura de las plantas y longitud radical por efecto de la inoculación con HMA se muestran en la Tabla 10, con valores para todos los tratamientos inoculados muy superiores al correspondiente al testigo absoluto, con incrementos en la altura de las plantas que oscilaron, para ambas campañas, entre 26,63 y 101,36 %, mientras que para la longitud radical los valores se encontraron entre 41,62 y 119,74 %. En relación con el testigo de producción, con las especies de hongos MA más destacadas se obtuvieron, por lo general, posturas con alturas iguales o inferiores al valor de este, mientras que el crecimiento radical proporcionado por dichas especies resulto igual o superior a dicho testigo.

Tabla 10- Incrementos en altura y longitud radical de las posturas de tomate al inocular con diferentes HMA en dos campañas hortícolas.

Tratamientos	Altura (%)		Longitud radical (%)	
	Campaña 96-97	Campaña 97-98	Campaña 96-97	Campaña 97-98
T. absoluto	0,00	0,00	0,00	0,00
T. producción	97,49	75,80	96,63	84,78
<i>G. clarum</i>	101,36	80,10	119,74	93,44
<i>G. fasciculatum</i>	98,54	70,54	116,69	97,07
<i>G. mosseae</i>	89,45	59,84	95,99	101,26
<i>G. agregatum</i>	64,37	30,18	77,69	54,61
<i>G. versiculiferum</i>	36,68	26,63	73,35	41,62

Cebolla. Los efectos de la inoculación con hongos MA sobre los índices de crecimiento en posturas de cebolla, en ambas campañas, se presentan en la Figura 5.

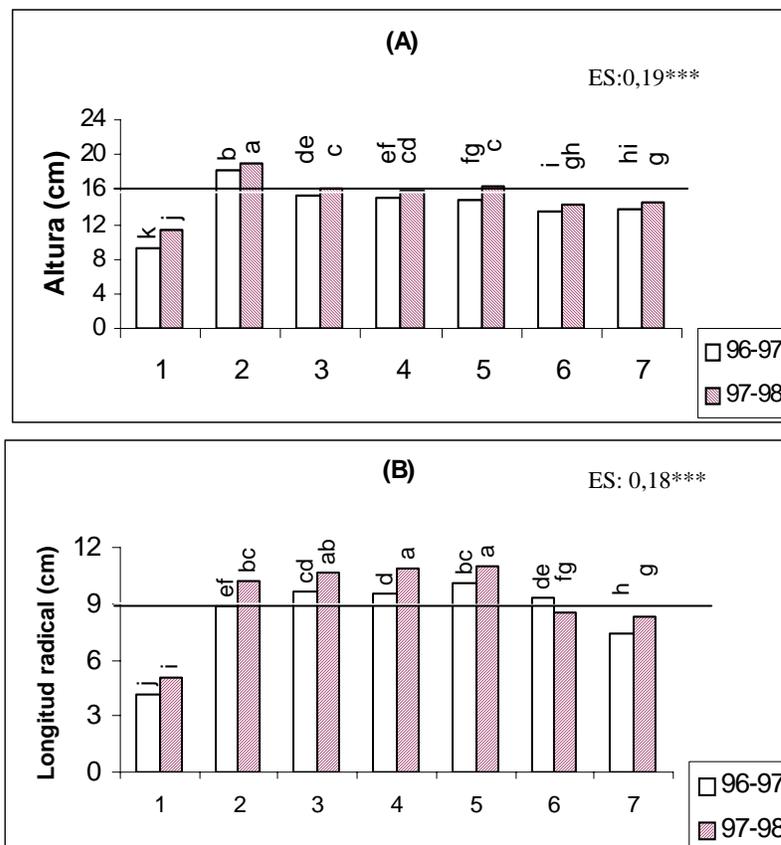


Figura 5 – Crecimiento vegetativo de plántulas de cebolla inoculadas con diferentes HMA en dos campañas hortícolas.
 1: T. absoluto; 2: T. producción; 3: *G. clarum*; 4: *G. fasciculatum*; 5: *G. mosseae*;
 6: *G. agregatum*; 7: *G. versiculiferum*.
 Letras comunes no difieren a $p < 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Duncan.

En la primera campaña, sólo en el tratamiento testigo de producción se lograron obtener posturas con valores de altura (Figura 5 A) superiores al límite inferior definido en el Instructivo Técnico del cultivo (Cuba.MINAG, 1984), mientras que en la segunda campaña tuvieron resultados favorables el tratamiento mencionado y los inoculados con *G. clarum*, *G. fasciculatum* y *G. mosseae*, resaltando que en los tres últimos casos, la altura alcanzada estuvo en un entorno cercano al límite inferior de dicho rango.

Con la excepción del tratamiento que se inoculó con el hongo MA *G. versiculiferum*, en los restantes se logró alcanzar una longitud radical que satisfizo la referencia mínima establecida (Figura 5 B).

En la Tabla 11 se presentan los incrementos en altura y longitud radical de las posturas de cebolla durante las dos campañas por efecto de las diferentes especies de HMA, apreciándose que la inoculación con estos microorganismos

provocó aumentos de altura que oscilaron entre 26,97 y 65,70 %, mientras que la longitud radical fue superior en todas las plantas inoculadas con HMA al compararlas con el testigo absoluto, superando algunos de estos hongos al testigo de producción. Los valores de incremento entre las diferentes especies de HMA oscilaron entre 62,75 y 146,34 % respecto al testigo absoluto.

Tabla 11- Incrementos en altura y longitud radical de las posturas de cebolla al inocular con diferentes HMA en dos campañas hortícolas.

Tratamientos	Altura (%)		Longitud radical (%)	
	Campaña 96-97	Campaña 97-98	Campaña 96-97	Campaña 97-98
T. absoluto	0,00	0,00	0,00	0,00
T. producción	94,95	67,25	117,07	100,98
<i>G. clarum</i>	65,70	41,42	136,59	109,02
<i>G. fasciculatum</i>	62,37	38,97	131,71	113,73
<i>G. mosseae</i>	58,06	42,12	146,34	116,08
<i>G. agregatum</i>	43,87	24,17	126,83	68,04
<i>G. versiculiferum</i>	47,20	26,97	80,49	62,75

Nuevamente, al comparar los valores alcanzados por dichos testigos, se evidenció la necesidad de suministrar nutrientes, mediante la fertilización mineral, para obtener posturas de calidad o, en su defecto, realizar inoculaciones con las especies de HMA que manifestaron mejor efecto. Los resultados indicaron también que las inoculaciones con HMA promovieron, en todos los casos, el crecimiento y desarrollo de las posturas, aún cuando no siempre se logran alcanzar las dimensiones requeridas para considerarlas con un vigor adecuado.

Dentro de la información científica relacionada con el efecto de los hongos MA sobre el crecimiento de diferentes cultivos de importancia económica se encuentra, entre otros, el trabajo realizado por Medina y Pino (1992) quienes confirmaron el efecto beneficioso de los HMA sobre la producción de tomate al observar que resultaba factible la sustitución de la fertilización nitrogenada establecida para el cultivo en más de un 80 % mediante la inoculación con la especie *Glomus mosseae* en la fase de semillero.

Pulido y Peralta (1996b) hallaron que la inoculación con HMA del tomate en fase de semillero permitía disminuir en 50 % las aplicaciones de fósforo sin afectaciones en la calidad de las posturas desarrolladas en un suelo Ferralítico Rojo.

Poss y col. (1985) señalan que plantas de cebolla inoculadas con HMA en suelos salinos, deficientes de fósforo, mostraron un incremento en el crecimiento y el mejoramiento de la concentración de este nutriente y del total del ión absorbido. En este estudio, relacionado con la interacción MA-salinidad, era esencial conocer si la influencia de estos hongos en la absorción del fósforo era el mecanismo primario por el cual es capaz de incrementar la tolerancia del cultivo al estrés salino.

También en cebolla, Ragland y col. (1989) observaron que las plantas inoculadas en semillero con hongos micorrizógenos, de forma individual, registraron las mayores producciones de bulbos, siendo estas significativamente superiores a aquellas de los tratamientos no inoculados. Un aumento en la actividad fisiológica de la planta y un mayor porcentaje de infección fueron criterios a los cuales se atribuyeron los incrementos de productividad, de la masa seca y de la translocación de nutrientes.

Por su parte, Salazar (1996), al evaluar el efecto del recubrimiento de semillas de cebolla var. Early Granex con HMA en la producción de bulbillos para ser utilizados en producción temprana, corroboran el efecto beneficioso de la micorrización sobre la producción de masa fresca total de la planta y sobre el diámetro del bulbo.

Liderman (1988) señaló que las esporas, las raíces micorrizadas, los fragmentos procedentes de plantas preexistentes o coexistentes y los agregados de hifas que sobreviven en el suelo, aunque con diferente grado en su capacidad de sobrevivencia y potencial de colonización, son las formas más importantes de inóculo de los HMA que pueden originar la simbiosis.

Estos hongos dependen de la planta para recibir el suministro de carbono y energía así como para disponer de un nicho ecológico, mientras que ellos, a su vez, entregan nutrientes minerales a las plantas, estimulan el crecimiento mediante la producción de sustancias reguladoras, incrementan la tasa fotosintética, realizan ajustes osmóticos cuando hay sequía, aumentan la fijación de nitrógeno por bacterias simbióticas o asociativas presentes también en la rizosfera, incrementan la resistencia de las plantas a la incidencia de plagas y, la tolerancia a estrés ambiental, mejoran la agregación del suelo y actúan como mediadores en muchas de las acciones e interacciones de la microflora en el suelo alrededor de las raíces (Bethlenfalvay y Liderman, 1992).

La intensidad luminosa, la temperatura, las precipitaciones y su distribución, representan un grupo de factores climáticos que actúan sobre las micorrizas (Ojeda, 1998). Al respecto, y con anterioridad, Siquiera y Franco (1988) refirieron que los

suelos con elevados tenores de humedad afectan negativamente a los hongos MA, ya que estos son aerobios obligados.

Sobre la base de lo antes expuesto, el efecto mutualista entre planta y HMA está condicionado a la interacción que se establece entre la planta, el HMA, el medio y el clima.

Siempre que se inocularon las semillas de ambas especies vegetales con las especies *G. clarum*, *G. fasciculatum* y *G. mosseae*, el crecimiento radical fue superior o igual al obtenido por el testigo de producción, lo que ratifica lo señalado por Vega y col. (2000) acerca del incremento que este grupo de microorganismos provoca en el sistema radical de las plantas, dado por el abundante micelio intra y extrarradical que desarrollan, el que constituye un enlace o puente entre las plantas y el suelo. Estos autores indican, además, que una especie de HMA puede diferenciarse de otra porque durante el establecimiento de la micorrización se produce una respuesta defensiva por parte de la planta, de carácter transitorio, por lo que el tiempo requerido entre especies de micorrizas para lograr establecer la simbiosis varía y, por consiguiente, la manifestación de sus efectos benéficos. Esta argumentación es un elemento a considerar para explicar el comportamiento mostrado por las especies *G. versiculiferum* y *G. agregatum*, las que incrementaron en menor medida la longitud radical.

Otro elemento a tener en cuenta lo constituye el hecho de que el comportamiento de cada hongo MA puede depender de la relación que se establece entre las especies nativas y los endófitos introducidos, ya sea por medio de sinergismo (Barea y col., 1980) o competencia entre ambos (Hayman, 1987). Unido a esto, existen otros criterios que se han considerado para explicar el funcionamiento de la simbiosis HMA-planta, referidos a la especificidad HMA-suelo, decisiva para la selección de los HMA eficientes en una condición edáfica dada y que está muy relacionada con la baja especificidad especie-cultivo, aspecto señalado por Rivera (2000). Con relación a esto, Arines (1991), al referirse a la ubicuidad de la simbiosis, señala que aunque no existía especificidad en la relación suelo-hongo, algunos resultados indicaban la preferencia de ciertos hongos por determinados tipos de suelos, siendo fundamental la influencia de algunas propiedades físico-químicas como el pH, y los contenidos de arcilla y materia orgánica, todo lo cual pudiese ser la causa

del comportamiento diferenciado entre las diferentes especies de HMA.

A pesar de lo mencionado anteriormente, los resultados obtenidos demostraron que todos los HMA fueron capaces de incrementar el crecimiento radical y la altura de las plantas en ambas especies hortícolas, por lo que, al parecer, las causas por la que no todas las especies de hongos MA permitieron lograr posturas de calidad, estuvieron más asociadas al tiempo requerido para establecer la simbiosis en las condiciones de semillero y a posible competencia entre las especies nativas y las inoculadas.

Al resultar comunes para los dos cultivos la presencia de *G. clarum*, *G. fasciculatum* y *G. mosseae* como las especies que garantizaron mejor crecimiento de las posturas, se infiere que no existió especificidad HMA-especie vegetal.

Con relación a esto, Barea y col. (1991) no encontraron especificidad desde el punto de vista del hongo ni de la planta, pudiendo ser colonizado un sistema radical de forma simultánea por varias especies de HMA, o un mismo HMA puede colonizar las raíces de diferentes especies vegetales.

En sentido general, el comportamiento manifestado por ambas especies vegetales permite afirmar que con los hongos MA *G. clarum*, *G. fasciculatum* y *G. mosseae*, se pueden obtener posturas de calidad adecuada sin adición de portadores químicos.

4.1.3 – Efectos de las coinoculaciones con RPCV y HMA sobre el crecimiento de las posturas.

A partir de los resultados obtenidos en los estudios de inoculación simple con RPCV y HMA, se seleccionaron las especies de cada grupo de microorganismos que más influyeron sobre el crecimiento de las posturas, tanto de tomate como de cebolla, y con ellas se evaluó comparativamente, durante la campaña 1997 – 1998, su efectividad sobre el desarrollo de las plántulas al ser inoculadas de forma individual y combinada (coinoculación).

Tomate. En la Figura 6 se puede apreciar que, aunque todas las coinoculaciones permitieron producir posturas que satisfacen las exigencias mínimas de altura y longitud radical, con algunas de ellas se potenciaron los efectos individuales de las RPCV y los HMA, con otras se deprimieron los efectos ejercidos por cada microorganismo o de ambos a la vez cuando se inocularon de forma independiente y con otras no se manifestó ni potenciación ni depresión de los efectos de cada grupo de microorganismos.

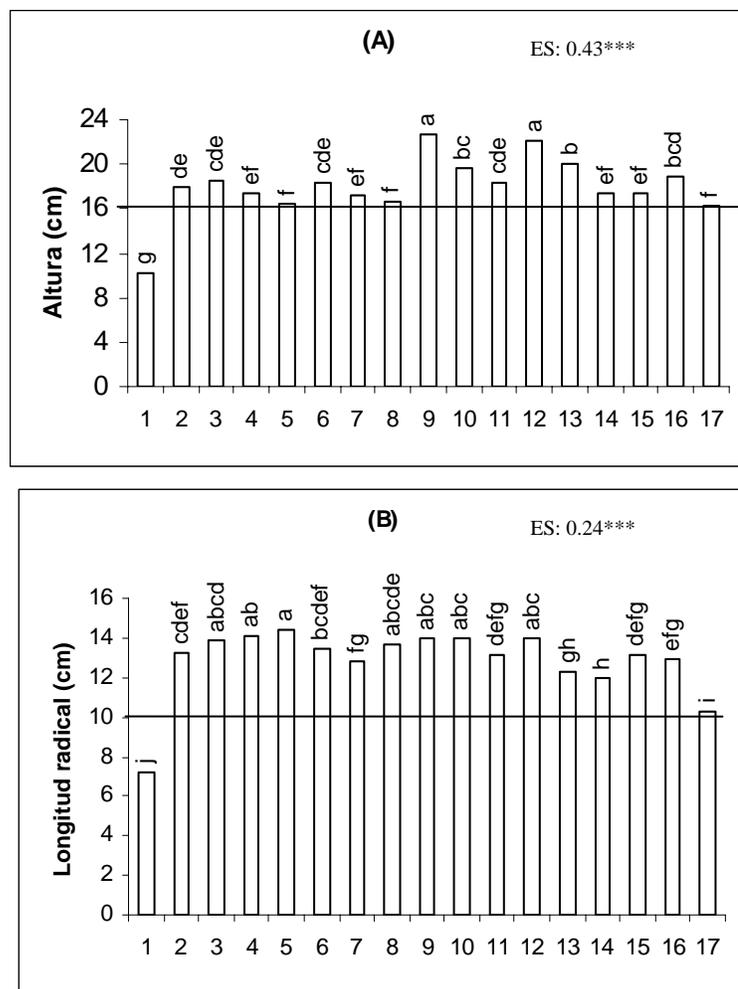


Figura 6 – Crecimiento vegetativo de plántulas de tomate por efecto de inoculaciones y coinoculaciones con RPCV y HMA. Campaña 1997-1998.

1: T. absoluto; 2: T. producción; 3: *G. clarum*; 4: *G. fasciculatum*; 5: *G. mosseae*; 6: *A. brasilense*; 7: *A. chroococcum*; 8: *B. cepacia*; 9: *G. clarum* + *A. brasilense*; 10: *G. clarum* + *A. chroococcum*; 11: *G. clarum* + *B. cepacia*; 12: *G. fasciculatum* + *A. brasilense*; 13: *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*; 14: *G. fasciculatum* + *B. cepacia*; 15: *G. mosseae* + *A. brasilense*; 16: *G. mosseae* + *A. chroococcum*; 17: *G. mosseae* + *B. cepacia*. Letras comunes no difieren a $p < 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Duncan.

La altura de las posturas de tomate (Figura 6 A) se vio favorecida con las combinaciones *G. clarum* + *A. brasilense*; *G. fasciculatum* + *A. brasilense*; *G. clarum* + *A. chroococcum*; *G. fasciculatum* + *A. chroococcum* y *G. mosseae* + *A. chroococcum*, obteniendo con las dos primeras las posturas de mayor altura y con los cuatro primeros tratamientos mencionados, se lograron posturas con alturas superiores a las obtenidas con la fertilización mineral (testigo de producción). Esto indica que el efecto individual de los microorganismos que componen las

combinaciones mencionadas se potenció con la inoculación conjunta de los mismos.

La presencia de *B. cepacia* junto a cada uno de las tres especies de HMA no potenció el incremento en altura al compararlos con las inoculaciones individuales de los respectivos hongos micorrízicos; de igual forma sucedió cuando se comparan dichas coinoculaciones con el efecto individual de las RPCV involucradas (a excepción de la combinación con *G. clarum* que fue superior estadísticamente), manifestación que podría estar relacionada con un efecto de bajo mutualismo entre ambos microorganismos. Las restantes combinaciones tuvieron comportamientos similares al de la RPCV o el HMA correspondiente.

La longitud radical de las posturas (Figura 6 B) reflejó depresión de la misma para las coinoculaciones *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*; *G. mosseae* + *A. brasilense*; *G. mosseae* + *A. chroococcum*; *G. fasciculatum* + *B. cepacia* y *G. mosseae* + *B. cepacia*. Las tres primeras combinaciones deprimieron el efecto individual del respectivo HMA y las dos restantes el de ambos microorganismos.

Las coinoculaciones donde estuvo presente *G. clarum* proporcionaron posturas con longitud radical igual estadísticamente a la alcanzada por el HMA inoculado de forma individual. Con excepción de *G. fasciculatum* + *A. brasilense*, donde fue similar al efecto del HMA respectivo, la longitud radical en las restantes coinoculaciones fueron estadísticamente inferiores a las logradas por las inoculaciones independientes del HMA involucrado en la coinoculación.

A pesar de presentarse efectos de depresión provocados por las coinoculaciones comparadas con las inoculaciones simples de los microorganismos, en todos los casos, la aplicación conjunta de estos garantizó la obtención de posturas con valores de altura y longitud radical superiores al límite mínimo establecido como adecuado, superando siempre al testigo absoluto; de igual forma, ninguna coinoculación superó en su efecto al tratamiento correspondiente a la aplicación de fertilización mineral (testigo de producción).

Al evaluar los incrementos de altura y longitud radical, comparando los tratamientos con inoculación simple con sus respectivas coinoculaciones, reflejados en la Tabla 12, se encontró que las coinoculaciones superaron los efectos individuales de las RPCV en valores que oscilaron entre 9,15 y 18,89 %, exceptuándose de este comportamiento los tratamientos *G. fasciculatum* + *B. cepacia*, *G. mosseae* + *A. brasilense* y *G. mosseae* + *B. cepacia*. Al comparar los efectos de las coinoculaciones con los efectos individuales de los HMA, sólo los superaron en altura las aplicaciones conjunta de *G. clarum* + *A. brasilense*, *G.*

fasciculatum + *A. brasilense*, *G. fasciculatum* + *A. chroococcum* y *G. mosseae* + *A. chroococcum* con valores de incrementos que oscilaron entre 12,90 y 20,94 %. Solamente la coinoculación *G. clarum* + *A. chroococcum* incrementó en 8,57 % la longitud radical al compararla con el efecto provocado por la rizobacteria aplicada de forma independiente.

Tabla 12 – Incrementos en altura y longitud radical de las posturas de tomate al inocular o coinocular con diferentes RPCV y HMA en la campaña 1997 – 1998¹.

Tratamientos	Altura (%)		Longitud radical (%)	
	HMA	RPCV	HMA	RPCV
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i>	18,32	18,89	1,14	4,06
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>	5,96	12,43	1,07	8,57
<i>G. clarum</i> + <i>B. cepacia</i>	- 1,15	9,15	- 5,73	- 4,50
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i>	20,94	17,10	- 0,71	4,06
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i>	12,90	14,35	- 14,53	- 3,90
<i>G. fasciculatum</i> + <i>B. cepacia</i>	- 0,92	4,27	- 17,78	- 14,27
<i>G. mosseae</i> + <i>A. brasilense</i>	5,92	- 5,28	- 10,00	- 2,59
<i>G. mosseae</i> + <i>A. chroococcum</i>	13,70	9,43	- 11,71	0,78
<i>G. mosseae</i> + <i>B. cepacia</i>	- 1,11	- 2,35	- 39,90	- 32,91

¹ valores negativos indican decrementos

Walley y Germida (1997) señalaron que las RPCV pertenecientes al género *Pseudomonas*, dentro del cual se incluía *B. cepacia*, producen compuestos difundibles y no volátiles que pueden reducir o estimular la germinación y el crecimiento hifal de los HMA. Entre estos compuestos se encuentran antibióticos, sustancias reguladoras del crecimiento de las plantas y etileno. Aunque los resultados reportados en ocasiones no permiten concluir al respecto, existen evidencias del efecto antagónico entre rizobacterias del género mencionado y los hongos MA. Asimismo, Paulitz y Liderman (1989) encontraron que estas rizobacterias tienen capacidad de producir sustancias antifúngicas que provocan retraso en la germinación de las esporas de los HMA. En este sentido, se ha demostrado que *B. cepacia* produce alcaloides quinolisídricos de naturaleza antibiótica (Hernández y col., 1999a) los cuales pudieran haber influido directamente sobre el crecimiento de los hongo, limitando su desarrollo.

Gryndler y col. (1998) encontraron que el crecimiento de las hifas de los HMA *G. fistulosum* y *G. mosseae* se inhibió con concentraciones micromolares de ácido indol acético. Como los exudados radicales inducen la producción de auxinas,

giberelinas y citoquininas por las RPCV, puede ocurrir una acumulación de auxinas en el suelo ya que estas pueden ser protegidas contra la descomposición producida por otros microorganismos por medio de sustancias semejantes al humus del suelo (Mato, 1975). Esta acumulación de auxinas puede afectar el desarrollo de los HMA. Por otra parte, el etileno, a concentraciones menores a 0,1 ppm en el aire, estimuló el desarrollo de dos HMA pero a concentraciones mayores, el efecto fue inhibitorio (Ishii y col., 1996).

Lo anteriormente expuesto ofrece posibilidades para explicar el comportamiento observado en la respuesta de la altura de las posturas de tomate ante la coinoculación de tres especies de HMA con *B. cepacia*. En ninguna de estas coinoculaciones se observó potenciación de los efectos individuales de cada microorganismo, lo que sugiere que dichos hongos respondieron negativamente a los compuestos excretados por *B. cepacia*.

Al respecto, Bagyaraj y Menge (1989) encontraron incrementos en el crecimiento de plantas de tomate con la aplicación conjunta de *A. chroococcum* y *G. fasciculatum*. Otro ejemplo de sinergismo entre una rizobacteria y *G. fasciculatum* fue señalado por Manjuanath y col. (1981) inoculando plantas de cebolla, lo que estimuló el crecimiento de las plantas.

La comparación entre el efecto de los tratamientos sobre la altura de las plantas y la longitud radical no permite establecer principios concluyentes de comportamiento. Coinoculaciones que no potenciaron el efecto individual de la RPCV y el HMA para la altura (*G. clarum* + *B. cepacia*), tampoco funcionaron para la elongación radical o causaron depresión en este indicador (*G. fasciculatum* + *B. cepacia*; *G. mosseae* + *A. brasilense*). Coinoculaciones que potenciaron los efectos de los microorganismos (*G. clarum* + *A. brasilense*; *G. fasciculatum* + *A. brasilense*), no funcionaron para el crecimiento radical o causaron depresión (*G. fasciculatum* + *A. chroococcum*; *G. mosseae* + *A. chroococcum*). La coinoculación que causó depresión en la altura (*G. mosseae* + *B. cepacia*) tuvo el mismo efecto sobre la longitud radical. Estudios realizados por diversos investigadores con la rizobacteria *A. brasilense* (Kucey, 1988; Murty y Ladha, 1988) demostraron que, en ocasiones, ocurre depresión o inhibición del crecimiento radical a pesar de incrementarse otros indicadores del crecimiento de la planta. De igual forma, se ha informado que la dosis y el momento de aplicación influyen de forma determinante en la respuesta a las coinoculaciones (Bashan y col., 1996). Los resultados que se han obtenido indican que este comportamiento no es exclusivo de *A. brasilense*.

Lo discutido hasta aquí se resume en la Tabla 13, derivándose de ello que la selección de las combinaciones de microorganismos para la coinoculación en cada especie vegetal debe contemplar el efecto estimulador de los indicadores fenológicos que se evalúen, por medio de la potenciación del efecto individual de los microorganismos involucrados en la combinación.

Tabla 13 - Efectos de la interacción RPCV x HMA sobre el comportamiento de los indicadores de crecimiento en tomate.

Coinoculación			Efecto RPCV x HMA	
No.	HMA	RPCV	Altura	Longitud radical
1	<i>G. fasciculatum</i>	<i>A. brasilense</i>	+	0
2	<i>G. clarum</i>	<i>A. brasilense</i>	+	0
3	<i>G. fasciculatum</i>	<i>A. chroococcum</i>	+	-
4	<i>G. mosseae</i>	<i>A. chroococcum</i>	+	-
5	<i>G. clarum</i>	<i>A. chroococcum</i>	0	0
6	<i>G. clarum</i>	<i>B. cepacia</i>	0	0
7	<i>G. fasciculatum</i>	<i>B. cepacia</i>	0	-
8	<i>G. mosseae</i>	<i>A. brasilense</i>	0	-
9	<i>G. mosseae</i>	<i>B. cepacia</i>	-	-

+ = Potenciación; - = Depresión; 0 = Sin efecto.

Para la situación analizada, en que se consideraron los indicadores altura y longitud radical, no se cumplió con lo anteriormente planteado (Tabla 13); no obstante, es posible realizar alguna selección. Las coinoculaciones del número 5 al 9 no resultaron adecuadas para las condiciones evaluadas. Las variantes 1 y 2, aunque no potenciaron el efecto de los microorganismos para el crecimiento radical, si lo hicieron para la altura, por lo que son coinoculaciones adecuadas, máxime si se toma en cuenta que las longitudes radicales de las posturas fueron adecuadas. La selección de las coinoculaciones 3 y 4 dependerá del comportamiento de las posturas en el campo ya que, aunque se reflejó depresión por la interacción en su efecto sobre las longitudes radicales, éstas alcanzaron el tamaño requerido.

Cebolla: En la Figura 7, donde se comparan los efectos de las inoculaciones simples con las respectivas coinoculaciones, se aprecia que con todas las

combinaciones se obtuvieron posturas de calidad, destacándose que no hubo depresión del efecto individual de cada tipo de microorganismo en ningún caso.

A excepción de la combinación *G. mosseae* + *A. chroococcum* (donde no hubo diferencias estadísticas con el efecto de la RPCV), con las restantes coinoculaciones se lograron posturas con altura superior a las obtenidas con las respectivos HMA y RPCV inoculados en forma independiente (Figura 7A). Sólo las combinaciones *G. clarum* + *A. chroococcum* y *G. fasciculatum* + *A. chroococcum* fueron capaces de producir posturas con alturas superiores a las logradas con la fertilización mineral (testigo de producción).

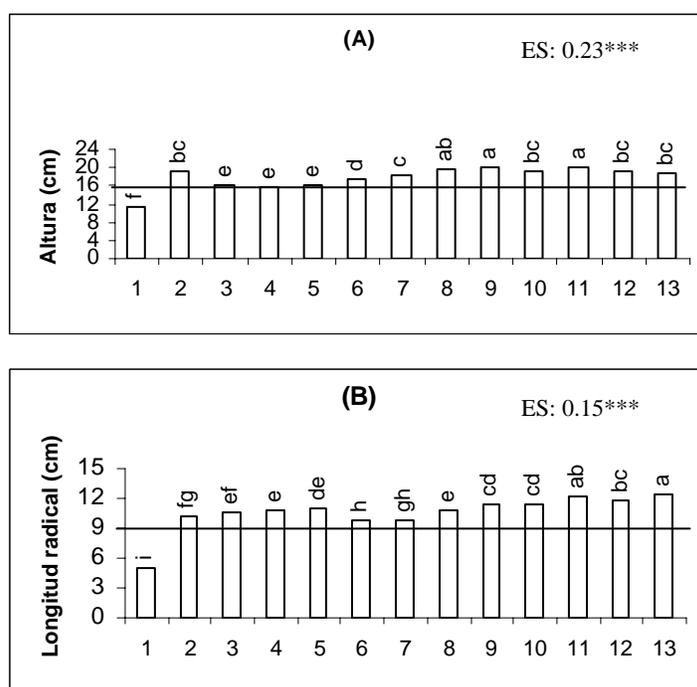


Figura 7 – Crecimiento vegetativo de plántulas de cebolla por efecto de inoculaciones y coinoculaciones con RPCV y HMA. Campaña 1997-1998.

1: T. absoluto; 2: T. producción; 3: *G. clarum*; 4: *G. Fasciculatum*; 5: *G. mosseae*; 6: *A. brasilense*; 7: *A. chroococcum*; 8: *G. clarum* + *A. brasilense*; 9: *G. clarum* + *A. chroococcum*; 10: *G. fasciculatum* + *A. brasilense*; 11: *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*; 12: *G. mosseae* + *A. brasilense*; 13: *G. mosseae* + *A. chroococcum*.

Letras comunes no difieren a $p < 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Duncan.

Para el crecimiento radical (Figura 7 B), únicamente en la coinoculación *G. clarum* + *A. brasilense* no se manifestó la potenciación de efecto individual de los microorganismos, superando las demás los valores alcanzados por los respectivos microorganismos participantes. En todos los casos que se combinaron RPCV y

HMA se produjeron posturas de mayor longitud radical que las logradas con la fertilización mineral (testigo de producción).

En la Tabla 14 se muestran de forma comparativa los incrementos en altura y longitud radical de las posturas de cebolla inoculadas de forma simple con sus respectivas coinoculaciones.

Tabla 14 – Incrementos en altura y longitud radical de las posturas de cebolla al inocular o coinocular con diferentes RPCV y HMA en la campaña 1997 – 1998.

Tratamientos	Altura (%)		Longitud radical (%)	
	HMA	RPCV	HMA	RPCV
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i>	16,88	11,17	1,66	10,24
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>	19,29	7,80	6,49	13,16
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i>	16,91	9,63	4,30	14,57
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i>	20,65	7,75	10,58	18,79
<i>G. mosseae</i> + <i>A. brasilense</i>	15,47	10,10	6,93	17,82
<i>G. mosseae</i> + <i>A. chroococcum</i>	13,44	1,60	11,13	20,16

La altura de las plantas de cebolla se vio incrementada con las coinoculaciones donde estuvieron presente los tres hongos MA (*G. clarum*, *G. fasciculatum* y *G. mosseae*), superando estadísticamente a la inoculación simple de cada uno de ellos, con excepción de la coinoculación *G. mosseae* + *A. chroococcum*, donde sólo superó estadísticamente al valor de altura obtenido por el hongo ya que para la rizobacteria fue igual. Los valores de incrementos para las rizobacterias estuvieron entre 7,75 y 11,17 %, mientras que para los HMA oscilaron entre 13,44 y 20,65 %.

La longitud radical presentó un comportamiento similar al de la altura, superando todas las aplicaciones conjuntas los efectos de la aplicación individual de cada uno de ellos, con excepción de la presencia combinada de *G. clarum* + *A. brasilense*, al no diferenciarse estadísticamente de la longitud radical lograda por el hongo sólo. Se obtuvieron valores de incremento que oscilaron, al compararlos con los HMA, entre 4,30 y 11,13 %, mientras que con relación a las RPCV fluctuaron entre 10,24 y 2016 %.

Los resultados obtenidos confirman que la coinoculación, cuando funciona, no es más que un reflejo de los efectos de cada microorganismo individualmente, pero potenciado por el sinergismo que se establece entre ellos, según se plantea

por varios autores (Sieverding, 1991; Inghan y Molina, 1991; Liderman, 1992), los que resumen los beneficios de esta acción y refieren que, mediante la red del micelio externo de los HMA, se pueden traslocar de forma más efectiva los productos de la actividad de las rizobacterias cuando se encuentran juntos en la rizosfera de las plantas, confirmando que las inoculaciones mixtas pueden crear interacciones sinérgicas entre los microorganismos biofertilizantes (Siqueira y Franco, 1988), así como que la respuesta de la planta a hongos MA involucra no sólo al hongo, sino a todos los hongos y bacterias de "compañía" presentes (Inghan y Molina, 1991). Ejemplo de esto es lo planteado por Gianinazzi-Pearson y col. (1982) y Sieverding (1991) acerca de que las bacterias de vida libre como *Azotobacter* sp. y *Azospirillum* sp. aumentaron su población en la rizosfera de la planta hospedera al estar micorrizadas las raíces. Aspectos similares sobre el sinergismo entre grupos de microorganismos refiere Ojeda (1998), quien incluye, dentro de las causas que pudiesen motivar este efecto, el mejoramiento de la nutrición fosforada por parte de las micorrizas, la que fortalece el elevado consumo de energía que conlleva la fijación simbiótica del nitrógeno, además de influir positivamente este grupo de microorganismos en la planta mediante otro grupo de mecanismos (fundamentalmente en la captación de nutrientes) que actúan como limitantes en la fijación de nitrógeno e, incluso, que sean capaces de producir cambios hormonales en las plantas micorrizadas.

Coscatunca (1995) señala que la coinoculación hongos MA - *Azospirillum* es un ejemplo de interacción benéfica, ya que la colonización de las raíces por los hongos estimula el flujo de carbohidratos desde el follaje hasta la raíz. Estos carbohidratos pueden constituir fuentes de carbono para el crecimiento de la bacteria. Por otra parte, se ha comprobado, según este propio autor, que las hormonas vegetales que produce *Azospirillum* en medio de cultivo estimulan la formación y desarrollo de la simbiosis micorrízica en una diversa gama de plantas hospederas.

Los resultados obtenidos confirman que la coinoculación es un proceso complejo, lo que unido a lo poco que se han estudiado hasta el presente sus mecanismos de acción, hace que resulten aparentemente inexplicables y contradictorios algunos comportamientos observados. Se impone la realización de nuevas investigaciones que permitan establecer el papel de cada microorganismo en su interacción con el medio, la especie vegetal y el clima.

4.2 – Efectos de la inoculación, simple y combinada, con RPCV y HMA sobre la colonización radical y el estado nutricional de las posturas.

A partir de las especies de rizobacterias y hongos MA seleccionadas según los resultados obtenidos durante las campañas hortícolas 1996 - 1997 y 1997 – 1998, se realizó otro estudio en la campaña 1999-2000, inoculando nuevamente, y en ausencia de fertilización mineral, con ambos grupos de microorganismos en forma independiente y combinada, teniendo como finalidad el confirmar las respuestas de los indicadores de crecimiento a la biofertilización con RPCV y HMA, así como evaluar sus efectos sobre el nivel de colonización radical y el estado nutricional de las posturas de ambos cultivos.

4.2.1 – Efectos sobre el crecimiento de las posturas.

Tomate. A excepción de los tratamientos que se inocularon con *B. cepacia*, *G. clarum* + *B. cepacia*, *G. fasciculatum* + *A. chroococcum* y el testigo absoluto, los restantes proporcionaron posturas con la altura requerida (Figura 8 A). Entre las RPCV nuevamente se destacaron *A. brasilense* y *A. chroococcum*, con comportamientos similares al de los dos HMA seleccionados. No se manifestó potenciación del efecto individual de cada microorganismo con la aplicación conjunta de ambos, lo que difirió del estudio anterior. Esto último sugiere la existencia de alguno o varios factores que influyen sobre el comportamiento de las rizobacterias y los hongos MA que, con los resultados obtenidos, no pudieron ser definidos.

La longitud radical se incrementó por efecto de los tratamientos (Figura 8 B). Sólo con el testigo absoluto no se lograron posturas que superasen el límite mínimo establecido y, aunque con los restantes tratamiento sí se consiguió este objetivo, destaca el hecho de que en la inoculación con *B. cepacia* y en las aplicaciones combinadas de *G. clarum* + *B. cepacia* y *G. clarum* + *A. brasilense*, las longitudes radicales fueron las menores entre los tratamientos inoculados con los diferentes microorganismos. Tampoco se encontró sinergismo con la coinoculación entre ambos grupos de microorganismos.

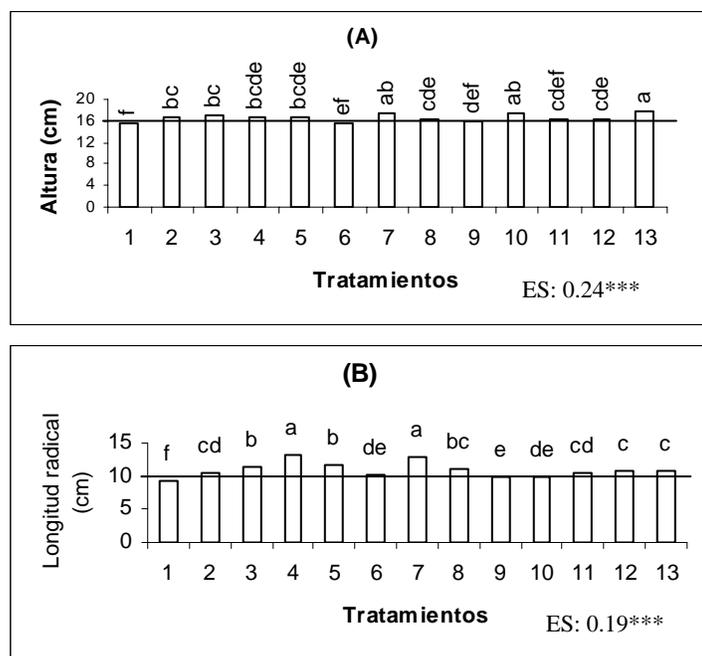


Figura 8 – Crecimiento vegetativo de plántulas de tomate por efecto de inoculaciones y coinoculaciones con RPCV y HMA. Campaña 1999-2000.

1: T. absoluto; 2: T. producción; 3: *G. clarum*; 4: *G. fasciculatum*; 5: *A. chroococcum*; 6: *B. cepacia*; 7: *A. brasilense*; 8: *G. clarum* + *A. chroococcum*; 9: *G. clarum* + *B. cepacia*; 10: *G. clarum* + *A. brasilense*; 11: *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*; 12: *G. fasciculatum* + *B. cepacia*; 13: *G. fasciculatum* + *A. brasilense*.

Letras comunes no difieren a $p < 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Duncan.

Cebolla. Todos los tratamientos permitieron obtener posturas que cumplieran con el nivel mínimo exigido para la altura, excepto el testigo absoluto y las coinoculaciones de *A. brasilense* con ambos hongos MA (Figura 9 A). En relación al comportamiento de la longitud radical, también en todos los tratamientos se satisfizo el valor mínimo exigido para posturas con adecuada calidad (Figura 9 B).

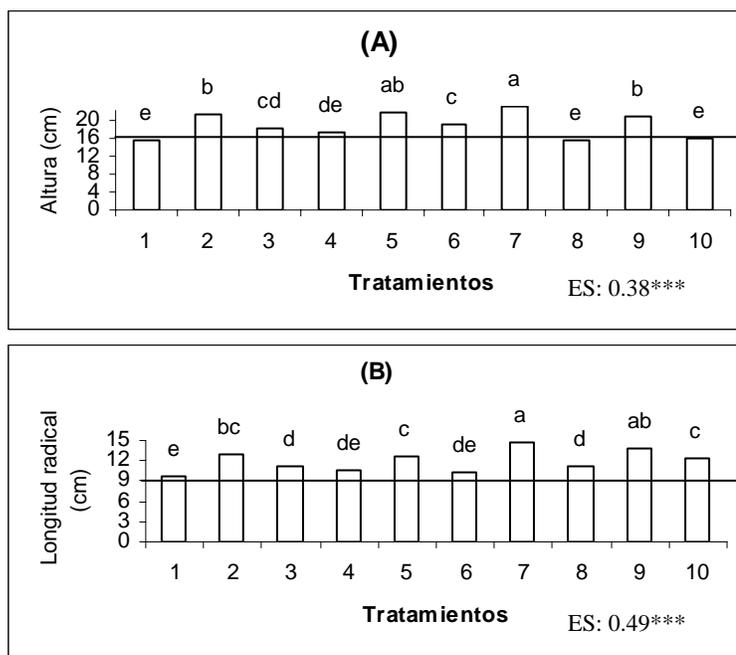


Figura 9 – Crecimiento vegetativo de plántulas de cebolla por efecto de inoculaciones y coinoculaciones con RPCV y HMA. Campaña 1999-2000.

1: T. absoluto; 2: T. producción; 3: *G. clarum*; 4: *G. fasciculatum*; 5: *A. chroococcum*; 6: *A. brasilense*; 7: *G. clarum* + *A. chroococcum*; 8: *G. clarum* + *A. brasilense*; 9: *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*; 10: *G. fasciculatum* + *A. brasilense*.

Letras comunes no difieren a $p < 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Duncan.

Al analizar comparativamente el efecto de las inoculaciones sobre los índices de crecimiento con el correspondiente al tratamiento en que se garantizaron los requerimientos nutricionales de cada cultivo (testigo de producción), sólo las combinaciones *G. fasciculatum* + *A. brasilense* en tomate, con relación a la altura, y *G. clarum* + *A. chroococcum* en cebolla, para ambos indicadores evaluados, superaron los valores alcanzados por dicho testigo; las demás aplicaciones, simples y conjuntas, de los microorganismos fueron iguales o estadísticamente menores.

El comportamiento del crecimiento de las posturas durante la campaña que se analiza (1999-2000), tuvo cierta semejanza con la primera de las campañas estudiadas anteriormente (1996-1997). Nuevamente, las precipitaciones durante el mes de noviembre de 1999 estuvieron por encima del doble de las registradas en el mismo mes en la segunda campaña (1997-1998), mientras que las temperaturas fueron inferiores en más de 1 grado Celsius a las que se presentaron en la campaña anterior (Figura 1A y B). Este comportamiento del clima permite inferir la causa de lo inefectivas que resultaron las coinoculaciones en la campaña que se

evalúa, y demuestra que el clima es un elemento esencial a tener en cuenta al tratar de interpretar las complejas interacciones que se presentan en el funcionamiento de los microorganismos estudiados.

Lo analizado hasta aquí ratifica lo señalado en epígrafes anteriores sobre los positivos efectos de las inoculaciones con rizobacterias y hongos MA en la obtención de posturas de tomate y cebolla con indicadores de calidad adecuados y sin la aplicación de fertilizantes minerales.

4.2.2 – Efectos sobre la colonización rizosférica.

Tomate. Los mayores valores para el porcentaje de colonización y la masa del endófito se obtuvieron con la coinoculación de *A. brasilense* con ambas especies de HMA (Figura 10. -Los valores originales, no transformados, de los indicadores de la colonización rizosférica para cada tratamiento se presentan en los Anexos 1 y 2, para el tomate y la cebolla, respectivamente).

Destaca el hecho de que, para ambos indicadores de la eficiencia fúngica (colonización y masa del endófito), ninguna rizobacteria inoculada de forma independiente propició incrementos en los valores de los mismos en comparación con el efecto de los tratamientos inoculados sólo con los hongos MA y aquellos en que se coinocularon ambos grupos de microorganismos. Además, la colonización fúngica, en los tratamientos inoculados sólo con rizobacterias, tampoco se vio incrementada en comparación con el testigo absoluto; sin embargo, la masa del endófito sí se incrementó en estos mismos tratamientos, con excepción de los inoculados con *B. cepacia*, donde fue similar. Estos resultados son atribuibles a la interacción de dichas rizobacterias con las cepas nativas de hongos MA.

Las poblaciones de *A. chroococcum*, *B. cepacia* y *A. brasilense* (Figura 10) se incrementaron significativamente en todos los tratamientos inoculados con cada una de ellas, observándose los mayores valores (ufc.gsr^{-1}) en aquellos que fueron coinoculados con HMA, excepto para *A. chroococcum*, donde las poblaciones fueron similares en las combinaciones y en la aplicación individual. Con los mismos tratamientos, siempre las poblaciones de las respectivas rizobacterias superaron los valores alcanzados por el testigo absoluto.

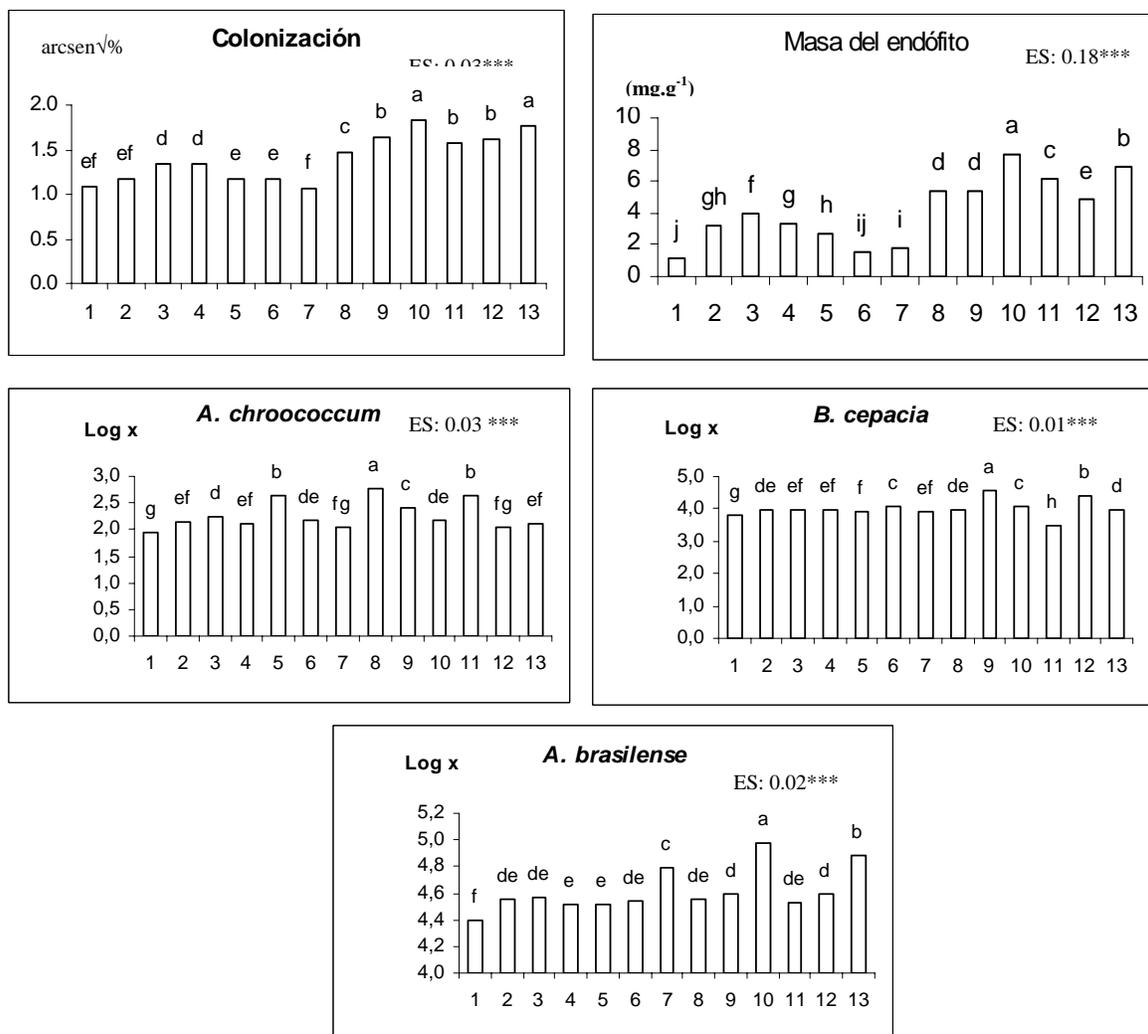


Figura 10 –Valores de las variables microbiológicas transformadas en tomate al finalizar el semillero. Tratamientos: 1- Testigo absoluto; 2-Testigo producción; 3- *G. clarum*; 4- *G. fasciculatum*; 5- *A. chroococcum*; 6- *B. cepacia*; 7- *A. brasilense*; 8- *G. clarum* + *A. chroococcum*; 9- *G. clarum* + *B. cepacia*; 10- *G. clarum* + *A. brasilense*; 11- *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*; 12- *G. fasciculatum* + *B. cepacia*; 13- *G. fasciculatum* + *A. brasilense*. Barras con distintas letras difieren estadísticamente a $p < 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Duncan

Cebolla. La máxima colonización fúngica la realizó la especie *G. fasciculatum* aplicada de forma independiente, mientras que la masa del endófito fue mayor, respecto al resto de los tratamientos, en presencia de la coinoculación *G. clarum* + *A. chroococcum* (Fig. 11), lo que sugiere la existencia de un efecto sinérgico entre ambos microorganismos.

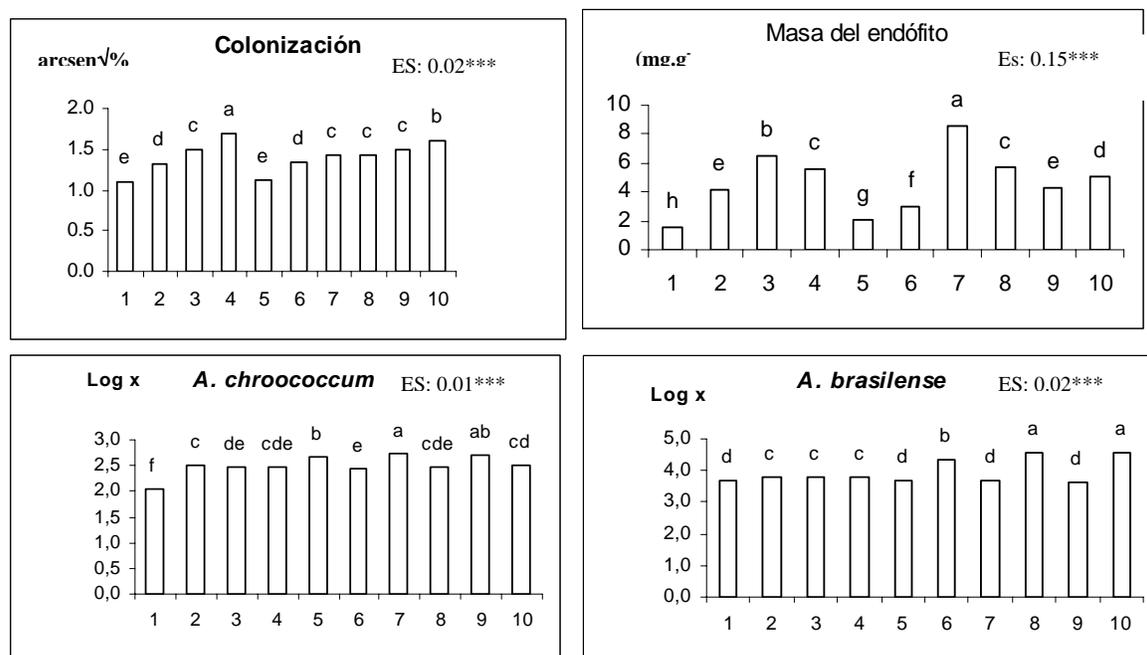


Figura 11 – Valores de las variables microbiológicas transformadas en cebolla al finalizar el semillero.

Tratamientos: 1- Testigo absoluto; 2-Testigo producción; 3- *G. clarum*; 4- *G. fasciculatum*; 5- *A. chroococcum*; 6- *A. brasilense*; 7- *G. clarum* + *A. chroococcum*; 8- *G. clarum* + *A. brasilense*;

Por otra parte, puede observarse que cuando se inoculó con cada una de las rizobacterias se incrementaron las poblaciones de las RPCV respectivas y, siempre, las inoculaciones simples con HMA incrementaron las poblaciones de las rizobacterias. Con las coinoculaciones en la que participó *A. chroococcum* se lograron las mayores poblaciones de esta rizobacteria y algo similar sucedió cuando en la coinoculación participó *A. brasilense*, incrementándose las poblaciones de esta especie de RPCV.

Según Barea y col. (1991) cuando una hifa coloniza la superficie de la raíz se pueden presentar dos situaciones, que ésta aborte o que el contacto vaya seguido de una auténtica colonización. Por su parte Paulitz y Liderman (1989), refieren que

entre el hongo y la planta se establece un modelo de biotrofismo bidireccional y mutualista, en las cuales se desarrollan una serie de interacciones, cuyos aspectos fisiológicos se conocen relativamente bien. La contribución del hongo a la optimización fisiológica de la planta, ejercida fundamentalmente mediante el aporte de nutrientes minerales, aunque no es exclusiva, resulta crítica en diversos estadios del desarrollo vegetal

El hecho de que los microorganismos inoculados hayan sobrevivido, adaptados y establecidos en un hábitat diferente, indica que han sido influidos favorablemente por el ambiente de la rizosfera y las condiciones del suelo donde se establecieron ambas especies vegetales, pudiendo dominar o coexistir y tomando formas de compensación en el contexto microbiano presente, aspecto coincidente con lo reportado por Ojeda (1998) para especies forrajeras.

El predominio de una especie bacteriana sobre otra, en las raíces de una misma especie vegetal, está dado por el grado de especificidad planta-microorganismo, todo lo cual repercute en la selección y predominio de un género bacteriano sobre otro, en función de la gran variabilidad entre los exudados radicales liberados por las plantas.

El aumento en la longitud radical logrado para la cebolla (Fig. 9 B) se debe no sólo al efecto directo de los HMA, sino que, al tratar de colonizar la planta en los primeros estadios, esta ejerce un “rechazo”, pudiendo provocar que los metabolitos que se excretan afecten a la microbiota bacteriana, provocando que muchas bacterias con efectos negativos fuesen reducidas a poblaciones bajas o nulas y potenciando las que pueden ejercer un efecto positivo, siendo esta la causa de que se incrementen sus poblaciones, todo lo cual repercute en un mejor crecimiento y desarrollo de las posturas.

De acuerdo a los resultados obtenidos en ambas especies vegetales, se puede apreciar que en aquellos tratamientos no inoculados la bacteria que se analiza, sus poblaciones fueron menores, lo que justifica la inoculación de cada una de ellas, persiguiendo favorecer el desarrollo de las mismas mediante el incremento de sus concentraciones para obtener efectos benéficos de acuerdo a sus respectivos mecanismos de acción. De esta forma, en los tratamientos donde no fueron inoculadas predominaron los microorganismos con un tiempo de generación más corto y capaces de utilizar eficientemente los diferentes compuestos orgánicos presentes en esta rizosfera, como fuente

de carbono y energía, siendo los que mayor probabilidad tienen para establecerse y colonizar eficientemente la raíz.

Por su parte, las asociaciones micorrízicas le confieren a la planta beneficios de carácter físico-químicos en la rizosfera e hifosfera, propiciando un régimen nutricional adecuado a las plantas (Lecaton y Obatón, 1983; Siqueira y Franco, 1988; Sieverding, 1991; Gianinazzi y col., 1991; Bethlenfalvay y Liderman, 1992; Bonfante-Fassolo y Perotto, 1992). Por su parte, las RPCV, mediante los exudados hormonales, la fijación biológica del nitrógeno y la mineralización de compuestos que ponen los nutrientes a disposición de la planta, contribuyen, con mecanismos diferentes a la micorrización, a favorecer la nutrición y el crecimiento y desarrollo de la planta (Fernández y Novo, 1988; Martínez y col., 1988; Lynch, 1992; Kloepper y col., 1992; Watt, 1993; Hernández, 1998; Pazos, 2000; Dibut, 2000). Todo ello, trae como consecuencia cambios en la fisiología radical y exudación de compuestos con más afinidad para una RPCV que para otra. Complementa el complejo sistema, la interacción RPCV- HMA. Las primeras, con la elicitación sobre los componentes fúngicos, estimulan el desarrollo de las HMA. Todo este conjunto de interacciones conlleva a favorecer el crecimiento de la planta, al predominio de una RPCV sobre otra y al desarrollo eficaz de la micorrización. No obstante, en ocasiones las interacciones que se producen resultan inhibitorias, bien del desarrollo micorrízico (Inghan y Molina, 1991; Rubio y col., 1995) o de la planta (Cruz y col., 1992; González y col., 2000), tal como se ha reflejado en este trabajo.

Luego de precisado el papel que desempeñaron los microorganismos evaluados sobre el crecimiento y la colonización radical de las posturas, se determinaron, donde fue posible, los “**niveles críticos**” de los componentes de la colonización rizosférica; es decir, los niveles por debajo de los cuáles un incremento en dicha colonización por medio de la inoculación, estimuló el crecimiento.

Tomate. El nivel crítico de la población de *A. brasilense* fue $4,1 \times 10^5$ ufc.g sr⁻¹ (Figura 12). Se observa que las poblaciones por encima del nivel determinado, se alcanzaron con la inoculación de la rizobacteria independiente o coinoculada con los HMA *G. clarum* y *G. fasciculatum*, siendo estos los tratamientos que proporcionaron mayor altura, sin diferencias entre ellos.

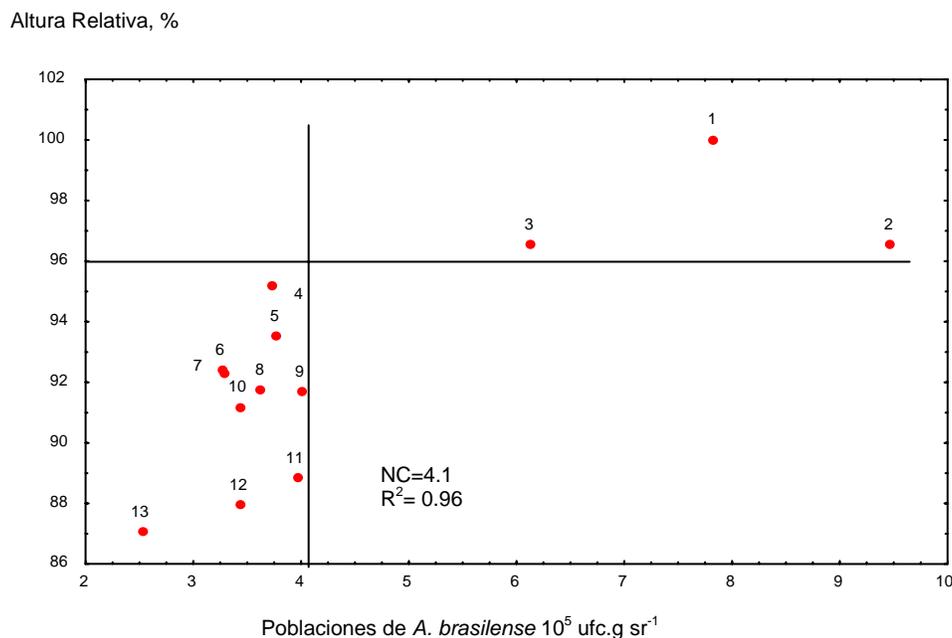


Figura 12 - Nivel crítico de las poblaciones de *A. brasilense* para el tomate cultivado en suelo Ferralítico Rojo compactado.

1- *G. fasciculatum* + *A. brasilense*; 2- *G. clarum* + *A. brasilense*; 3- *A. brasilense*; 4- *G. clarum*; 5- T. producción; 6- *A. chroococcum*; 7- *G. fasciculatum*; 8- *G. clarum* + *A. chroococcum*; 9- *G. fasciculatum* + *B. cepacia*; 10- *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*; 11- *G. clarum* + *B. cepacia*; 12- *B. cepacia*; 13- T. absoluto.

Cuando se utilizó como indicador fenológico la longitud radical, tanto el nivel crítico como los tratamientos que proporcionaron mayor crecimiento coincidieron con los determinados cuando se utilizó la altura como indicador (Figura 13). Destaca el hecho de que la coinoculación *G. clarum* + *A. brasilense*, la que provocó la mayor población bacteriana, produjo posturas con raíces más cortas con respecto a los dos tratamientos restantes, comportamiento sugerente de que a partir de la población que originó la coinoculación con *G. fasciculatum* + *A. brasilense* ($7,8 \times 10^5$ ufc.g sr⁻¹), no debe incrementarse la misma, ya que ocasiona interacción de carácter antagónico con otros microorganismos necesarios para lograr mejor crecimiento radical.

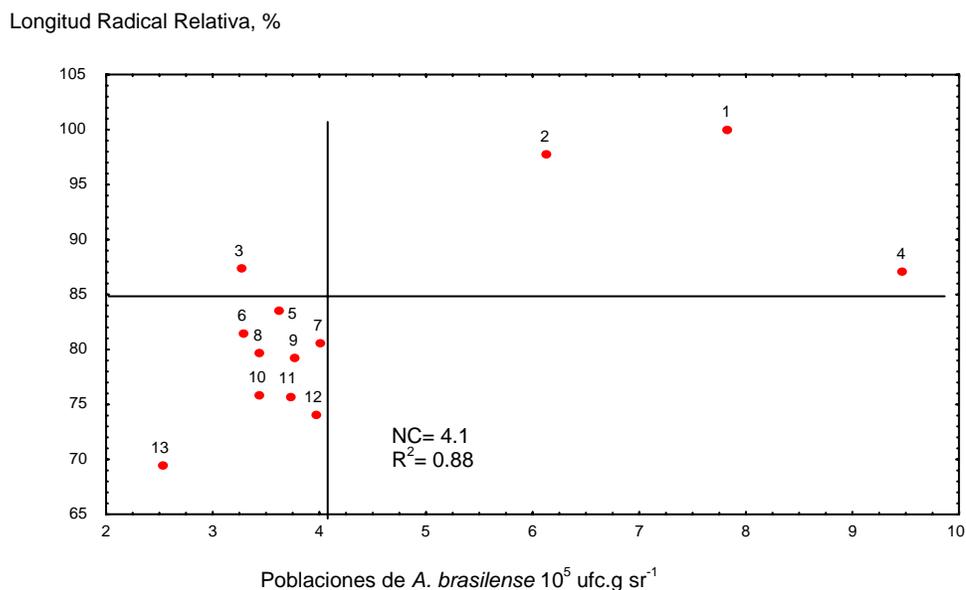


Figura 13 - Nivel crítico de las poblaciones de *A. brasilense* para el tomate en suelo Ferralítico Rojo compactado.

1- *G. fasciculatum* + *A. brasilense*; 2- *A. brasilense*; 3- *A. chroococcum*; 4- *G. clarum* + *A. brasilense*; 5- *G. clarum* + *A. chroococcum*; 6- *G. fasciculatum*; 7- *G. fasciculatum* + *B. cepacia*; 8- *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*; 9- T. producción; 10- *B. cepacia*; 11- *G. clarum*; 12- *G. clarum* + *B. cepacia*; 13- T. absoluto.

Al analizar el porcentaje de colonización radical y la masa del endófito, si bien la población no pudo ser dividida con la misma precisión que al tratar la población de *A. brasilense*, sí fue posible determinar niveles críticos.

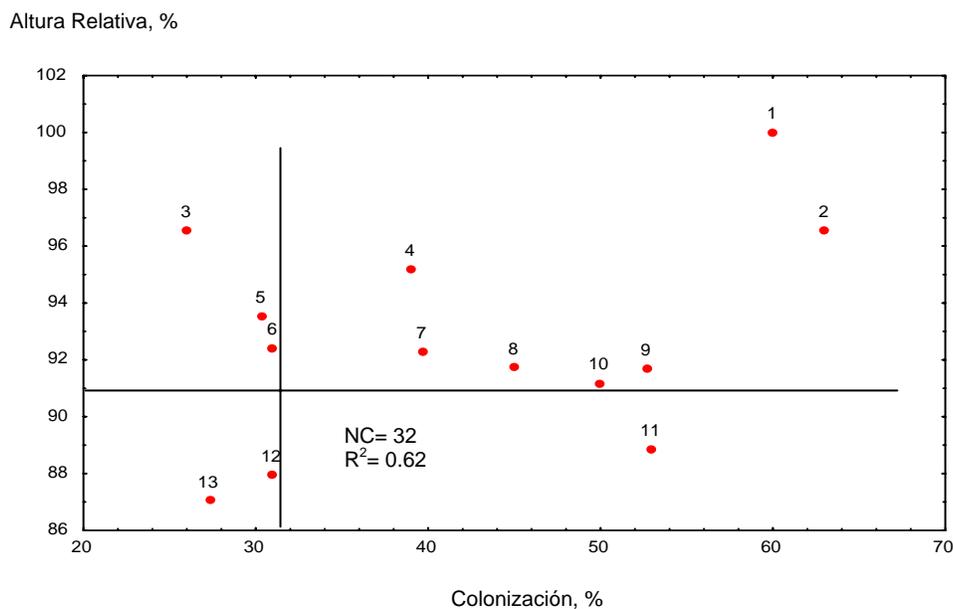


Figura 14 - Nivel crítico de colonización radical para el tomate cultivado en suelo Ferralítico Rojo compactado.

1- *G. fasciculatum* + *A. brasilense*; 2- *G. clarum* + *A. brasilense*; 3- *A. brasilense*; 4- *G. clarum*; 5- T. producción; 6- *A. chroococcum*; 7- *G. fasciculatum*; 8- *G. clarum* + *A. chroococcum*; 9- *G. fasciculatum* + *B. cepacia*; 10- *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*; 11- *G. clarum* + *B. cepacia*; 12- *B. cepacia*; 13- T. absoluto.

Para la colonización radical, el nivel crítico calculado fue 32 %, tanto cuando el indicador fenológico utilizado fue la altura (Figura 14) o cuando éste fue la longitud radical (Figura 15).

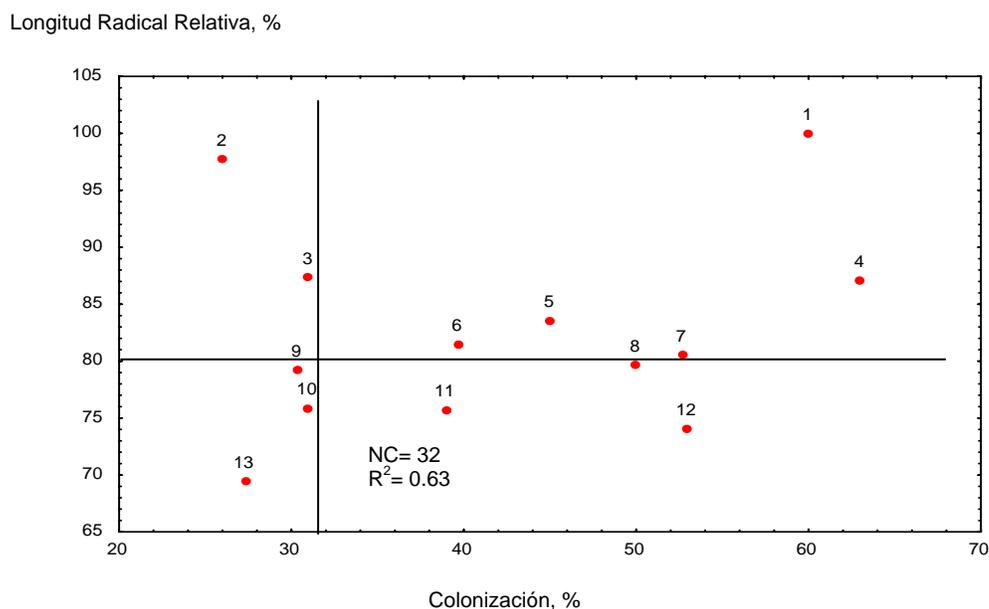


Figura 15 - Nivel crítico de colonización radical para el tomate en suelo Ferralítico Rojo compactado.
1- *G. fasciculatum* + *A. brasilense*; 2- *A. brasilense*; 3- *A. chroococcum*; 4- *G. clarum* + *A. brasilense*; 5- *G. clarum* + *A. chroococcum*; 6- *G. fasciculatum*; 7- *G. fasciculatum* + *B. cepacia*; 8- *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*; 9- T. producción; 10- *B. cepacia*; 11- *G. clarum*; 12- *G. clarum* + *B. cepacia*; 13- T. absoluto.

Ni con la fertilización mineral ni con la inoculación con RPCV, se logró incrementar la colonización radical por encima del nivel crítico establecido, lo que indicó que no hubo suficiente desarrollo micorrízico de las especies nativas por efecto de los tratamientos mencionados.

El nivel crítico de la masa del endófito fue 3,2 mg.g⁻¹ (Figuras 16 y 17). El comportamiento manifestado por los diferentes tratamientos se correspondió con el discutido al analizar el porcentaje de colonización, lo que constituye una muestra de la existencia de relación directa entre ambos indicadores fúngicos.

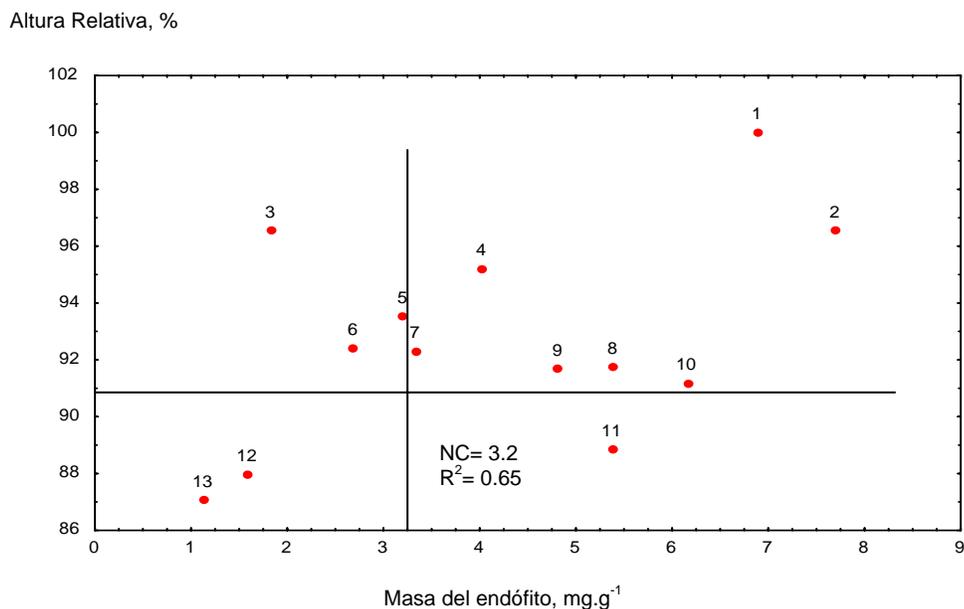


Figura 16 - Nivel crítico de masa del endófito para el tomate cultivado en suelo Ferralítico Rojo compactado. 1- *G. fasciculatum* + *A. brasilense*; 2- *G. clarum* + *A. brasilense*; 3- *A. brasilense*; 4- *G. clarum*; 5- T. producción; 6- *A. chroococcum*; 7- *G. fasciculatum*; 8- *G. clarum* + *A. chroococcum*; 9- *G. fasciculatum* + *B. cepacia*; 10- *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*; 11- *G. clarum* + *B. cepacia*; 12- *B. cepacia*; 13- T. absoluto.

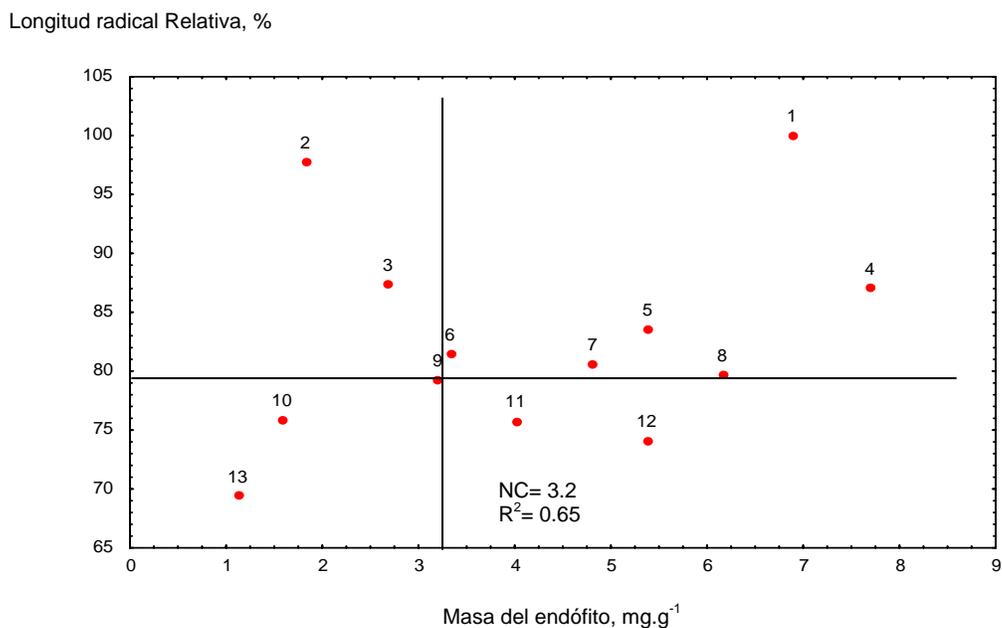


Figura 17 - Nivel crítico de masa del endófito para el tomate en suelo Ferralítico Rojo compactado. 1- *G. fasciculatum* + *A. brasilense*; 2- *A. brasilense*; 3- *A. chroococcum*; 4- *G. clarum* + *A. brasilense*; 5- *G. clarum* + *A. chroococcum*; 6- *G. fasciculatum*; 7- *G. fasciculatum* + *B. cepacia*; 8- *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*; 9- T. producción; 10- *B. cepacia*; 11- *G. clarum*; 12- *G. clarum* + *B. cepacia*; 13- T. absoluto

Cebolla. En esta especie hortícola sólo fue posible determinar el nivel crítico para las poblaciones de *A. chroococcum* (Figuras 18 y 19). Dicho nivel, calculado considerando los dos indicadores morfológicos utilizados, fue de $3,9 \times 10^3$ ufc.g sr^{-1} . Las poblaciones de esta RPCV por encima del nivel determinado, se lograron con la inoculación de la rizobacteria independiente o coinoculada con los dos HMA, tratamientos estos con los que se alcanzaron las mayores alturas y longitud radical.

La fertilización mineral, que proporcionó posturas con altura y longitud radical similares a las obtenidas en los tratamientos antes mencionados, también incrementó las poblaciones de *A. chroococcum* hasta valores cercanos al nivel crítico establecido, motivado tal vez por la exudación radical realizada por plantas bien nutridas, de productos orgánicos afines a la rizobacteria en cuestión.

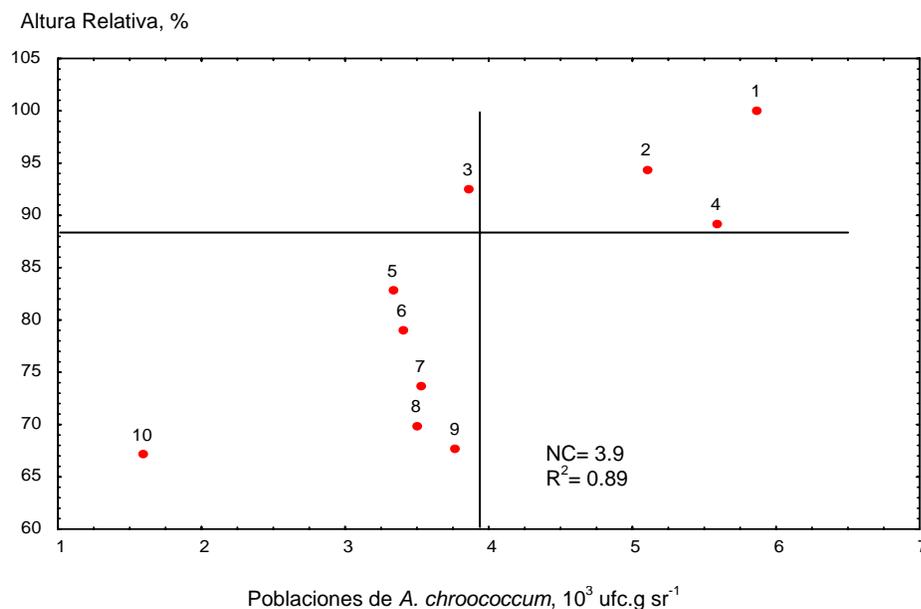


Figura 18 - Nivel crítico de las poblaciones de *A. chroococcum* para la cebolla en suelo Ferralítico Rojo compactado.

1- *G. clarum* + *A. chroococcum*; 2- *A. chroococcum*; 3- T. producción; 4- *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*; 5- *A. brasilense*; 6- *G. clarum*; 7- *G. fasciculatum*; 8- *G. fasciculatum* + *A. brasilense*; 9- *G. clarum* + *A. brasilense*; 10- T. absoluto.

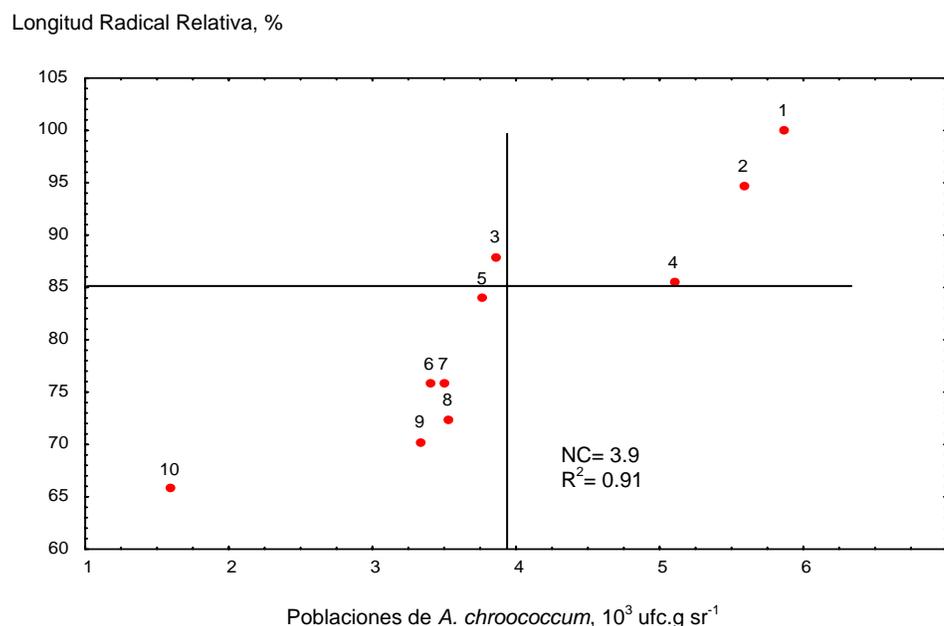


Figura 19 - Nivel crítico de las poblaciones de *A. chroococcum* para la cebolla en suelo Ferralítico Rojo compactado.

- 1- *G. clarum* + *A. chroococcum*; 2- *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*; 3- T. producción;
4- *A. chroococcum* 5- *G. fasciculatum* + *A. brasilense*; 6- *G. clarum*; 7- *G. clarum* + *A. brasilense*;
8- *G. fasciculatum*; 9- *A. brasilense*; 10- T. absoluto.

Comparando las dos especies hortícolas, destaca el hecho de que con los dos indicadores morfológicos utilizados, el nivel crítico determinado en cada cultivo, fue el mismo, lo que ofrece garantía sobre la certeza de este.

También merece destacarse que los niveles críticos de poblaciones bacterianas que se pudieron establecer, se correspondieron con las dos RPCV que mejores comportamientos manifestaron sobre una y otra especie: *A. brasilense* para el tomate y *A. chroococcum* para la cebolla. En ambos casos las poblaciones se incrementaron en algo más de un orden de magnitud con la inoculación de la rizobacteria respectiva en relación con las poblaciones nativas (ver Tabla 2), lo que da una medida de la pobre fertilidad biológica del suelo para la obtención de posturas sin la aplicación de fertilizantes minerales.

4.2.3 - Efectos sobre la extracción de nutrientes.

En la Tabla 15 se presentan los valores de masa seca (t.ha⁻¹) de las posturas de ambos cultivos al finalizar la fase de semillero. En tomate, la producción de masa seca osciló entre 1,21 y 3,16 t.ha⁻¹, correspondiendo el mayor valor al tratamiento donde se aplicaron de forma conjunta *G. fasciculatum* + *A. brasilense*, y que fue

superior estadísticamente al resto, seguido por el logrado con *G. clarum* + *A. brasilense*, que no se diferenció del inoculado con *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*.

En cebolla, la inoculación de las semillas con la rizobacteria *A. chroococcum* de forma independiente y cuando se aplicó conjuntamente con el HMA *G. clarum* propiciaron la mayor producción de masa seca de las posturas, superior estadísticamente al resto de los tratamientos. Los valores de masa seca oscilaron entre 0,85 y 2,40 t.ha⁻¹.

Al analizar de forma conjunta estos resultados se evidenció una respuesta diferenciada de ambas especies vegetales ante la presencia de los diferentes microorganismos. En el tomate, donde se aplicó conjuntamente *A. brasilense* con ambos HMA, se alcanzaron incrementos positivos en la variable evaluada, que oscilaron entre 12,84 y 20,56 %, con respecto al testigo fertilizado y entre 47,39 y 61,70 % al compararlos con el testigo absoluto. Resultados similares, que evidencian el efecto influyente de estos microorganismos sobre los incrementos de masa seca, fueron informados por Terry y col. (1998) y Manjares- Martínez y col. (1998).

En la cebolla, aún cuando se destacaron inoculaciones simples con *A. chroococcum* y un tratamiento con coinoculación de dicha rizobacteria con *G. clarum*, estos nunca superaron estadísticamente al testigo fertilizado en cuanto a la masa seca producida. A pesar de lo anteriormente referido, se constató que fueron estos tres tratamientos los que también garantizaron las posturas de mayor altura. De igual forma, se apreció que todos los tratamientos donde estuvieron presentes los inoculantes microbianos superaron la producción de masa seca lograda con el testigo absoluto, en valores que oscilaron entre 50,00 y 64,58 %.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede inferir que la presencia de los inoculantes microbianos potenciaron, en diferente magnitud, las posibilidades de absorción de agua y nutrientes por las plantas, todo lo cual se tradujo en un incremento en los contenidos de masa seca.

Existen numerosas evidencias experimentales acerca de los beneficios del empleo de inoculantes microbianos, fundamentalmente hongos micorrízicos, en diferentes cultivos (Augé, 2000) y, específicamente, en tomate (Dell' Amico y col., 2002), donde se ratifica que la simbiosis hongo-planta es típicamente mutualista, donde el hongo depende de la planta para la obtención de fotosintatos y la planta recibe a cambio una variedad de beneficios que le permiten incrementar su crecimiento y mejorar sus relaciones hídricas. Sin embargo, de acuerdo a los

resultados obtenidos, no se observó, en el caso específico del tomate, la acción individual de los diferentes microorganismos, manifestándose sólo efectos positivos cuando estos inoculantes bacterianos fueron aplicados de forma conjunta, variando el comportamiento entre un microorganismo y otro. En el caso específico de la cebolla no se han encontrados reportes relacionados con la producción de masa seca en presencia de los microorganismos estudiados en la fase de producción de posturas, con excepción de los realizados por Dibut (2000), empleando como inoculante *A. chroococcum*.

Tabla 15 - Valores de masa seca ($t \cdot ha^{-1}$) de las posturas de tomate y cebolla al finalizar la fase de semillero.

Tratamientos	Tomate	Cebolla
Testigo absoluto	1,21 g	0,85 d
Testigo de producción	2,51 cd	2,26 a
<i>Glomus clarum</i>	1,77 f	1,70 c
<i>Glomus fasciculatum</i>	1,68 f	1,70 c
<i>Azotobacter chroococcum</i>	1,75 f	2,28 a
<i>Burkholderia cepacia</i>	1,78 f	-
<i>Azospirillum brasilense</i>	2,30 de	1,96 b
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>	2,06 e	2,40 a
<i>G. clarum</i> + <i>B. cepacia</i>	2,09 e	-
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i>	2,88 b	1,98 b
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i>	2,74 bc	1,96 b
<i>G. fasciculatum</i> + <i>B. cepacia</i>	2,51 cd	-
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i>	3,16 a	1,93 b
ESx	0,08***	0,04***

En la Tabla 16 se presentan las extracciones de nitrógeno realizadas por las plántulas de tomate y cebolla al finalizar la fase de semillero, donde se observa que en tomate los tratamientos con *A. brasilense* inoculado independiente y combinado con las especies HMA *G. clarum* y *G. fasciculatum* causaron extracciones superiores al resto de los tratamientos. En general, en los tratamientos en que se alcanzaron incrementos en la extracción, dichos valores oscilaron entre 14,64 y 16,92 %.

Este comportamiento puede ser explicado a partir de la existencia de mecanismos que potencian el efecto de estos microorganismos, como son la

producción de fitohormonas que estimulan el desarrollo radical y, como consecuencia, la absorción del agua y nutrientes minerales, lo que incide positivamente en la promoción del crecimiento vegetal (Vande,1994; Dommelen, 1998), a lo que se une la posibilidad de haber existido fijación biológica de este elemento, dado por la cualidad que presenta esta RPCV de fijar N atmosférico, lo que redundará en un mejor estado nutricional nitrogenado de las plantas.

En la cebolla, las mayores extracciones de N se alcanzaron cuando estuvo presente en la inoculación *A. chroococcum* con ambas especies de HMA, no existiendo diferencias en este sentido entre estos y el tratamiento con *G. clarum* + *A. brasilense*, todos superiores al testigo de producción. Se destacó que el tratamiento inoculado con *A. chroococcum* permitió que las plantas absorbieran cantidades de N superiores a la alcanzada por las posturas producidas a partir de la aplicación de todo el requerimiento de nutrientes (testigo de producción), lo que puede ser atribuido a lo referido por Dibut (2000), quien señala que, dadas las características de este género microbiano de tener gran afinidad con el cultivo, se ven potenciadas sus capacidades en la fijación biológica del nitrógeno. Los índices de incremento en la extracción de N, superiores al valor del testigo producción, oscilaron entre 11,2 y 19,7%.

Tabla 16 – Valores de la extracción (A) de nitrógeno (kg N. ha⁻¹) e incrementos (B) respecto al testigo de producción (%) por las posturas de los cultivos al finalizar la fase de semillero.

Tratamiento	Tomate		Cebolla	
	A	B ^(*)	A	B ^(*)
Testigo absoluto	24,4 d	(40,21)	25,72 e	(53,0)
Testigo de producción	40,8 b	-	54,73 c	-
<i>Glomus clarum</i>	39,2 b	(4,02)	42,51 d	(22,3)
<i>Glomus fasciculatum</i>	31,5 c	(22,70)	45,28 d	(17,3)
<i>Azotobacter chroococcum</i>	29,2 c	(28,32)	60,86 b	11,2
<i>Burkholderia cepacia</i>	31,4 c	(22,97)	(ne)	(ne)
<i>Azospirillum brasilense</i>	47,7 a	16,92	53,19 c	(2,8)
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i> .	39,7 b	(2,75)	65,52 a	19,7
<i>G. clarum</i> + <i>B. cepacia</i> .	42,7 b	4,78	(ne)	(ne)
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i> .	47,6 a	16,57	62,90 ab	14,9
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i> .	43,1 b	5,69	64,50 a	17,9

Tratamiento	Tomate		Cebolla	
	A	B ^(*)	A	B ^(*)
<i>G. fasciculatum</i> + <i>B. cepacia</i> .	23,0 d	(43,61)	(ne)	(ne)
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i> .	46,0 a	14,64	45,58 d	(16.7)
ESx	1,23***		1,05***	

(*) - Valores dentro de paréntesis representan decrecimientos; (ne) – no evaluado.

Medias en columnas con letras distintas difieren estadísticamente para $p < 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Duncan.

En ambos cultivos se encontró que los tratamientos coinoculados realizaron extracciones de N superiores o similares a las alcanzadas por los tratamientos inoculados de forma individual, excepto *G. fasciculatum* + *B. cepacia* para el tomate y *G. fasciculatum* + *A. brasilense* para la cebolla. Así, en tomate, la inoculación simple de *A. brasilense* y combinada con ambas especies de HMA fue superior al resto de los tratamientos, mientras que en cebolla se destacaron los incrementos en la extracción del nutriente provocados por las coinoculaciones de *A. chroococcum* y ambas especies de HMA, unido a la presencia conjunta en las posturas de *G. clarum* + *A. brasilense*. Resulta significativo que este último tratamiento tuvo efectos comunes en ambas especies hortícolas, lo que pudiera deberse a que los exudados requeridos por *A. brasilense* son excretados por ambos cultivos, lo que le confiere un carácter más versátil a esta RPCV.

Los resultados anteriores pueden ser explicados a partir de lo señalado por Azcón- Bieto y Talón (2000), quienes plantearon que existe una correlación directa entre los niveles de nitrógeno asimilados y la producción de auxinas, lo que pudo haber provocado que sean precisamente, en ambos cultivos, los tratamientos que mayores extracciones de nitrógeno realizaron con los que también propiciaron la obtención de posturas con valores adecuados de indicadores de calidad, motivado esto, quizás, por un aumento en los niveles de estas fitohormonas.

En la Tabla 17 se presenta la extracción de fósforo realizada por cada cultivo durante la fase de semillero. En tomate, las mayores extracciones se alcanzaron con los tratamientos *G. fasciculatum* + *A. brasilense* y *G. clarum* + *A. brasilense*, con un incremento en la extracción entre 17,51 y 27,57 % respecto a la variante fertilizada. Para la cebolla, las mayores extracciones de P se lograron en los tratamientos con *A. brasilense* inoculado junto a cada especie de HMA, con incrementos sobre el testigo de producción que oscilaron entre 3,7 y 3,9 %.

La coinoculación de *A. brasilense* con la especie de HMA *G. clarum* volvió a resultar, al igual que para la extracción de N, muy eficiente, propiciando

extracciones de fósforo, superiores o iguales estadísticamente a aquellas realizadas por los tratamientos que lograron los mayores incrementos de extracción del nutriente en cada cultivo, aspecto coincidente con lo planteado por Siqueira y Franco (1988), quienes alegan que la micorrización, a través de su efecto físico en la extensión del sistema de absorción de las plantas y de los efectos fisiológicos que hacen aumentar la capacidad absorbente de las raíces, representan un mecanismo importante para la maximación del uso de fertilizantes fosfatados, incorporándose en la consecución de estas extracciones la presencia de las rizobacterias, pues éstas potencian aún más la actividad de la micorrización.

Tabla 17- Valores de la extracción (A) de fósforo (kg P. ha⁻¹) e incrementos (B) respecto al testigo de producción (%) por las posturas de los cultivos al finalizar la fase de semillero.

Tratamiento	Tomate		Cebolla	
	A	B ^(*)	A	B ^(*)
Testigo absoluto	3,37 def	(32,19)	5,40 g	(65,3)
Testigo de producción	4,97 bc	-	15,53 bc	-
<i>Glomus clarum</i>	4,52 c	(9,12)	14,67 e	(5,5)
<i>Glomus fasciculatum</i>	3,64 d	(26,76)	15,81 ab	1,8
<i>Azotobacter chroococcum</i>	2,86 f	(42,45)	12,77 f	(17,8)
<i>Burkholderia cepacia</i>	5,28 b	6,24	(ne)	-
<i>Azospirillum brasilense</i>	3,45 de	(30,58)	12,67 f	(18,4)
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i> .	4,79 c	(3,55)	15,04 de	(3,2)
<i>G. clarum</i> + <i>B. cepacia</i> .	3,04 ef	(38,83)	(ne)	-
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i> .	5,84 b	17,51	16,14 a	3,9
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i> .	4,67 c	(6,04)	15,21 cd	(2,1)
<i>G. fasciculatum</i> + <i>B. cepacia</i> .	5,00 bc	0,60	(ne)	-
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i> .	6,34 a	27,57	16,10 a	3,7
ESx	0,18***		0,13***	

(*) - Valores dentro de paréntesis representan decrecimientos; (ne) – no evaluado.

Medias en columnas con letras distintas difieren estadísticamente para $p < 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Duncan.

Las extracciones de potasio realizadas por las plántulas de tomate y cebolla durante fase de semillero se presentan en la Tabla 18.

En tomate, las mayores extracciones se alcanzaron en las coinoculaciones de *G. fasciculatum* con las tres rizobacterias evaluadas, junto a la combinación *G. clarum* + *A. brasilense*, superando y diferenciándose estadísticamente del resto de

los tratamientos y alcanzando incrementos en la extracción del elemento que oscilaron entre 10,76 y 21,92 %. Ningún microorganismo inoculado de forma individual garantizó un suministro de potasio a las plantas en cantidades superiores al testigo de producción.

Para la cebolla, la inoculación simple de *A. chroococcum* y de forma conjunta con ambas especies de HMA proporcionó las mayores extracciones de potasio, sin diferencias estadísticas con la realizada por la variante *G. clarum* + *A. brasilense*, no diferenciándose este último de las extracciones que hicieron las plantas a las que se les suministró fertilizante mineral (testigo de producción), lo que conllevó a que los valores del incremento en la extracción del elemento estuviesen entre 4,4 y 11,5%.

Tabla 18 - Valores de la extracción (A) de potasio (kg K. ha⁻¹) e incrementos (B) respecto al testigo de producción (%) por las posturas de los cultivos al finalizar la fase de semillero.

Tratamiento	Tomate		Cebolla	
	A	B ^(*)	A	B ^(*)
Testigo absoluto	26,98 f	(30,91)	15,96 f	(55,9)
Testigo de producción	39,05 c	-	36,15 bc	-
<i>Glomus clarum</i>	37,74 cd	(3,35)	25,50 e	(29,5)
<i>Glomus fasciculatum</i>	33,73 de	(13,62)	29,69 d	(17,9)
<i>Azotobacter chroococcum</i>	34,21 de	(12,39)	39,91 a	10,4
<i>Burkholderia cepacia</i>	33,31 e	(14,70)	(ne)	-
<i>Azospirillum brasilense</i>	37,41 cde	(4,20)	34,35 c	(5,0)
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i> .	34,21 de	(12,39)	39,30 a	8,7
<i>G. clarum</i> + <i>B. cepacia</i> .	33,51 de	(14,19)	(ne)	-
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i> .	44,10 ab	12,93	37,74 ab	4,4
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i> .	43,25 b	10,76	40,31 a	11,5
<i>G. fasciculatum</i> + <i>B. cepacia</i> .	47,61 a	21,92	(ne)	-
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i> .	43,58 ab	11,60	30,69 d	(15,1)
ESx	1,32***		1,01***	

(*) - Valores dentro de paréntesis representan decrecimientos; (ne) – no evaluado.

Medias en columnas con letras distintas difieren estadísticamente para $p < 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Duncan.

El comportamiento diferenciado entre los tratamientos inoculados puede atribuirse a la variabilidad en las funciones y posibilidades que brindan los mismos, así como a la especificidad que presentan ambos grupos de microorganismos para poner dichos nutrientes a disposición de las plantas.

El análisis integral del comportamiento de los diferentes microorganismos estudiados para la producción de posturas de tomate y cebolla confirmó el hecho de que es posible la producción de las mismas con una calidad adecuada sin la aplicación de fertilizantes químicos.

En el cultivo del tomate, los tratamientos inoculados con *A. brasilense* y *A. chroococcum* posibilitaron producir posturas comprendidas entre las de mayor altura y longitud radical. De igual forma sucedió con el empleo de los HMA *G. clarum* y *G. fasciculatum*, los que, durante las tres campañas hortícolas, mantuvieron un comportamiento estable, proporcionando posturas similares a las obtenidas con el testigo de producción. Por otra parte y en sentido general, las coinoculaciones entre ambos grupos de microorganismos potenciaron el incremento en la altura de las posturas.

Las inoculaciones conjuntas de *A. brasilense* con ambas especies de HMA fueron los que presentaron los mayores valores de masa del endófito y del porcentaje de colonización. De igual forma, fueron estos tratamientos los que mayores extracciones de N hicieron, y estuvieron entre los que mayores extracciones de P y K realizaron. Todo lo anterior permite fundamentar la obtención de posturas de óptima calidad con estos tratamientos.

Además de lo anteriormente expuesto, se observó que todos los tratamientos inoculados con ambos grupos de microorganismos en la cebolla fueron capaces de extraer mayores cantidades de N, P y K que el testigo absoluto, lo que indica que dichos microorganismos posibilitaron poner a disposición de las plantas estos nutrientes, por diferentes mecanismos e interactuando entre sí, lo que puede haber ocurrido a partir de la mineralización de la materia orgánica, de la fijación biológica de nitrógeno, de la solubilización de P y de la estimulación del desarrollo radical y/o secreción de sustancias estimuladoras del crecimiento, entre otros posibles mecanismos.

En el cultivo de la cebolla, los tratamientos inoculados que propiciaron la obtención de posturas de mayor altura en ausencia de fertilización mineral, resultaron ser aquellos donde estuvo presente *A. chroococcum* de forma independiente y coinoculado con los HMA *G. clarum* y *G. fasciculatum*, siendo estos mismos tratamientos con los que se logró obtener posturas con niveles de altura superiores a las obtenidas con el testigo de producción.

Con los tratamientos antes mencionados las posturas realizaron las mayores extracciones de N y K. Esta conducta propició que fuese precisamente al índice

población de dicha rizobacteria el único al que se le pudo determinar el nivel crítico, evidenciando la afinidad entre ésta rizobacteria y las raíces de la cebolla.

En ambas especies vegetales se lograron incrementos en las poblaciones de las respectivas rizobacterias inoculadas, las que aumentaron mucho más, de forma general, con las coinoculaciones, poniendo de manifiesto el sinergismo entre ambos grupos de microorganismos.

Quedó evidenciada también la necesidad, en ausencia de fertilización mineral, de inocular las semillas de ambos cultivos con los microorganismos más promisorios, dado los desfavorables resultados obtenidos por el testigo absoluto en la mayoría de los indicadores evaluados, denotando la necesidad de potenciar las poblaciones microbianas nativas en el suelo. En el caso específico de los HMA, de acuerdo a los valores del porcentaje de colonización y de la masa del endófito en dicho tratamiento, se corroboró lo señalado por Dood y Thompson (1994) y Fernández (1999), al referirse a que, en presencia de cantidades bajas de propágulos naturales infectivos y para cultivos “dependientes” de los HMA como lo son el tomate y la cebolla, la inoculación con especies eficientes y adaptables a las características del suelo, debe constituir una práctica exitosa.

En las Tablas 19 y 20 se presentan las correlaciones entre las extracciones de N, P y K, la masa seca total, la altura y longitud radical de las posturas de tomate y cebolla. Con excepción de la extracción de fósforo, que no correlacionó con la longitud radical del tomate ni con la altura de las plantas de cebolla, las restantes variables reflejaron una relación lineal avalada por los valores de los coeficientes de correlación obtenidos.

En ambas especies hortícolas, el incremento en la extracción de N y K, provocó incrementos en el crecimiento y la producción de masa seca de las posturas y los indicadores de crecimiento (altura, longitud radical y masa seca) mantuvieron entre si una dependencia lineal positiva.

Tabla 19 - Matriz de correlación entre las variables evaluadas en las posturas de tomate al finalizar la etapa de semillero.

Indicador	Ext N	Ext P	Ext K	Altura	Raíz	M. seca
Ext N	1,000	0,322*	0,350*	0,599**	0,522**	0,598**
Ext P		1,000	0,645**	0,460**	0,304 NS	0,634**
Ext K			1,000	0,606**	0,463**	0,787**
Altura				1,000	0,765**	0,539**
Raíz					1,000	0,570**
M. seca						1,000

N = 39; * significación a $p < 0,05$; **significación a $p < 0,01$; NS = no significativo; Ext N= extracción de nitrógeno ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$); Ext P= extracción de fósforo ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$); Ext K = extracción de potasio ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$); Altura = altura de las posturas (cm); Raíz = longitud radical (cm); M. Seca = rendimiento de masa seca ($\text{t} \cdot \text{ha}^{-1}$).

En general, los coeficientes de correlación alcanzados al analizar las posturas de cebolla (Tabla 20), fueron mayores que para el tomate (Tabla 19). La dependencia encontrada entre el crecimiento de las posturas y la extracción de nutrientes primarios, ratifica la necesidad e importancia de los mismos para producir posturas con calidad adecuada y, a la vez, demuestra la posibilidad que se tiene, mediante las inoculaciones realizadas, de garantizar a las posturas la disponibilidad de estos nutrientes.

Tabla 20 - Matriz de correlación entre las variables evaluadas en las posturas de cebolla al finalizar la etapa de semillero.

Indicador	Ext N	Ext P	Ext K	Altura	Raíz	M. seca
Ext N	1,000	0,648**	0,958**	0,617**	0,691**	0,850**
Ext P		1,000	0,654**	0,225 NS	0,473**	0,754**
Ext K			1,000	0,638**	0,698**	0,858**
Altura				1,000	0,727**	0,689**
Raíz					1,000	0,683**
M. seca						1,000

N = 30; * significación a $p < 0,05$; **significación a $p < 0,01$; NS = no Significativo; Ext N = extracción de nitrógeno ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$); Ext P = extracción de fósforo ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$); Ext K = extracción de potasio ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$); Altura = altura de las posturas (cm); Raíz = longitud radical (cm); M. Seca = rendimiento de masa seca ($\text{t} \cdot \text{ha}^{-1}$).

4.3 – Comportamiento de las posturas inoculadas con RPCV y HMA ante diferentes niveles de fertilización nitrogenada y fosfórica, después del trasplante.

Una vez obtenidas las posturas, las mismas fueron trasplantadas para evaluar el efecto de las inoculaciones con RPCV y HMA sobre el rendimiento de cada cultivo ante diferentes niveles de nitrógeno y fósforo. Los rendimientos relativos del tomate y la cebolla se presentan en los Anexos 3 y 4.

A partir de los análisis de varianza realizados a los rendimientos obtenidos en cada especie hortícola, se encontró, para el tomate, un efecto de interacción entre los factores en estudio: variantes de inoculación (A) y niveles de fertilización aplicados (B), mientras que para la cebolla no hubo tal efecto de interacción (Tabla 21). En ningún caso hubo diferencias estadísticas para los indicadores de calidad de los frutos.

Tabla 21 – Resumen de los análisis de varianza para los rendimientos del tomate y la cebolla

Fuente de variación.	Cuadrado medio	
	Tomate	Cebolla
A: Variantes de inoculación	258,45***	27,46***
B: Niveles de fertilización	821,33***	31,17***
Interacción A x B	22,38***	1,72 ns
Residual	2,84	1,62

*** - Significativo a $p < 0.001$; ns: no hubo significación.

4.3.1-Tomate.

En la Tabla 22 se presentan los valores medios del rendimiento obtenido con cada tratamiento y sus respectivas dójimas.

Tabla 22- Rendimientos del tomate para cada tratamiento y nivel de fertilización.

Tratamientos en el semillero	Fertilización en el trasplante*			
	N ₅₀ P ₅₀ (N 1)	N ₁₀₀ P ₅₀ (N 2)	N ₅₀ P ₁₀₀ (N 3)	N ₁₀₀ P ₁₀₀ (N 4)
	Rendimiento, t.ha ⁻¹			
Testigo absoluto	18,78 de	20,80 c	11,19 f	24,35 bc
Testigo de producción	25,49 bc	30,21 a	19,93 c	31,12 a
<i>Glomus clarum</i>	14,09 e	16,00 de	10,52 f	24,04 bc
<i>Glomus fasciculatum</i>	13,25 e	18,60 de	12,40 f	19,73 cd
<i>A. chroococcum</i>	18,34 de	23,59 c	15,78 e	24,21 bc

Tratamientos en el semillero	Fertilización en el trasplante*			
	N ₅₀ P ₅₀ (N 1)	N ₁₀₀ P ₅₀ (N 2)	N ₅₀ P ₁₀₀ (N 3)	N ₁₀₀ P ₁₀₀ (N 4)
	Rendimiento, t.ha ⁻¹			
<i>B. cepacia</i>	27,44 ab	31,36 a	10,61 f	31,84 a
<i>A. brasilense</i>	28,60 ab	29,39 a	28,31 ab	31,71 a
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>	22,09 c	22,33 c	16,91 de	31,62 a
<i>G. clarum</i> + <i>B. cepacia</i>	16,38 de	22,93 c	14,07 e	24,47 bc
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i>	26,62 bc	28,67 ab	17,06 de	31,67 a
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i>	19,51 cd	25,95 bc	18,34 de	27,95 ab
<i>G. fasciculatum</i> + <i>B. cepacia</i>	16,86 de	18,36 de	16,14 de	27,12 ab
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i>	29,13 a	29,72 a	27,31 ab	31,51 a
ESx	1,32 ***			

* Porcentaje de la dosis recomendada de N y P.

Medias en columnas con letras distintas difieren estadísticamente para $p < 0,05$ según prueba de rangos múltiples de Duncan.

Con todos los tratamientos y la dosis de fertilizantes más elevada (Nivel 4), se alcanzaron los mayores rendimientos, independientemente de que para algunos de ellos, dicha manifestación se obtuvo con la dosis menor de P (Nivel 2).

Los mayores rendimientos alcanzados con los tratamientos testigo absoluto, testigo de producción, *G. fasciculatum*, *A. chroococcum*, *G. clarum* + *B. cepacia*, *G. clarum* + *A. brasilense* y *G. fasciculatum* + *A. chroococcum* se lograron con la mayor dosis de N y la menor de P (Nivel 2), iguales estadísticamente a los obtenidos con la dosis mayor de ambos nutrientes (Nivel 4). Cuando a esos mismos tratamientos se les aplicó la mayor dosis de P y la menor de N (Nivel 3), los rendimientos disminuyeron. Todo lo anterior indica que el N fue el nutriente limitante bajo las condiciones de estudio y que el suministro de P resultó adecuado con la dosis más baja. De igual forma, de acuerdo a los resultados obtenidos en el tratamiento que recibió todo el fertilizante mineral en la etapa de producción de posturas

(testigo de producción) en los Niveles 2 y 4, permiten inferir que, para las condiciones donde se desarrollo la investigación, se puede prescindir del 50 % del fertilizante fosfórico a aplicar.

Las posturas inoculadas con *G. clarum* y *G. fasciculatum* tuvieron en común que necesitaron de la dosis más alta de N para proporcionar los rendimientos mayores; pero se diferenciaron en que las primeras requirieron la dosis mayor de P (Nivel 4) y las otras, la menor (Nivel 2) para que los rendimientos obtenidos fueran los mayores. Estos resultados corroboran los encontrados por Medina y Pino (1992)

y Llonin (1998), quienes reportaron efecto positivo de *G. clarum* en suelos altamente abastecidos de P.

Por su parte, las posturas inoculadas con RPCV también mantuvieron un comportamiento diferente entre ellas. Con la presencia de *A. chroococcum* se necesitó la dosis mayor de N y la menor de P (Nivel 2), mientras que con *B. cepacia* y *A. brasilense* resultaron suficientes las menores dosis de N y P (Nivel 1), en ambos casos para proporcionar los mayores rendimientos. Se destaca el hecho de que con *A. brasilense*, cualquier dosis y relación internutrientes fueron igualmente efectivas.

Cuando se aplicó 50 % de N y P (Nivel 1), los mayores rendimientos se alcanzaron en aquellas posturas inoculadas con *B. cepacia* de forma independiente y con *A. brasilense* sólo y en coinoculación con el HMA *G. fasciculatum* (Tabla 22). Similar comportamiento se obtuvo para estos mismos tratamientos cuando se redujo la dosis de P al 50 % aplicando el 100 % de N (Nivel 2), sólo que en este caso los rendimientos se igualaron a los obtenidos con el testigo fertilizado en la fase de semillero.

Sin embargo, cuando se redujo el 50% del N y se garantizó todo el P (Nivel 3) sólo las posturas que fueron inoculadas con *A. brasilense* de forma individual y combinada con *G. fasciculatum* fueron capaces de lograr rendimientos superiores significativamente al resto de los tratamientos, superando al alcanzado por las posturas que recibieron fertilización mineral en la fase de semillero.

En presencia de todo el requerimiento de N y P (Nivel 4), los tratamientos que emplearon posturas inoculadas con *B. cepacia*, *A. brasilense* y las coinoculaciones de *G. clarum* con *A. chroococcum* y *A. brasilense* además de *G. fasciculatum* con las tres RPCV, no presentaron diferencias estadísticas entre sí ni con el testigo fertilizado.

La nube de distribución de los rendimientos relativos permitió dividir los mismos en cuatro zonas bien definidas, tomando en consideración los rendimientos medios obtenidos en el país y específicamente en Ciego de Ávila (Figura 20).

Con los tratamientos del 1 al 8, los rendimientos fueron inferiores al 50% del rendimiento relativo.

Con los tratamientos del 9 al 21 se garantizaron rendimientos comprendidos entre 50 y 65% del máximo, equivalentes a 15 – 20 t.ha⁻¹. Rendimientos destacados proporcionaron los tratamientos del 22 al 41, los que oscilaron entre 65 y 95% del

máximo obtenido. Finalmente, rendimientos elevados para nuestras condiciones se obtuvieron con los tratamientos del 42 al 52, cercanos o superiores a las 30 t.ha⁻¹.

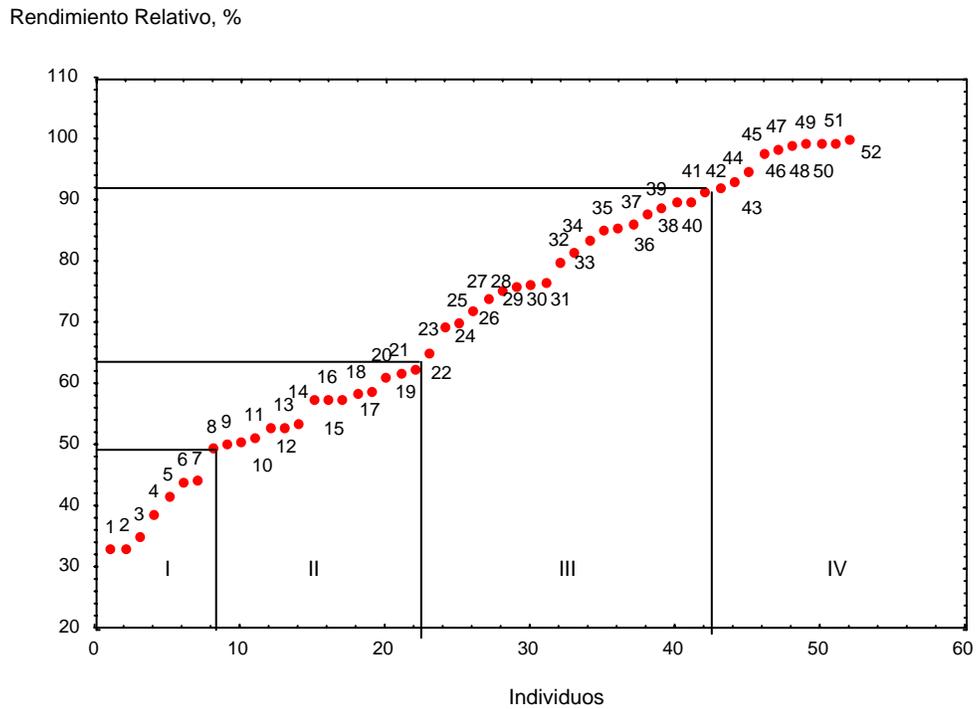


Figura 20 - Dispersión de los rendimientos obtenidos en tomate por el efecto de los tratamientos inoculados

Tratamientos en el semillero	Niveles de fertilización en el trasplante*			
	N ₅₀ P ₅₀ (N 1)	N ₁₀₀ P ₅₀ (N 2)	N ₅₀ P ₁₀₀ (N 3)	N ₁₀₀ P ₁₀₀ (N 4)
	Individuos (Interacción niveles de fertilización/ tratamientos).			
Testigo absoluto	19	23	3	30
Testigo de producción	32	45	22	46
<i>Glomus clarum</i>	7	9	1	28
<i>Glomus fasciculatum</i>	5	18	4	21
<i>A. chroococcum</i>	16	27	8	29
<i>B. cepacia</i>	37	47	2	52
<i>A. brasilense</i>	40	43	39	51
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>	24	25	13	49
<i>G. clarum</i> + <i>B. cepacia</i>	11	26	6	31
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i>	34	41	14	50
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i>	20	33	15	38
<i>G. fasciculatum</i> + <i>B. cepacia</i>	12	17	10	35
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i>	42	44	36	48

Porcentaje de la dosis recomendada de N y P.

4.3.2- Cebolla.

Los rendimientos obtenidos se presentan en la Figura 21.

Destacaron como los mejores tratamientos (Tabla 23) aquellos inoculados con la RPCV *A. chroococcum* y su coinoculación con *G. clarum*, sin diferencias entre ellos, precisamente aquellos que, en línea general, presentaron mejor comportamiento en la etapa de semillero.

Los tratamientos de peor comportamiento fueron el testigo que no recibió fertilización en la etapa de semillero y aquel donde se coinoculó *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*. Este último tratamiento se vio afectado en la etapa después del trasplante, ya que en el semillero siempre mantuvo un efecto positivo. La diferencia de comportamiento de esta variante entre el tomate y la cebolla indica que la interacción de esos microorganismos con la especie vegetal analizada y en presencia de fertilización mineral influyó en su comportamiento.

La mejor dosis de fertilizante a utilizar resultó la de mayor N y P (Nivel 4) y la peor la que aportó menos nutrientes (N1).

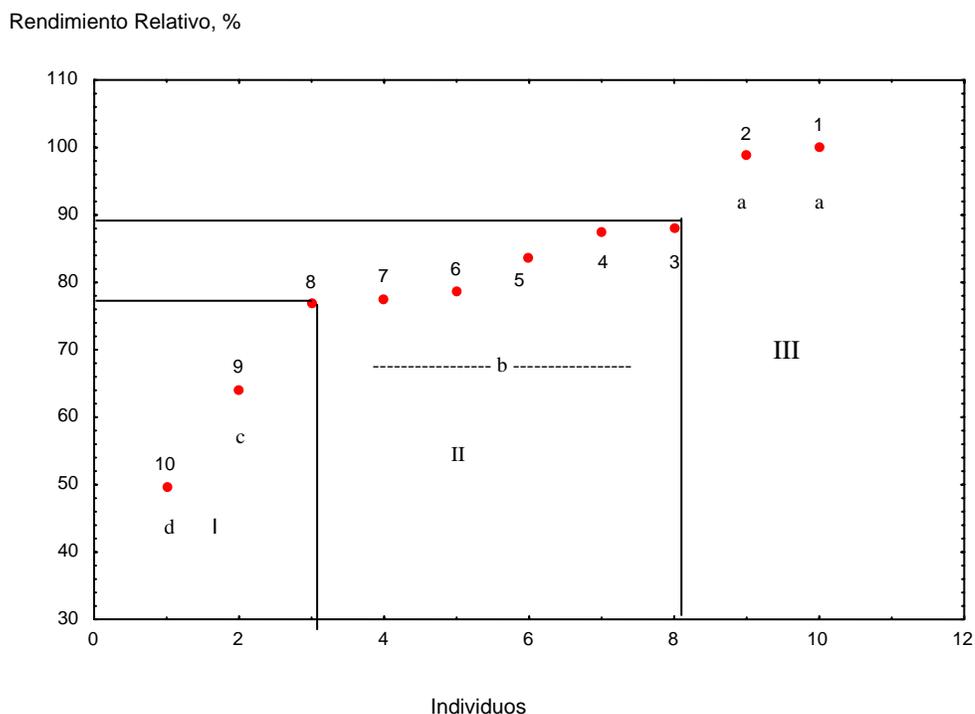


Figura 21 - Rendimiento relativo de la cebolla por efecto de los tratamientos inoculados en el semillero.

1- *G. clarum* + *A. chroococcum*; 2- *A. chroococcum*; 3- T. de Producción; 4- *G. fasciculatum* + *A. brasilense*; 5- *G. clarum* + *A. brasilense*; 6- *G. clarum*; 7- *A. brasilense*; 8- *G. fasciculatum*; 9- *G. fasciculatum* + *A. chroococcum*; 10- T. absoluto.

Tabla 23.- Resultados del Análisis de Varianza para los niveles de fertilización en la cebolla.

Nivel de fertilización*	Valor medio del rendimiento	Docimación
N1 (N ₅₀ P ₅₀)	6,73	c
N2 (N ₁₀₀ P ₅₀)	7,97	b
N3 (N ₅₀ P ₁₀₀)	8,15	b
N4 (N ₁₀₀ P ₁₀₀)	9,22	a
ESx:	0,23***	

* Porcentaje de la dosis recomendada de N y P.

Medias en columnas con letras distintas difieren estadísticamente para $p < 0,001$ según prueba de rangos múltiples de Duncan.

Durante la discusión de los resultados se ha reiterado que los tratamientos de inoculación simple y las coinoculaciones se diferencian entre sí en el modo de acción sobre el medio y en su respuesta ante la variación del mismo; de ahí que la

reacción de los mencionados inoculantes ante la aplicación de dosis variables de N y P también sea diferente. Lo anterior se confirma en trabajos de Hernández y col. (1995), Terry y col. (1998), Hernández (2000), Ramírez (2001) y Velazco (2001), con diferentes rizobacterias, cultivos y condiciones edafoclimáticas, argumentando criterios que abarcan desde sinergismo hasta antagonismo para la actividad de las rizobacterias en presencia de diferentes niveles de disponibilidad de nutrientes. Por su parte, los hongos MA tienen un comportamiento diferente al variar los ecosistemas, tipos de suelos y grado de disponibilidad de elementos nutrientes, aspectos que están en concordancia con los criterios más generales acerca de la efectividad de la simbiosis en función del contenido de nutrientes presentes en el suelo, según ha sido señalado por Herrera y col. (1984a y b), Siqueira y Franco (1988), Sieverding (1991), Miranda y Harris (1994), Rivera (2000), Sánchez (2001), Rivera y col. (2001) y Ruiz (2001).

4.4 – Validación de los resultados experimentales en condiciones de producción.

En las Tablas 24 y 25 se presentan los resultados obtenidos con las inoculaciones en tomate y cebolla, llevados a condiciones de producción, de acuerdo a sus respectivos comportamientos en condiciones experimentales.

Tabla 24 – Producción de posturas de tomate y cebolla con el empleo de diferentes RPCV y HMA en condiciones de producción.

Tratamientos	Semillero Municipal “El Lenin”		UBPC “24 de Febrero”	
	Especie vegetal (posturas.m ⁻²)		Especie vegetal (posturas.m ⁻²)	
	Tomate	Cebolla	Tomate	Cebolla
T. de producción	237	517	209	501
<i>A. chroococcum</i>	ne	523	ne	510
<i>A. brasilense</i>	237	ne	213	ne
<i>B. cepacia</i>	205	ne	187	ne
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>	254	531	232	517
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i>	275	ne	241	ne
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i>	253	ne	219	ne
<i>G. fasciculatum</i> + <i>B. cepacia</i>	226	ne	205	ne
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i>	280	ne	251	ne

Tabla 25 – Rendimientos obtenidos con los tratamientos inoculados en la fase de semillero con RPCV y HMA en condiciones de producción.

Tratamientos	Rendimiento (t.ha ⁻¹)	
	Tomate	Cebolla
T. producción	25,62	10,57
<i>A. chroococcum</i>	ne	9,85
<i>A. brasilense</i>	24,46	ne
<i>B. cepacia</i>	17,58	ne
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>	24,13	12,18
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i>	28,13	ne
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i>	21,76	ne
<i>G. fasciculatum</i> + <i>B. cepacia</i>	16,81	ne
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i>	26,84	ne

La información mostrada en ambas tablas ratifica lo obtenido en condiciones experimentales. Así en tomate, las coinoculaciones lograron superar al testigo de producción en el volumen de posturas producidas, con excepción de la inoculación conjunta de *G. fasciculatum* + *B. cepacia*, mientras que los microorganismos inoculados de forma individual no superaron a dicho testigo. Para la cebolla, ambos tratamientos inoculados lograron producir posturas en cantidades superiores al testigo de producción (Tabla 24).

El número de posturas producidas en condiciones de producción evidencia que, con algunos de los tratamientos inoculados, no se logró producir volúmenes superiores en el número de posturas con respecto al testigo denominado “de producción”. Sin embargo, considerando que en este estudio no se aplicó fertilización mineral, a diferencia de diversas otras investigaciones (Martínez y col., 1991; 1994; 1997; Terry y col., 1996 b; Medina y Pino, 1992; Llonín, 1998; Ramírez, 2001; Hernández, 2001), se puede argumentar que los inoculantes ensayados constituyen una alternativa promisorio para la obtención de posturas de tomate y cebolla.

Los rendimientos logrados en condiciones de producción (Tabla 25) por las posturas de tomate inoculadas en el semillero, sólo fueron superiores al correspondiente al testigo de producción en las combinaciones *G. clarum* + *A. brasilense* y *G. fasciculatum* + *A. brasilense*; para la cebolla, solamente superó a este tratamiento la coinoculación *G. clarum* + *A. chroococcum*.

4.5 - Valoración económica de los resultados.

A partir de los resultados obtenidos en condiciones de producción para la obtención de posturas inoculadas, se realizó la evaluación económica correspondiente a uno de los sitios (Semillero Municipal “El Lenin”), la cual se muestra en la Tabla 26.

Tabla 26 - Efecto económico de los mejores tratamientos para la producción de posturas en los dos cultivos estudiados.

Cultivo	Tratamientos	Valor de venta (\$ ha ⁻¹)	Costo de producción (\$ ha ⁻¹)	Beneficio (\$ ha ⁻¹)	Relación B/C
Tomate	Testigo de producción	35 550	4 548,00	31002,00	6,81
	<i>A. brasilense</i>	35 550	4 591,21	30 958,21	6,74
	<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>	38 100	4 398,71	33 701,29	7,66
	<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i>	41 250	4 628,71	36 621,29	7,91
	<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i>	37 950	4 398,71	33 551,29	7,62
	<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i>	42 000	4 628,71	37 371,29	8,07
Cebolla	Testigo de producción	155 100	6 758,00	148 342,00	21,95
	<i>A. chroococcum</i>	156 900	6 659,28	150 240,72	22,56
	<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>	159 300	6 696,78	152 603,22	22,78

En el tomate, las coinoculaciones de *G. clarum* y *G. fasciculatum* con las rizobacterias *A. brasilense* y *A. chroococcum* fueron capaces de producir posturas en volúmenes superiores al tratamiento que recibió la fertilización mineral recomendada (testigo de producción), lo que aportó beneficios económicos (mayor número de posturas producidas en igual área) y ecológicos (no empleo de fertilizantes minerales potencialmente contaminantes del medio edáfico). Así, todas las variantes inoculadas logran beneficios superiores en comparación con la variante fertilizada, teniendo costos de producción muy similares. Por consiguiente, los correspondientes valores de la relación Beneficio/Costo, fueron superiores entre 11,89 y 18,50 % al logrado por la variante de producción, excepto para la inoculación simple con *A. brasilense* que fue ligeramente inferior.

Para la cebolla, se aprecia que la inoculación simple con *A. chroococcum* y combinada con el HMA *G. clarum* también permitieron incrementos en la producción de posturas. Pero, a diferencia de los resultados alcanzados en el tomate, en esta hortaliza las dos variantes inoculadas superaron al testigo de producción,

obteniendo valores de ventas superiores entre 2,77 y 3,78 %, lo que repercute en el aumento del beneficio económico logrado.

Según la metodología de la FAO (1980), relaciones Beneficio/ Costo superiores a 3 corresponden a ganancias muy notables y, en ambas especies, este indicador toma valores muy superiores. Esto viene motivado por la notable diferencia entre los costos de producción y los precios de venta de las posturas, que son muy superiores, lo que produce coeficientes relativamente altos. Valores elevados de esta relación se han reportado con anterioridad (Dibut, 2000).

V – CONCLUSIONES

1. El empleo de la inoculación, simple y combinada, con rizobacterias estimuladoras del crecimiento vegetal y hongos micorrízicos arbusculares demuestra ser una práctica efectiva para la producción de posturas de calidad de tomate y cebolla, constituyendo una alternativa nutricional válida a la fertilización mineral.
2. Las especies de rizobacterias *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense* y *Burkholderia cepacia* para el tomate y las dos primeras para la cebolla, garantizan la obtención de niveles adecuados de altura y longitud radical en las posturas sin necesidad de aplicar fertilizantes. El mismo efecto se logra con las especies de hongos micorrizógenos arbusculares *Glomus clarum* y *G. fasciculatum* para ambos cultivos.
3. Con las coinoculaciones de rizobacterias y hongos micorrízicos, sobre todo de las especies más efectivas, además de lograr posturas de calidad, tanto en tomate como en cebolla, se obtiene la potenciación de los efectos individuales de cada tipo de microorganismo, destacándose en este sentido las combinaciones de *Azospirillum brasilense* con *Glomus clarum* y *G. fasciculatum* y de *Azotobacter chroococcum* + *G. clarum* para el tomate. En cebolla sobresalen las combinaciones de *Azotobacter chroococcum* con *Glomus clarum* y *G. fasciculatum*.
4. Para ambos cultivos, al final de la etapa de semillero, todas las inoculaciones incrementan en la rizosfera los niveles poblacionales originales de las rizobacterias aplicadas, siendo el efecto muy notable en tomate sobre la población de *A. chroococcum* al inocular con *Glomus fasciculatum* y, en los dos cultivos y todas las especies de rizobacterias, al coinocularlas con hongos micorrízicos. De igual forma, los índices de colonización fúngica, sobre todo en tomate, se incrementan significativamente al coinocular los hongos micorrízicos con rizobacterias, en especial, *Azospirillum brasilense*.
5. En tomate, los niveles críticos a nivel de rizosfera de la población de *A. brasilense*, la colonización fúngica y la masa del endófito son $4,1 \times 10^5$

ufc.g⁻¹ s.r., 32 % y 3,2 mg.g⁻¹, respectivamente; en cebolla el nivel crítico de la rizobacteria de mejor comportamiento, *A. chroococcum*, es 3,9 x 10³ ufc.g⁻¹ s.r.

6. Los mayores niveles de extracción de N, P y K se logran, en general, con las coinoculaciones, específicamente de *Azospirillum brasilense* con *Glomus clarum* y *G. fasciculatum* en las posturas de tomate y de *Azotobacter chroococcum* con las mismas especies de hongos micorrízicos para las posturas de cebolla.
7. En ambos cultivos existe alto grado de correspondencia entre las variantes de inoculación que garantizan un crecimiento adecuado de las posturas con las que presentan mayores niveles de colonización rizosférica y de extracción de nutrientes.
8. Posterior al trasplante, las plantas de tomate inoculadas en el semillero con *B. cepacia*, *A. brasilense* y *G. fasciculatum* + *A. brasilense* con la aplicación del 50 % de las dosis recomendadas de N y P; *A. brasilense* + *G. clarum* con el suministro de todo el nitrógeno y la mitad del requerimiento fosfórico y *A. chroococcum* + *G. clarum*, *A. chroococcum* + *G. fasciculatum* y *B. cepacia* + *G. fasciculatum* en presencia de todo el N y P requerido, proporcionan rendimientos similares al obtenido con la fertilización mineral; en cebolla las plantas inoculadas previamente con *A. chroococcum* y *A. chroococcum* + *G. clarum*, son las únicas que logran esta similitud con el testigo fertilizado.
9. La inoculación de semillas de tomate con las combinaciones de las rizobacterias *A. brasilense* y *A. chroococcum* y los hongos micorrízicos *Glomus clarum* y *G. fasciculatum* garantizan volúmenes de producción de posturas y relaciones Beneficio/Costo superiores a los obtenidos con la fertilización mineral, al igual que ocurre para las semillas de cebolla inoculadas con *A. chroococcum* y *A. chroococcum* + *G. clarum*.

V – CONCLUSIONES

1. El empleo de la inoculación, simple y combinada, con rizobacterias estimuladoras del crecimiento vegetal y hongos micorrízicos arbusculares demuestra ser una práctica efectiva para la producción de posturas de calidad de tomate y cebolla, constituyendo una alternativa nutricional válida a la fertilización mineral.
2. Las especies de rizobacterias *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense* y *Burkholderia cepacia* para el tomate y las dos primeras para la cebolla, garantizan la obtención de niveles adecuados de altura y longitud radical en las posturas sin necesidad de aplicar fertilizantes. El mismo efecto se logra con las especies de hongos micorrizógenos arbusculares *Glomus clarum* y *G. fasciculatum* para ambos cultivos.
3. Con las coinoculaciones de rizobacterias y hongos micorrízicos, sobre todo de las especies más efectivas, además de lograr posturas de calidad, tanto en tomate como en cebolla, se obtiene la potenciación de los efectos individuales de cada tipo de microorganismo, destacándose en este sentido las combinaciones de *Azospirillum brasilense* con *Glomus clarum* y *G. fasciculatum* y de *Azotobacter chroococcum* + *G. clarum* para el tomate. En cebolla sobresalen las combinaciones de *Azotobacter chroococcum* con *Glomus clarum* y *G. fasciculatum*.
4. Para ambos cultivos, al final de la etapa de semillero, todas las inoculaciones incrementan en la rizosfera los niveles poblacionales originales de las rizobacterias aplicadas, siendo el efecto muy notable en tomate sobre la población de *A. chroococcum* al inocular con *Glomus fasciculatum* y, en los dos cultivos y todas las especies de rizobacterias, al coinocularlas con hongos micorrízicos. De igual forma, los índices de colonización fúngica, sobre todo en tomate, se incrementan significativamente al coinocular los hongos micorrízicos con rizobacterias, en especial, *Azospirillum brasilense*.
5. En tomate, los niveles críticos a nivel de rizosfera de la población de *A. brasilense*, la colonización fúngica y la masa del endófito son $4,1 \times 10^5$

ufc.g⁻¹ s.r., 32 % y 3,2 mg.g⁻¹, respectivamente; en cebolla el nivel crítico de la rizobacteria de mejor comportamiento, *A. chroococcum*, es 3,9 x 10³ ufc.g⁻¹ s.r.

6. Los mayores niveles de extracción de N, P y K se logran, en general, con las coinoculaciones, específicamente de *Azospirillum brasilense* con *Glomus clarum* y *G. fasciculatum* en las posturas de tomate y de *Azotobacter chroococcum* con las mismas especies de hongos micorrízicos para las posturas de cebolla.
7. En ambos cultivos existe alto grado de correspondencia entre las variantes de inoculación que garantizan un crecimiento adecuado de las posturas con las que presentan mayores niveles de colonización rizosférica y de extracción de nutrientes.
8. Posterior al trasplante, las plantas de tomate inoculadas en el semillero con *B. cepacia*, *A. brasilense* y *G. fasciculatum* + *A. brasilense* con la aplicación del 50 % de las dosis recomendadas de N y P; *A. brasilense* + *G. clarum* con el suministro de todo el nitrógeno y la mitad del requerimiento fosfórico y *A. chroococcum* + *G. clarum*, *A. chroococcum* + *G. fasciculatum* y *B. cepacia* + *G. fasciculatum* en presencia de todo el N y P requerido, proporcionan rendimientos similares al obtenido con la fertilización mineral; en cebolla las plantas inoculadas previamente con *A. chroococcum* y *A. chroococcum* + *G. clarum*, son las únicas que logran esta similitud con el testigo fertilizado.
9. La inoculación de semillas de tomate con las combinaciones de las rizobacterias *A. brasilense* y *A. chroococcum* y los hongos micorrízicos *Glomus clarum* y *G. fasciculatum* garantizan volúmenes de producción de posturas y relaciones Beneficio/Costo superiores a los obtenidos con la fertilización mineral, al igual que ocurre para las semillas de cebolla inoculadas con *A. chroococcum* y *A. chroococcum* + *G. clarum*.

VI – RECOMENDACIONES

1. En condiciones edafoclimáticas similares a las estudiadas y para el cultivo de tomate emplear la inoculación con las rizobacterias *A. brasilense* y *B. cepacia* o las coinoculaciones *A. brasilense* + *G. clarum*, *A. brasilense* + *G. fasciculatum* , *A. chroococcum* + *G. clarum*, *A. chroococcum* + *G. fasciculatum*, y *B. cepacia* + *G. fasciculatum* para la producción de posturas de adecuada calidad y sin la aplicación de fertilizantes minerales. Para la cebolla, con igual fin, inocular con *A. chroococcum* o coinocular esta rizobacteria con *G. clarum*.
2. Profundizar en las investigaciones sobre los mecanismos de acción de los microorganismos rizosféricos cuando son aplicados conjuntamente para esclarecer su comportamiento en interacción con el medio edáfico, la especie vegetal y el clima.
3. Estudiar los efectos de la inoculación con rizobacterias y hongos MA para la producción de posturas de otras variedades y especies hortícolas como vía alternativa para dicho propósito.
4. Incluir los resultados obtenidos en los programas de enseñanza de pre y postgrado.

VII - REFERENCIAS

1. Acosta, M. ; Martínez Viera, R. ; Dibut, B. Efecto de la inoculación con *Azotobacter chroococcum* sobre distintas características fisiológicas de las plantas de tomate en la etapa de semillero. La Habana: INIFAT, 1992. 44 p.
2. Acosta, M. ; Martínez Viera, R. ; Dibut, B.. Influencia del *Azotobacter* sobre la fotosíntesis y respiración de cultivos de importancia económica. La Habana: INIFAT, 1993. 222 p.
3. Acosta, M; Dibut, B.; Martínez Viera, R; Pérez, A.; Ljunggreu, H.; Granhall, U.; Pérez, D.; Antúnez, N.; Rodríguez, J. Cambios fenológicos en las plantas inducidas por la bioactividad del fertilizante BIOSTIN. En: Reunión Latinoamericana de Rhizobiología. Programa y Resúmenes. Taller Internacional Bioferto '94. (17, 3: 1994: La Habana). La Habana: Palacio de las Convenciones, 1994. p.108.
4. Alarcón, A; Rodríguez, P.; Furrázola, E. ; Boicet, T. Evaluación de la efectividad de endomicorrizas arbusculares nativas de la región Bayamo en el cultivo del tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill). En: Taller de Biofertilización en los Trópicos. Programa y Resúmenes. Seminario Científico del INCA (4, 11 : 1998 : La Habana) 1998. p.191.
5. Almaguer, J., Hernández, C.; Moreno, B. Efectividad de un biosolubilizador fosfórico en tomate de transplante "Cambell-28" Cienfuegos : EESF Baragua, 1992.53 p.
6. Almaguer, J., Martínez, A.; Hernández, C., Brunett, E., Espinosa, W.; Moreno, B.. Uso de la fosforina en plantaciones de tomate sobre suelo Pardo Grisáceo del Escambray. En: Jornada Científica del Instituto de Suelo y Taller Nacional sobre desertificación. Resúmenes. (4,2 : 1996: La Habana), 1996 .p.139.
7. Altieri, MA. Agroecología. Bases científicas para una agricultura sustentable. CLADES. ACAO. Tercera Edición. La Habana. 1997. 249 p.
8. Arines, J. Aspectos físico-químicos y movilización biológica de nutrientes en el suelo y su incidencia en la formación y efectos de las micorrizas VA. En: Fijación y movilización de nutrientes. II: Fijación de nutrientes y micorrizas. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid. 1991.p: 203-220.
9. Arines, J; Porto, M. E. ; Vilariño, A.. Effect of manganese on vesicular-arbuscular mycorrhizal development in red clover plants and on soil Mn-oxidizing bacteria. Mycorrhiza. 1992, vol 127, p.131.

10. Augé, R.M. Stomatal behavior of arbuscular mycorrhizal plants. En: Arbuscular mycorrhizas: physiology and function, Dordrecht, Boston, London: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 201-237.
11. Azcón, R. y R. M. Tobar. Activity of nitrate reductase and glutamine synthetase in shoot and root of mycorrhizal *Allium cepa*. Effect of drought stress. Plant Sci. 1998., 133:1-8.
12. Azcón-Aguilar, C y Barea, J. M.. Interactions between mycorrhizal fungi and other rhizosphere microorganisms. En: Mycorrhizal Functioning. An integrative Plant- Fungal Process. Nueva York : Chapman y Hall, 1992. p. 163-198.
13. Azcón-Bieto y Talon, M. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Edit. Universidad de Barcelona. 1^{ra} Edición. 2000. 522 p.
14. Bacilio-Jiménez, M. ; Aguilar-Flores, S. ; del Valle, M. ; Pérez, A. ; Zepeda, A, and Zentero, E.. Endophytic bacteria in rice seeds inhibit early colonization of roots by *Azospirillum brasilense*. Soil Biology and Biochemistry. 2001. 33. p-167 - 172
15. Bagyaraj, D. J and Menge, J. A. Interaction between a VA mycorrhiza and *Azotobacter* and their effects on rhizosphere microflora and plant growth. New Phytol. 1989, 80: 567-573.
16. Barea , J. M.; Escudero, J. L y Azcón-Aguilar, C. Effects of introduced and indigenous VA mycorrhizas fungi on nodulation, growth and nutrition of *Medicago sativa* in phosphate fixing soils as affected by P fertilizers. Plant and Soils. 1980.54, p: 283-296.
17. Barea J.M.; Azcon, C.; Aguilar, J. A.; Ocampo. R.. Morfología, anatomía y citología de los MVA. Fijación biológica de nutrientes. Madrid: CSIC, 1991. 173 p.
18. Barea, D.M y C, Azcón- Aguilar. La rizosfera. Interacciones microbio- planta. Anales de Edafología y Agrobiología, 1982, vol 41, p. 1517-1532.
19. Barea, J.M ; R, Azcón, R. y Hayman, D.S.. Possible synergistic interactions between Endogone and phosphate soils. En: Endomycorrhizas. Londres: Academic Press, 1975. p.309-417.
20. Barelman , L. ; Meyer, J.M. ; Taraz, K. and Budzikiez, H. Cepaciachelin, a new catecholate siderophore from *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia*. Z. Naturforsch. 1996, 51. p627-630.
21. Bashan, Y y Levanony, H. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. Can. J. Microbiol., 1990, vol 36, p. 591-608.

22. Bashan, Y.; Holguín, G y Ferrera Cerrato, R. Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. Terra. 1996, 14(2). p-159-192.
23. Bashan, Y. Interaction of *Azospirillum spp. in soil: a review*. Biol. Fert. Soil. 1999, 29. p-246-256.
24. Bashan, Y. Isolation y characterization of PGPR. En: Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology. Boca Ratón: CRS Press, 1993, p. 331-345.
25. Bashan, Y. Potential use of *Azospirillum* as biofertilizer. Turrialba. 1993, 23(4) p-286-291.
26. Bejerano, R. C.; Martínez, J.C.; Frometa, F.. Micorrización del Tomate Campbell 28 en siembra directa, correlaciones morfoproductivas. En: I Taller Nacional sobre Desertificación en la República de Cuba. Resúmenes. (1: 1995: Guantánamo), 1995. p-57.
27. Bethlenfalvay, G.J y Linderman., R.G Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. ASA Special Publication., 1992, no.54.
28. Bethlenfalvay, G.J. Mycorrhizae in the agricultural plant- soil system. Symbiosis, 1992, vol 14, p. 413- 425.
29. Bigiramana, J. Induction of systemic resistance on bean- *Colletotrichum lindemuthianum*. Thesis submitted in the fulfilment of the requirements for the degree of Doctor (Ph. D) in applied Biological Sciences-Agronomy. Gent University. 2000.
30. Black, R. The role of mycorrhizal symbiosis in nutrition of Tropical plant. En: Tropical Mycorrhizal Research. Oxford Clarendon Press. 1980.p. 191-202.
31. Blanco, F. A y Salas, E.. Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación en Costa Rica. Agronomía Costarricense. 1997, vol 21, no 1, p. 55-67.
32. Bonfante-Fassolo, P. y Peroto, S. Plants and endomycorrhizal fungi: The cellular and basis of their interaction. En: Molecular signals in plant-microbe communications. Boca Ratón : CRC, 1992.p.445-470.
33. Bowen, G.D. The Biology and physiology of infestation and its development . En: Ecophysiology of V A Mycorrhizal Plants. Boca Ratón: CRC, 1987.p.25-57.
34. Cabrera, A. Características agroquímicas de los suelos Ferralíticos dedicados al cultivo de la caña de azúcar en Cuba. [Tesis de Dr. Ciencias Agrícolas]. MINAZ., INICA. 1991. 103 p.

35. Calderón, J. O; Maritza Planes y E. Utria. La biofertilización en el manejo de la nutrición vegetal en el agroecosistema de Sabaneta: Un estudio de caso. V Taller de Biofertilización en los Trópicos. XII Seminario Científico del INCA. Programa y Resúmenes.(5,12: 2000: La Habana), 2000. p-107
36. Cañizares, E.G. y Azcón-Aguilar, R.. Efectos de diferentes condiciones de pH y microelementos sobre el comportamiento de hongos MA. En: Resúmenes de BIOFERTRO'93.(1993: La Habana), 1993. p.227.
37. Casanova, A. Guía técnica para la producción de posturas de hortalizas en Cepellones. Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova". La Habana. 1999.
38. Casanova, A y González, F.M.. Hacia rendimientos superiores en hortalizas trasplantando cepellones. La Habana: Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova", 1999.
39. Castro, A, M y González, G.. Tecnología para la producción industrial de biofertilizantes con *Azospirillum sp.* En: II Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica. Resúmenes.(1995: La Habana). 1995. p.60.
40. Cate, R. B and Nelson, L. A. A simple statistical procedure for partitioning soil test correlation data into two classes. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 1971, 35 p-658-660.
41. Corbera, J. y M.C. Nápoles. Evaluación agronómica de la coinoculación *Bradyrhizobium japonicum* y hongos micorrizógenos arbusculares en el cultivo de la soya sobre suelo Ferralítico Rojo compactado. Cultivos Tropicales. 2000,21 (1): 21-25.
42. Coscaturca, A. Genetic studies on the auxin hypothesis in the *Azospirillum*/plant interaction. Dissertaciones de agriculture. 1995, vol 275, no1, p.25.
43. Cruz, A. de la; Poplawsky, y Wiese, M.V. Biological Suppresion of Potato Ring Rot by fluorescent *Pseudomonas*. Appl. Environ. Microbiol.1992, vol 58, no 6.
44. Cuba. MINAG. Dirección Nacional de Cultivos Varios (a). Guía Técnica para la producción del cultivo del Tomate. Quivicán, La Habana: IIH "Liliana Dimitrova", 2001 (en prensa)
45. Cuba. MINAG. Dirección Nacional de Cultivos Varios (b). Guía técnica para la producción del cultivo de la Cebolla, Quivican, La Habana: IIH "Liliana Dimitrova", 2001 (en prensa)
46. Cuba. MINAG. Dirección Nacional de Cultivos Varios. Hortalizas. Instructivo Técnico del tomate.1983.

47. Cuba. MINAG. Dirección Nacional de Cultivos Varios. Hortalizas. Instructivo Técnico de la cebolla.1984.
48. Cuba. MINAG. Dirección Nacional de Cultivos Varios. Hortalizas. Informe Final de la campaña hortícola 2000-2001. La Habana,2001.
49. Cuba. MINAG. Dirección Nacional de Cultivos Varios. Hortalizas. Indicadores económicos de los semilleros hortícolas. La Habana,2001 (c).
50. Cuba. MINAG. Listado Oficial de Precios. Delegación Provincial. Cultivos Varios. Ciego de Avila.2001(b).
51. Cuba. MINAG. Delegación Provincial. Cultivos Varios. Ciego de Avila.2001(a)
52. Cuba. MINAG. Listados de Precios del INIFAT. 2000
53. Cuba. CITMA. Bases para la Estrategia Biotecnológica Agropecuaria 2000-2005. Informe presentado en la sesión del Polo Científico del Oeste. FRENTE BIOGRÍCOLA. ACYT. CITMA, 2000.
54. Cuba.MINAG. Principales producciones en 1997.La Habana: CIDA, 1997.
55. Cuervo, J. y Rivas-Platero, G. . Biotar rizosférica: Un recurso para promover el crecimiento y la protección de las plantas. Manejo integrado de plagas. Hoja Técnica.1997, vol 21, p.1-4.
56. De Meyer, G. and Hofte, M. Salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 induces resistance to leaf infection by *Botrytis cinerea* on bean. *Phytopathology*. 1997.87.588-593.
57. De Salmone, I. E. G.;Inés, R. K. ; Nelson, L. M. Cytoquinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Canadian Journal of Microbiology*. 2001. 47(5). 404-411.
58. Dell' Amico, J.; Rodríguez, P.; Torrecillas, A.; Morte, A.; Sánchez-Blanco, M. Influencia de la micorrización en el crecimiento y las relaciones hídricas de plantas de tomate sometidas a un ciclo de sequía y recuperación. *Cultivos Tropicales*.2002, 23 (1), p. 29-34.
59. Dibut , B; R Martínez Viera ; R. González . Acción estimuladora de *A. chroococcum* sobre el cultivo del tomate en suelos Ferralíticos Rojos. II Efecto sobre la floración y fructificación. *Agrotecnia de Cuba*. 1997. 27(2):24-31.
60. Dibut, B., M. Acosta, R. Martínez y H. Ljingsgren. Producción de aminoácidos por una cepa cubana de *Azotobacter chroococcum*. *Cultivos Tropicales*. 1995. 16(1) p-16-18.

61. Dibut, B.; Boza, N.; Martínez, R; Gutiérrez, A.; Acosta, M.C.. Efecto de la bacterización con *Azotobacter chroococcum* sobre el desarrollo y rendimiento del cultivo del arroz..En: Seminario Científico y Taller Internacional sobre biofertilización en los trópicos (Bioferto´92).(8:1: 1992: La Habana), 1992 (a). p-44.
62. Dibut, B; Acosta, M.C.; Martínez, R.; Nikander, B. ;. Ljunggreen, H. Producción de aminoácidos y citoquininas por una cepa cubana de *Azotobacter chroococcum*.En: Seminario Científico y Taller Internacional sobre biofertilización en los trópicos (Bioferto´92).(8:1: 1992: La Habana), 1992 (b). p-35.
63. Dibut, B. Obtención de un bioestimulador del crecimiento y el rendimiento para el beneficio de la cebolla (*Allium cepa*, L). [Tesis de Doctorado],.INIFAT, 2000.
64. Dileep, B.S and H.C Dubet. Seed bacterization with a *fluorescent Pseudomonas* for enhanced plant growth, yield disease control. Soil. Boil. Biochem. 1992. 24 (6). 539-542.
65. Domínguez, A. Tratado de Fertilización – 2da. Ed. Madrid: Mundi Prensa, 1989. 585 p.
66. Dominique R. Effects of vesicular arbuscular mycorrhizal colonization on nitrogen metabolism in the host plant. En: <http://www-ICOM2.sluse/Abstracts/abstracts.htm1>, 1998.
67. Dommelen, A. V. Ammonium transports in *Azospirillum brasilense*. Dissertaciones de agriculture. 1998, vol 1, p.1-9.
68. Dood, J. C and Thompson, B. D. The screening and selection of inoculant arbuscular mycorrhizal and ectomicorrhizal fungi. Plant and Soil. 1994, 159, p-149-158.
69. Driessen, P.; Deckers, J.; Sparargaren, O.; Nachtergaele, F. Lecture Notes on the Major Soils of the World. World Soil Resources Reports. 94. FAO. 2001. 334 p.
70. Edwards, S.G.; Young, J.P. y Fitter, A.H.. Interactions between *Pseudomonas fluorescens* biocontrol agents and *Glomus mosseae* an arbuscular mycorrhizal fungus, within the rhizosphere. FEMS Microbiol Lett. , 1998, vol 166, no 2, p.297-303.

71. Fages, J. *Azospirillum* inoculation and field experiments. En: *Azospirillum/ plant association*. Okon, Y. (ed). Boca Ratón: CRC Pres, 1994, p- 87-109.
72. Fallik, E.; Sarg, S. y Okon, Y. Morphology and physiology of plant roots associated with *Azospirillum* in wheat. En: *Azospirillum/ plant association*. Okon, Y. (ed). Boca Ratón: CRC Pres, 1994, p- 77-85.
73. FAO Anuario Estadístico, 2001.
74. FAO. Los fertilizantes y su empleo. Guía de bolsillo para los extensionistas. 3^{ra} Edición. Roma. 1980. 54 p.
75. Fernández, C. y Novo, R.. Ciclo del Nitrógeno en el suelo. Vida Microbiana en el Suelo. 2.ed. La Habana : Pueblo y Educación. 1988. 410 p.
76. Fernández, C. R. Riesgos ambientales asociados con la aplicación de biofertilizantes y biocontroles. Cultivos Tropicales, 1994., vol 15, no 3, p.72.
77. Fernández, F. Manejo de los movimientos micorrízicos arbusculares sobre la producción de posturas de cafeto (*C.arabiga* L.var.Catura) en algunos suelos. [Tesis de Doctorado], INCA, 1999.
78. Fernández, F.; Vanega, L.F.; De la Noval, B.; Rivera,R. Producto Inoculante Micorrizógeno. Certificado de autor de Invención. Oficina Nacional de la Propiedad Industrial. Nro.: 22 641. La Habana, 2000.
79. Fernández, F; Providencia, I de la ; Fernández, K. y Llonín, D.. Las endomicorrizas arbusculares, su uso y perspectivas futuras. Nuevas líneas de investigación. En: Programas y resúmenes del Seminario Científico del INCA. (11: 1998: La Habana), 1998. p 179
80. Ferrer, R. L; Pouyú, E.; Furrázola, E.; Valdés, A. Influencia de las micorrizas nativas y dos cepas seleccionadas sobre el crecimiento de dos variedades de ajo (*Allium sativum*) en condiciones de campo. En: VII Seminario Científico y I Taller Internacional sobre biofertilización en los trópicos (Bioferto'92), (7: 1992: La Habana), 1992 (a) .p.48.
81. Ferrer, R. y Herrera, R.. Breve reseña sobre los biofertilizantes . La Habana: IES-CITMA, 1991.50 p.
82. Fitter, A. H. Water relation of red clover *Trifolium pratense* L. as affected by VAM infection and phosphorus supply before and during drought. J. Expe. Bot. 1988, 39 p- 595-603.
83. Fitter, A. H. y Garbage, J. Interaction between micorrhizal fungi and other soil microorganisms. Plant and Soil. 1994, 159,p- 123-132.

84. Furlan, V y Fortin, J.A. Effects of light intensity in formation of vesicular-arbuscular mycorrhizae on *Allium cepa* by *Gigaspora calospora*. *New Phytol.* 1997, 79, p- 335-340.
85. García, D. . Aislamiento y caracterización de algunos géneros bacterianos presentes en la rizosfera del maíz. Trabajo de Diploma, UH (Biol), 1996. 45p.
86. Gavito de Oliveira, M y Martín, C.A. Enraizamiento de plantas cultivada. Aspectos pertinentes as culturas olerícolas. En: Nutricao y adubacao de hortalizas. Anais de imposio sobre nutricao o adubacao de hortalicas – Brasil POTAFOS, 1993. p.49.
87. Giaconi, M. V. y M. Escaff. Cultivo de Hortalizas. Santiago de Chile : Editorial Universitaria, 1993.p.328.
88. Gianinazzi, S. ; Trouvelot, A. ; Gianinazzi-Pearson, V.. Role and use of micorrizas in horticultural crop production. *Advances in Horticultural Science*, 1991, vol 4, p. 25-30.
89. Gianinazzi-Pearson, V.; Dien, H.G. ; Clerver, T y Loquers, S.. Relation between the critical concentration of nitrogen, phosphorus and potassium in 17 different vegetables crops and duration of growth. *J. Sci. Food. Agric* 1982, vol 31, no 12, p.1343-1353.
90. Gillis, M. Tran Van, V. ; Bardin, R. ; Goor, M. ; Hebbar, P. ; Willens, A ; Segers, p. ; Kesters, K. ; Heulin, F. and M.P. Fernández. Polyphasic taxomony in the genus *Burkholderia* leading to an emendeddescription of the genus and proposition of *Burkholderia vietnamiensis* sp. nov For N₂ fixing isolated from rice in Vietnam. *Int. J. Sist. Bacteriol.* 1995.45. p-274-289.
91. Glandorf, D. Agglutination, adherence and root colonization by *Pseudomonas fluorescens*. *Applied and environmental microbiology.* 1994, vol 60, no 6, p.1726-1733.
92. Gómez, O.; Casanova, A.; Latenot, H.; Anaisi, G. Mejora genética y manejo del cultivo del tomate para la producción en el Caribe. La Habana. 2000. 159 p.
93. González- López , J ; V . Salmerón ; J. Marrero y A. Ramos-Cormenzana. Amino acids and vitamins produced by *Azotobacter vinelandii* ATCC 12837 in chemically defined media and dialysed soil media. *Soil. Biol. . Biochem.* 1986. 15: 711-713.
94. González, A.; Lacasa, A.; Rodríguez, R. ; Fernández, J.A ; Franco, J.A. Rizobacterización de plántulas de Pimiento: Influencia en la fase de semillero y

- en la producción del cultivo. Agrícola Vergel: Fruticultura, Horticultura, Floricultura.2000, vol 19, no 227, p.727-735.
95. Gould, W. D. Biological control of plant roots disease by bacteria. En: Biotechnology of Plant Microbe Interactions, 1990 p. 278-317.
 96. Gryndler, M. Interactions of arbuscular mycorrhizal fungi with others soils organisms. P-239-262. 2000. EN: Kapulnik, Y. and Douds,D. (Eds.) Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Funtion, 2000.
 97. Gryndler, M.; Hrselová, H.; Chvátalová, I.,and Jansa, J. The effect of selected planta hormones on *in-vitro* proliferation of hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus fistulosum*. Biol. Plant. 1998, 41 p- 255-263.
 98. Guerrero, E.; Revilla, C. y Lucía, E. Perspectivas de manejo de la micorrización en ecosistemas naturales. En: Micorrizas recurso biológico del suelo. Cali: Colombia: Fondo FEN, 1996. p. 5-16.
 99. Hayman, D. S. The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. Can. J. Bot. 1987, 61. p- 944-963.
 100. Hayman, D.S. Plant growth responses to vesicular- arbuscular mycorrhizae. Effects of light and temperature. New Phyt. 1974, 73, 71-80.
 101. Hebbbar, K.; Martel, M. y T. Heulin . *Burkholderia cepacia* a plant growth promoting rhizobacteria associate of maize .Proceedings of the Third International Workshop on Plant Growth Promoting Rhizobacteria. 1994. p 201-203.
 102. Hernández, A. Caracterización de cepas de *Pseudomonas cepacia* y *Pseudomonas fluorescens* aisladas en la rizosfera del maíz [Tesis de Maestria], INCA, 1998.
 103. Hernández, A. N.; García , D.; Hernández, A. y M. Heydrich. Determinación de algunos géneros bacterianos presentes en la rizosfera del cultivo del maíz. Cultivos Tropicales. 1997. 18(3). 10-14.
 104. Hernández, A. N.; Hernández, A. y Heydrich, M. Selección de rizobacterias asociadas al cultivo del maíz.. Cultivos Tropicales.1995, vol 16, no 3, p.5-8.
 105. Hernández, A. N.; Martínez, J. y Velásquez, M. Identificación de alcaloides en cultivos de *Burkholderia cepacia*. Memoriasa XXX Congreso Nacional de Microbiología. Oaxtepec, Morelos, México. 1999 (a).
 106. Hernández, A. Pérez, J., Bosch., Rivero, L. D . Nueva versión de Clasificación Genética de los Suelos de Cuba. La Habana: AGRINFOR, MINAGRI. Instituto de Suelos. 1999.64 p.

107. Hernández, A. Utilización de rizobacterias como inoculante microbiano. [Trabajo de Diploma]; Facultad de Biología, Universidad de la Habana, 1992. 45p.
108. Hernández, A.N. Selección de rizobacterias para la biofertilización en el cultivo del maíz. Tesis .La Habana. CU.(Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas).Facultad de Biología. Universidad de la Habana. 1996. 48 p.
109. Hernández, M.I. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como complemento de la nutrición mineral de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) [Tesis de Maestría], INCA, 2000.
110. Hernández, M. I; Chailloux, M. ; Casanova, A. ; Ojeda, A. y Mc Donald, J.M. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas en cepellones de tomate. En: IV Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica. Programa y Resúmenes.(4 : 2001 : La Habana), 2001.p.192.
111. Hernández, M.I; Sotolongo, J ; Chailloux, M ; Ojeda, A ; Cárdenas, T: Complementación de la nutrición mineral del tomate mediante el uso de los biofertilizantes. En: IV Taller de biofertilizantes en los Trópicos. Programa y Resúmenes. XI Seminario Científico del INCA.(4,11: 1998 : La Habana), 1998 (a). p-192.
112. Herrera, R.; Ferrer, R.; Furrasola, E. y Orozco, M.O. Estrategia de funcionamiento de las micorrizas VA en un bosque tropical. Biodiversidad en Iberoamérica. Ecosistemas, Evolución y Procesos Sociales. (Eds. Maximum Monasterio). Prog. Iberoam. Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Subprograma XII: Diversidad Biológica. Mérida. 1995.
113. Herrera, R.; Ferrer, R.; Orozco, M.O ; Hernández, G.; y Vencura,V.(b) Fertilización y micorrizas VA. II. Análisis del balance de macronutrientes en varios experimentos. Acta Botánica Cubana.1984 (b), no20, p.11-142
114. Herrera, R.; Ferrer, R.; Orozco, M.O.; Prikryl, Z.; Hernández, G.; Vancura,(a) V. Fertilización y micorrizas VA. I. Efectos de nitrógeno, el fósforo, y el potasio sobre el crecimiento y las micorrizas de la majagua (*Hibiscus elatus* Sw.). Acta Botánica Cubana.1984 (a),.no.20, p-93-110.
115. Howeler, R.H. Practical aspects of mycorrhizal Technology in some Tropical crops and pastures. Plant and Soil .1987, vol 100, p.249-283
116. Huerres, C. , Caraballo, N. Horticultura. La Habana: Editorial Pueblo y Educación.,1988.

117. IFA (International Fertilizer Industry Association). World Fertilizer Use Manual., 1999. 600 p.
118. IFOAM. *What is IFOAM?*, 1998 [Fecha de consulta 6/10/2001]. Disponible en: <<http://ecoweb.dk/ifoam>>
119. INCA (Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas). Manual de técnicas analíticas para Análisis de Suelo, Foliar, Abonos Orgánicos y Fertilizantes Químicos.. La Habana. 1999.
120. INCA.(Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas). Listado Oficial de Precios.2000.
121. Inghan, E. , Molina, R. Interaction among mycorrhizal fungi, rhizosphere organisms, and plants. *Microbial Mediation of Plant-Herbivore Interactions*, 1991. p.169-197.
122. Ishii, T., Shrestha, Y.H.,Matsumoto, I. And Kadoya, K. Effect of ethylene on the growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal formation of trifoliolate orange roots. *J. Japan. Hort. Sci.* 1996, 65 p- 525-529.
123. Johanson, A.; Kobsen, I. J y Jenssen, E.S. Hyphal N transport by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus associated with cucumber grown at three nitrogen levels. *Plant and Soil* .1994, vol 160, p.1-9.
124. Kloepper, J. ; Schrot, W. y Miller, T. D. Effect of rhizosphere colonization by Plant Growth Promoting Rhizobacter on potato plant development and yield. *Phytopathology* .1992, vol 70, p.1078-1082.
125. Knee, E.M.; Gong, F.C.; Gao, M.S.; Teplitski, M; Jones, A.R.; Foxworthy, A.; Mort, A. and W. D. Bauer.. Root mucilage from pea and its utilization by rizosphere bacteria as a sole carbon source. *Molecular plant-microbe interactions*.2001. 14(6). 775-784
126. Koide, R.T.Nutrient supply, nutrient demand and plant response to micorrhizal infection . *New Phytol.*1991, vol 117, p.365-386 .
127. Kucey, R. M. N. Alteration of size of wheat root systems and nitrogen fixation by associative nitrogen-fixing bacteria measured under field conditions. *Can. J. Microbiol.* 1988, 34 p-735-739.
128. Kurle, J.E. y Pflieger, F.L. the effects of cultural practices and pesticides on VAM fungi. En: *Mycorrhizae and Plant Health*. Minnesota: APS Press, 1994.

129. Lara, D. Evaluación de sustratos y biofertilizantes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) utilizando la tecnología de cepellones. [Tesis de Maestría]. La Habana, INCA, 1999.
130. Lecaton, L.y Obaton, M. Faune.et flore do sol les organisms symbiotiques faune et flores auxiliares en agriculture. Paris: Ed.ACTA., 1983. p. 113-119
131. Lerch, G. La experimentación en las Ciencias Biológicas y Agrícolas. Editorial Científico-Técnica. La Habana. 1977.
132. Liderman, R. G. Mycorrhizal interaction with the rhizosphere micoflora the mycorrhizosphere effect. Phytopatology. 1988,78 p- 366-371.
133. Liderman, R.G. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. in Mycorrhizae in sustainable agriculture. ASA Special Publication.1992, no.54, p.45-70.
134. Louis, I. y Lim, J. Differential response and growthand mycorrhizal colonization on soybean to inoculation with two isolates of *Glomus clarum* in soils of different P availability. Plant and Soil, 1988.
135. Lynch, J.M. The rhizosphere. London : Mc Milland,. 1992. 366p.
136. Lynch, M.y Whipps, J.M. Substrate flowing the rhizosphere. Plant and Soil. 1990, vol 129, p 1-10.
137. Llonín, D. Nutrición mineral con NPK y biofertilización con hongos MA en el cultivo del tomate en suelo Ferralítico Rojo compactado. [Tesis de Maestría.], INCA, 1998.
138. Llonín, D.; Novella, R.; Fernández, K.; Noval, B. de la. ; Providencia, I. de la. ; Fernández, F.; Pérez, E. y Medina, N. Efecto de la aplicación de fuentes y dosis de fertilización fosfórica en presencia o no de micorrizas arbusculares sobre el desarrollo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en época no óptima. En: Taller de Biofertilización en los Trópicos. Programa y Resúmenes. Seminario Científico del INCA.(4,11: 1998: La Habana), 1998 p-190.
139. Llonín, D.; Pérez, E.; Fernández, K.; Providencia, I. de la ; Fernández, F. ; Rodríguez, Y. y Mirabal, L.(a). Estudio de la eficiencia de la inoculación con HFM y su relación con la nutrición en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill).En: Taller de Biofertilización en los Trópicos. Seminario Científico del INCA. Programa y Resúmenes.(5,12 : 2000 : La Habana), 2000.p-114
140. Maestrey, A. ; Cardoza, H. ; Chailloux, M. y Alarcón, W. Extracción de nutrientes por el tomate cultivado en primavera. II. Consumo de nitrógeno, fósforo y potasio durante el ciclo del cultivo. Ciencia y Técnica en la agricultura. 1987, vol 10, no 2, p. 17-22.

141. Maestrey, A. Fertilización del tomate cultivado en primavera. [Tesis de Doctorado]; ISCAH, 1986. 97p.
142. Manjarrez-Martínez, M.J; Ferrera-Cerrato, R y González-Chávez, E. Efecto de la vermicomposta y la micorriza arbuscular en dos especies hortícolas. En: Avances de la Investigación Micorrízica en México. Universidad Veracruzana. 1998.
143. Manjuranath, A., Mohan, R. and Bagyaraj, D. J. Interaction between *Beijernckia mobilis*, *Aspergillus niger* and *Glomus fasciculatum* and their effects on growth of onion. New Phytol. 87: 723-727.1981.
144. Margallo, L. ; Martín, A. y Nogueira, C. *Bioteología en la Agricultura.*, 2001 [Fecha de consulta dic/2001]. Disponible en: http://webcd.usal.es/web/transgen00/otrdoc/pgpr/trabajo_pgpr.htm >
145. Maroto, J. V. Horticultura herbácea especial. Madrid:. Ediciones Mundi Prensa, 1995 p-452.
146. Marschner, H y Dell, B. Nutrient uptake. Mycorrhizal symbiosis. Plant and Soil.1995, vol 159, p.89-102.
147. Marschner, H. Mineral nutrition of higher plants. London :Academic Press, 1995.
148. Martínez Viera, R. ; Dibut, B. ; Casanova, I. y Ortega, M. Acción estimuladora de *Azotobacter chroococcum* sobre el cultivo del tomate en suelo Ferralítico Rojo. Efecto sobre los semilleros. Agrotecnia de Cuba 1997, vol 27, no 1, p. 23-26.
149. Martínez Viera, R. Efecto económico de las aplicaciones de biofertilizantes a base de *Azotobacter* en la agricultura cubana. XVII Reunión Latinoamericana de Rhizobiología. Programa y Resúmenes. III Taller Internacional Bioferto '94.(17, 3 : 1994: La Habana), 1994.p-39.
150. Martínez Viera, R. y Hernández, G. Los biofertilizantes en la agricultura cubana. En: II Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica. Conferencias y mesas redondas.(2: 1995 : Villa Clara), 1995. p .43-47.
151. Martínez Viera, R., B. Dibut, Irma Casanova y Marisel Ortega. Acción estimuladora de *Azotobacter chroococcum* sobre el cultivo del tomate en suelo Ferralítico Rojo. Efecto sobre los semillero. Agrotecnia de Cuba. 1997, 27(1) p-23-26.
152. Martínez Viera, R.; Dibut Alvarez, B. y González Pérez, R. Resultados obtenidos en la inoculación de la bacteria *Azotobacter chroococcum* en semilleros de hortalizas en distintos tipos de suelo La Habana: INIFAT, 1991. p. 3.

153. Martínez Viera, R.; Dibut Alvarez, B.; Acosta Rivera, M. y González Pérez, R. Acortamiento del período de semillero en distintos cultivos económicos por la acción de *Azotobacter chroococcum*. La Habana: INIFAT, 1993. p. 221.
154. Martínez Viera, R.; Dibut, B ; Rodríguez, R. y Acosta, D. Acción estimuladora de *Azotobacter chroococcum* sobre los cultivos de tomate y cebolla en los suelos Ferralíticos Rojos. La Habana: INIFAT, 1988. p.6.
155. Martínez Viera, R.; Dibut, B.; Acosta, M; González, R. Utilización de biopreparados a base de *Azotobacter chroococcum* en la agricultura cubana. En: Seminario Científico y Taller Internacional sobre biofertilización en los trópicos (Bioferto'92).(8,1 : 1992: La Habana), 1992. p-44.
156. Martínez, A. Utilización de la fosforina en el cultivo del tomate. La Habana: Instituto de Suelos, 1993.—p. 217.
157. Mato, M.C. Effect of fungal humic-like polymers and their phenolic units on auxin destruction. *Soil Biol. Biochem.* 1975, 8 p- 833-835.
158. Maurhofer, M. ; Hase, C. ; Meuwly, P. ; Métraux, J-P. and G. Défago. Induction of systematic resistance of tobacco to Tobacco Necrosis Virus by the root colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO :Influence of the gac A Gene and of Pyoverdine production. *Phytopathology.* 1994. 84(2).p-562-570.
159. Maurhofer, M. ; Reimann, C. ; Schmidli-Sacherer, P. ; Heeb, S. ; Haas, D. and G. Défago . Salicylic acid biosynthetic genes expressed in *Pseudomonas fluorescens* strain P3 improve the induction of systemic resistance in tobacco against tobacco necrosis virus. *Phytopathology.* 1998. 88. p. 678-684.
160. Medina, N. y Pino, M. Evaluación de diferentes especies de bacterias y hongos MVA y sus combinaciones como biofertilizantes para el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) cultivado fuera de época. En: Seminario Científico y Taller Internacional sobre biofertilización en los trópicos (Bioferto'92).(7, 1: 1992: La Habana), 1992. p-38.
161. Medina, N: La biofertilización como alternativa para la nutrición mineral del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill)). En: Reunión Latinoamericana de Rhizobiología. Programa y Resúmenes. Taller Internacional Bioferto '94. (17,3 : 1994: La Habana), 1994.p .106 – 107.
162. Méndez, J. ; Silveiro, C. ; Aguila, D. ; Martínez, A. ; Cuni, W. ; Vazquez, B. Uso de la fosforina en dos tipos de suelos diferentes de la Isla de la Juventud plantado de tomate var. Campbell 28.- - Isla de la Juventud: Instituto de Suelos, 1992. p. 54.

163. Menezes dos Santos, J.R. Producción de Tomate en América Latina y el Caribe. En: Producción, postcosecha, procesamiento y comercialización del ajo, cebolla y tomate. Santiago de Chile: FAO , 1992. 413 p.
164. Mesa, A. ; Casanova, A. y Quintero, P.L. La rotación de los cultivos en los sistemas de agricultura sostenible. En: Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica. Conferencias y Mesas Redondas.(2 : 1995 : Villa Clara), 1995. p 27.
165. Meyer, I. N, D Hohnadel y F. Hillé. Cepabactin from *Pseudomonas cepaceae*, a new tipe of siderophore. I. Gen. Microbiol.1998, vol 135, p. 1479-1487.
166. Mirabal, L. ; Fernández, F. ; Ortega, E. ; Llonín, D. ; Fernández, K. ; Pérez, E. y Rodríguez, Y. Aislamiento e identificación de la microbiota asociada a la pared de las esporas de *Glomus Clarum*. En: Taller de Biofertilización en los Trópicos. Seminario Científico del INCA. Programa y Resúmenes. (5, 12 : 2000 : La Habana), 2000. p-111.
167. Miranda, J. C.C y Harris, P. J. The effect of soil phosphorus on the external mycelium growth of arbuscular mycorrhizal fungi during the early stages of mycorrhizal formation. Plant and Soil.1994, vol 166, p.271-280.
168. Miranda, J.C:C de ; Miranda, N de. Efeito da acidez do solo na eficiencia de fungos micorrizicos vessículo-arbusculares nativos do solo de cerrado. Florianópolis.En: REBRAM. Resúmenes.(5: 1994: Sta Catalina), 1994.p.13.
169. Morton, J. B y D. Redecker. Two new families of Glomales: *Anchoesporaceae* y *Paraglomaceae* with two genera *Archoespora* y *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. Mycología. 2001, 93 (1) p- 181-185.
170. Murty, M. G. and Ladha, J. K. Influence of Azospirillum inoculation on the mineral uptake and growth of rice under hydroponic conditions. Plant and Soil. 1988, 108 p- 281-285.
171. Nieto, K.F y W. T. Frankerberger, Jr. Microbial production of cytokinins. Soil. Biochem.,1990, vol 6, p. 191-248.
172. Novella, R. y Medina, N. La fertilización con hongos micorrizógenos como fuente de nitrógeno para la producción de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). En: IV Taller de Biofertilización en los Trópicos. Programa y Resúmenes. XI Seminario Científico del INCA.(4: 1998 : La Habana), 1998.p-190.
173. Nuez, F. El cultivo del tomate-Bilbao. Madrid : Ediciones Mundi Prensa, 1995.793 p.

174. Ojeda, L. Efecto de micorrizas vesículo arbusculares del género *Glomus* en la producción de leguminosas forrajeras promisorias de la cuenca pecuaria "El tablón". [Tesis de grado], Instituto de Suelo, Villa Clara. 1998.
175. Okon and Labandera – González, C.A. Physiological and agronomic aspects of *Azospirillum inoculants*. En: Reunión Latinoamericana de Rhizobiología . Programa y Resúmenes. Taller Internacional Bioferto "94. (17, 3 : 1994: La Habana), 1994.p. 41-42.
176. Orozco, M. O. Micorrizas VA, micelio extramátrico y otras poblaciones microbianas asociadas a troncos en descomposición en un bosque tropical. En: Informe N° 18. Ciclo lectivo sobre el tema de investigación en micorrizas. IFS: Stocklm, 1986. p. 251-271.
177. Ortiz, S. Estudio de las condiciones de crecimiento de *B. cepacia* 0057 para la producción de sideróforos. [Tesis de Maestría]; Univ. de la Habana, 2001.
178. Pallerony, N. Family 1. *Pseudomonasceae*, En: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore : The Willian and Wilkins, 1984. 205 p.
179. Paschoal, A. D. Producao Orgánica de Alimentos: Agricultura sustentável para os séculos XX e XXI: Guia técnico e normativo para o produtor, o comerciante e o industrial de alimentos orgânicos e insumos naturais. Piracicaba : Editora Globo, 1994. 191 p.
180. Paulitz, T. C. and Liderman, R.G. Interactions between *fluorescens Pseudomonas* and VA mycorrhizal fungi .New Phytol. 1989, 113 p - 37-45.
181. Pazos, M. Aislamiento e identificación de cepas nativas, pertenecientes al género *Azospirillum*, mediante técnicas moleculares [Tesis de Maestría] ; U. H, 2000.
182. Pazos, M. y A. Hernández. Aislamiento y caracterización de cepas de *Azospirillum brasilense*, asociadas al cultivo del arroz. Cultivos Tropicales, 1999. vol. 22(1).6-8.
183. Peña, S.E de la. y Torres, E. La biofertilización: Alternativas para el desarrollo rural. En:. Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos. Lima, 1992. p.180
184. Pérez Díaz, A.; Rodríguez Fernández, P. ; Vinenes, G.R. ; Rosa Fabre, P. de la. y González Rivaz, A. Efectividad de la inoculación con diferentes concentraciones de *Azotobacter* y dos cepas de *Glomus sp* en posturas de tomate. Bayamo: IS CAB, 1993. p.219.
185. Perry, D.A. Species migration and ecosystem stability duren climate change; The belowground connection. Conservation Biology. 1990, vol 4, p. 266-274.

186. Picard, C.; Di Cello, F.; Ventura, M.; Fani, R. and Guckert. Frequency and Biodiversity of 2,4 Diacetylphlorogucinol-producing bacteria isolated from the maize rhizosphere at different stages of Plant Growth. Applied and Environmental Microbiology. 2000. 66 (3). 948-955.
187. Piccini, D. y Azcon, R. Effect of phosphate solubilizing bacteria and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi on the utilization of bayovar rock phosphate by Alfalfa plant using a sand vermiculite medium. Plant and Soil. 1987, vol 107, p. 45-50.
188. Piñeiro, F. Comunicación personal. Dirección Nacional de Cultivos Varios. CUBA.MINAGRI. La Habana. 2001.
189. Poss, J. A. ; Pond, E. ; Menge, J.A ; Jarrell, W. M. Effect of salinity on mycorrhizal onion and tomato in soil with a without additional phosphate. Plant and Soil 1985, vol 88, no 3, p. 307-319 .
190. Primavesi, A. Manejo ecológico do solo .A agricultura em regiones tropicales .9^{na} .ed. Sao Pablo : Ed. Nobel, 1990.
191. Pulido, L. y Peralta, H. Uso de biofertilizantes en la producción de posturas de tomate. En: Programa y Resúmenes. Seminario Científico del INCA y Taller de Biofertilización en los trópicos.(10, 3: 1996 : La Habana), 1996 (b).p.87.
192. Pulido, L.; Peralta, H.; Pacheco, E.; Fernández, M.; Pérez, I.; Vega, E. Efectos de diferentes cepas de micorrizas arbusculares en la producción de posturas de cebolla sobre un suelo Ferralítico Rojo de la provincia de Ciego de Avila .En: Seminario Científico del INCA y Taller de biofertilización en los trópicos. (11, 4 : 1998 : La Habana) 1998. p.196.
193. Ragland, I. ; Thamburaj, G. S. ; Kandasamy, D. Studies on the effect of biofertilizer on the bulb yield in Bellary Onion (*Allium cepa* L.) South Indian Horticulture. 1989, vol 37 , no 3, p. 150 – 153.
194. Ramírez, R. Biofertilización del tomate en las condiciones edafoclimáticas de suelos Pardos Mullidos sin carbonato de la provincia de Holguín. [Tesis de Maestría] ; INCA, 2001.
195. Ravelo, R. ; Cuñarro, R. y Almenares, J.C. Influencia productiva del *Azotobacter chroococcum* en el cultivo de la cebolla (*Allium cepa* L).En: Taller de Biofertilización en los Trópicos. Programa y Resúmenes. Seminario Científico del INCA.(4,11 : 1998 : La Habana), 1998.p. 182
196. Ravelo. R. ; Cuñarro, R. y Almenares, J.C.. Influencia del *Azotobacter chroococcum* aplicado en distintas dosis y en dos momentos en el crecimiento y rendimiento de la cebolla (*Allium cepa*, L).En: Taller de Biofertilización en los Trópicos. Seminario Científico del INCA. Programa y Resúmenes.(5, 12 : 2000 : La Habana), 2000. p-108.

197. Reynaldo, I. M.; Llonin, D. y Medina, N. Influencia de la micorrización sobre la utilización del Nitrógeno en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*). En: Taller de Biofertilización en los Trópicos. Seminario Científico del INCA. Programa y Resúmenes. (5, 12 : 2000 : La Habana), 2000.p-113
198. Rivera, R. Disponibilidad de nutrientes y fertilización de los sistemas agrícolas micorrizados :Resultados en la producción de las posturas de cafeto y de raíces y tubérculos. En: Resúmenes del Aniversario Científico . Simposio Internacional sobre caracterización y manejo de microorganismos rizosféricos como biofertilizantes y Taller de biofertilizantes en los tropicos. (12, 5 : 2000 : La Habana), 2000. p.102.
199. Rivera, R.; Ruiz, L.; Fernández, F., Sánchez.; Fernández, K. Efectividad de la simbiosis micorrízica, suministro de nutrientes y nutrición de las plantas. En: Congreso Latinoamericano y Cubano de la Ciencia del Suelo. Programa y Resúmenes.(15, 2001: La Habana), 2001. p. 113.
200. Rodríguez del Rincón, A. Manejo del cultivo extensivo para industria. En: El cultivo del tomate. Madrid : Ediciones Mundi – Prensa, 1995. 794 p.
201. Rodríguez, A. ; Álvarez, J.A. y González, J.A. Extracción de macronutrientes en Cebolla. Agrícola Vergel. 1994, vol 8, no 147, p. 151 – 155.
202. Rubenchik , L.I. Azotobacter and its uses in Agriculture. Israel Prog. Scient. Transl. ,Jerusalem. 1963. 278 pp.
203. Rubio, R. ; Uribe, R. ; Borie, F. ; Moraga, E. ; Contreras, A. Micorrizas vesículo-arbusculares en horticultura. Velocidad de infección en lechuga (*Lactuca sativa*) y tomate(*Lycopersicon esculentum* Mill) y su incidencia sobre el desarrollo del cultivo. Agricultura Técnica de Chile. 1995, vol 54, no 1, p.7-14 .
204. Ruíz L. Efectividad de las asociaciones micorrízicas en especies vegetales de raíces y tubérculos en suelos Pardos y Ferralíticos rojos de la región central de Cuba. [Tesis de Doctorado] ; INCA, 2001.
205. Ruiz- Lozano, J.M y Azcón, R. Hyphal contribution to water uptake in mycorrhizal plants as affected by the fungal species and water status. Physiologia Plantarum. 1995, 95 p- 472-478.
206. Ruíz, J.; Gómez, R. ; Lara, D. y Noval, B. de la . Estudio de dosis de fertilizantes ECOMIC en el recubrimiento de semillas de tomate, maíz y soya. Cultivos Tropicales.1997, vol 18, no. 1, p. 13 – 15.

207. Safir, G. R. Involvement of cropping systems, plant produced compounds and inoculum production in the functioning of VAM fungi. APS Press, 1994.
208. Salazar O. Producción de bulbillos de cebolla a partir de semilla peletizada con micorrizas y *Pseudomonas*. En: Jornada Científica INIFAT. (8 : 1996 : La Habana), 1996. p-84.
209. Sánchez, C. Uso y manejo de hongos micorrizógenos y abonos verdes producción de posturas de cafeto (*C.arabica* L.) en tres tipos de suelos representativos del macizo Guamuhaya. [Tesis de Doctorado] ; INCA, 2001.
210. Sánchez-Díaz. Effect of water stress on photosynthetic activity in the Medicago-*Rhizobium-Glomus* symbiosis. Plant Science. 1990, 71 p- 215-221.
211. Scott, E. New (and used) approaches to the study of fungal pathogenicity. Annu. Rev. Phytopathol. 2001. 39. 337-365.
212. Schrot, M. N y Hancock, J. G. Disease- suppressive soil and root colonizing bacteria. Science. 1982, 217p- 1376-1381.
213. Secilia, J y Bagyaraj, D.J. Selection of efficient vesicular- arbuscular mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Florida. Mycologia. 1982, 74. 77-92.
214. Sieverding , E. Vesicular Arbuscular Mycorrhiza in Tropical Agrosystem. Deutsche Gesellschaft fur techniische Zusammenarbeit Federal Republic of Germany : (GTZ) GMBH., 1991. 371 p.
215. Siqueira, J. O. y Franco, A. A. Biotecnología de suelo: Fundamentos y perspectivas. Ciencias agrarias nos Trópicos brasileiros. Brasilia : MEC, 1988.236 p.
216. Soil Survey Staff . Claves para la Taxonomía de Suelos. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 1995, 306 p.
217. Srivastava, A. K. ; Singh, T.; Jana, T.k.; Arora, D.K. Induced resistance and control of charcoal rot in *Cicer arietinum* (chickpea) by *Pseudomonas fluorescens*. Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne de Botanique. 2001.79(7). 787-795.
218. Strullu, D. G. Les mycorrhizees des abres et plantes cultives. Tecniques des abres et documentation. Paris: Lavoiser, 1991.
219. Tarafdar, J.C y Marschner, H. Phosphate activity in the rhizosphere and hyphosphere of va mycorrhizal wheat sipplied with inorganic and organic phosphorus. Soil Biology Biochem. 1994, 26 (3) p- 387-395.
220. Terry, E. ; Pino, M.A y Medina, N. Uso y manejo de biofertilizantes en el cultivo del tomate. En: Taller de biofertilizantes en los Trópicos. Programa y

- Resúmenes. Seminario Científico del INCA. (4, 11 : 1998 : La Habana), 1998. p-192.
221. Terry, E. ; Pino, M.A. y Medina, N . *Azospirillum lipoferum*, Una alternativa para la nutrición del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) en asociación con el maíz (*Zea mays*, Lin). Cultivos Tropicales. 1996 (a), vol 17, no 1, p. 48-51.
222. Terry, E.; Pino, M.A. y Hernández, A.N. Contribución de *Azospirillum brasilense* UAP-154 en la calidad de las posturas de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). Cultivos Tropicales. 1996 (b), vol 17, no 3, p. 56 – 59.
223. Trappe, J. M. Phylogenetic and ecologic aspects of mucotrophy in the Angiosperms from an evolutionary standpoint. EN: Safir, G.R. Ecophysiology of Va Mycorrhizal plants. CRC. Press. Boca Raton. 1987. p-5-25.
224. Vandamme, P. ; P. ; Holmes, B. ; Vancanneyt, M. ; Coenye, T., Hoste, B. ; Coopman, R. ; Revets, H. ; Lauwers, S. ; Gillis, M. ; Kersters, K. and J.R. Gowan. Occurrence of multiple genomovar of *Burkholderia cepacia* en cystic fibrosis patients and proposal of *Burkholderia multivorans* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 1997.47 p- 1188-1200.
225. Vande. A. Histochemical and genetic analysis of the *Azospirillum brasilense* wheat root association. Dissertationes de agriculture. 1994, vol 238, p.1-8.
226. Vega, E.; Pulido, L. y Peralta, H. Micorrizas y Rizobacterias: Vía alternativa para la producción de cebolla. En: Taller de Biofertilización en los Trópicos. Seminario Científico del INCA. Programa y Resúmenes.(5, 12 : 2000 : La Habana), 2000. p.119.
227. Vega, R. de la; Bach, T.; Martínez, A. y Pascual, J. Influencia del método de inoculación de la fosforina sobre los rendimientos agrícolas del tomate. En: Seminario Científico y Taller Internacional sobre biofertilización en los trópicos (Bioferto'92). (7:1: 1992: La Habana), 1992.p-54.
228. Velazco, A.; Medina, M. ; Furrázola, E. ; Torres, Y. ; Herrera, R.; García, M.J. ; Collazo, E. y Portier, M. Presencia de bacterias nitro fijadoras en esporas de *Glomus intraradices*. En: Taller de Biofertilización en los Trópicos. Seminario Científico del INCA. Programa y Resúmenes. (5, 12 : 2000 : La Habana), 2000. p-111.
229. Velazco, A.C. Utilización de *Azospirillum brasilense* en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.) sobre un suelo Hidromórfico Gley de la provincia de Pinar del Rio. [Tesis de Doctorado] ; INCA, 2001.

230. Velázquez, M.; Hernández, A.; Heydrich, M y A.N. Hernández. Estudio de la interacción maíz-*Burkholderia cepacia*. Revista Latinoamericana de Microbiología. 1999. 41. 17-23.
231. Vinals, M. y J. Villar. Avances en la formulación y aplicación de inoculantes bacterianos de uso agrícola. Cultivos Tropicales, 1999, 20 (4), p- 9-17,.
232. Vose, B. Developments in no legumes N fixing system. Can J. Microbiol. 1983, vol 29, p. 837-849.
233. Walley, F. L and Germida, J.J. Response of spring wheat (*Triticum aestivium*) to interactions between *Pseudomonas* species and *Glomus clarum* NT4. Biol. Fert. Soils. 1997, 24 p- 365-371.
234. Watt, M. PGPR. Prospects for long term in the field , 1993. 21p.
235. Weller , D.M ; Raaijmakers, J.M. ; Gardener, B.B and L.S. Thomashow. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. Annu. Rev. Phytopathol. 1995. 40: 309- 348
236. Yágodin, B.A. Agroquímica. Moscú : MIR, 1986.
237. Yate , M . G y F. O. Campbell . The effect of nutrient limitation on the competition between an H₂-update hydrogenase positive(Hup⁺) recombinant strain of *A. chroococcum* and the Hup-mutants parent in mixed population. Journal of Gen. Microb. 1989. 135:221-226.

ANEXO 1

**Valores transformados y sin transformar de las variables microbiológicas, al finalizar el semillero.
Tomate
Campaña 1999-2000**

Tratamientos	Colonización			Masa endofito		<i>A. brasilense</i> (10 ⁵)		<i>A. chroococcum</i> (10 ³)		<i>B. cepacia</i> (10 ⁴)				
	%	arcsen $\sqrt{\%}$		(mg.g ⁻¹)		ufc=x	log x	ufc=x	log x	ufc=x	log x			
Testigo absoluto	27	1,09	ef	1,14	j	2,53	4,40	f	0,93	1,96	g	6,53	3,81	g
Testigo producción	30	1,16	ef	3,21	gh	3,77	4,56	de	1,37	2,13	ef	9,27	3,96	de
<i>G. clarum</i>	39	1,34	d	4,03	f	3,73	4,57	de	1,8	2,25	d	8,90	3,95	ef
<i>G. fasciculatum</i>	40	1,35	d	3,34	g	3,29	4,51	e	1,33	2,12	ef	8,93	3,95	ef
<i>A. chroococcum</i>	31	1,17	e	2,69	h	3,26	4,51	e	4,47	2,65	b	8,23	3,91	f
<i>B. cepacia</i>	31	1,17	e	1,60	ij	3,45	4,54	de	1,60	2,19	de	12,03	4,08	c
<i>A. brasilense</i>	26	1,06	f	1,83	i	6,13	4,79	c	1,10	2,04	fg	8,87	3,94	ef
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>	45	1,47	c	5,39	d	3,63	4,55	de	6,10	2,78	a	9,30	3,96	de
<i>G. clarum</i> + <i>B. cepacia</i>	53	1,63	b	5,39	d	3,97	4,60	d	2,67	2,42	c	35,67	4,55	a
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i>	63	1,83	a	7,70	a	9,47	4,97	a	1,50	2,17	de	11,33	4,05	c
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i>	50	1,57	b	6,17	c	3,44	4,53	de	4,50	2,65	b	3,07	3,49	h
<i>G. fasciculatum</i> + <i>B. cepacia</i>	53	1,62	b	4,82	e	4,00	4,60	d	1,10	2,03	fg	24,40	4,38	b
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i>	60	1,77	a	6,89	b	7,83	4,89	b	1,33	2,12	ef	9,80	3,99	d
ES:		0.03***		0,18***			0.02***			0.03***			0.01***	

ANEXO 2

**Valores transformados y sin transformar de las variables microbiológicas, al finalizar el semillero.
Cebolla
Campaña 1999-2000**

Tratamientos	Colonización			Masa endofito		<i>A. brasilense</i> (10 ⁵)			<i>A. chroococcum</i> (10 ³)		
	%	arcsen $\sqrt{\%}$		(mg.g ⁻¹)		ufc=x	log x		ufc=x	log x	
Testigo absoluto	27	1,09	e	1,53	h	4,93	3,69	d	1,10	2,04	f
Testigo producción	38	1,32	d	4,16	e	6,23	3,79	c	3,36	2,52	c
<i>G. carum</i>	46	1,49	c	6,50	b	6,27	3,79	c	2,90	2,46	de
<i>G. fasciculatum</i>	56	1,69	a	5,62	c	5,87	3,77	c	3,03	2,48	cde
<i>A. chroococcum</i>	28	1,11	e	2,05	g	5,00	3,69	d	4,60	2,66	b
<i>A. brasilense</i>	39	1,34	d	2,97	f	23,33	4,36	b	2,84	2,45	e
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>	43	1,42	d	8,63	a	4,70	3,67	d	5,37	2,72	a
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i>	43	1,42	c	5,76	c	36,15	4,55	a	3,00	2,48	cde
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i>	46	1,49	c	4,33	e	4,36	3,64	d	5,09	2,7	ab
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i>	52	1,61	b	5,03	d	35,66	4,55	a	3,27	2,51	cd
ES		0.02***		0,16			0.021***			0.017***	

ANEXO 3

Rendimientos relativos del tomate para cada tratamiento y nivel de fertilización.

Tratamientos en el semillero	Fertilización en el trasplante*			
	N ₅₀ P ₅₀ (N 1)	N ₁₀₀ P ₅₀ (N 2)	N ₅₀ P ₁₀₀ (N 3)	N ₁₀₀ P ₁₀₀ (N 4)
	Rendimiento relativo, %			
Testigo absoluto	58,98	65,33	35,14	76,48
Testigo de producción	80,06	94,88	62,59	97,74
<i>Glomus clarum</i>	44,26	50,25	33,04	75,50
<i>Glomus fasciculatum</i>	41,61	58,42	38,94	61,97
<i>A. chroococcum</i>	57,60	74,09	49,56	76,04
<i>B. cepacia</i>	86,18	98,49	33,32	100,00
<i>A. brasilense</i>	89,82	92,31	88,91	99,59
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>	69,38	70,13	53,11	99,31
<i>G. clarum</i> + <i>B. cepacia</i>	51,44	72,02	44,19	76,85
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i>	83,61	90,04	53,58	99,48
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i>	61,28	81,50	57,60	87,78
<i>G. fasciculatum</i> + <i>B. cepacia</i>	52,95	57,66	50,69	85,18
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i>	91,49	93,34	85,77	98,96

* Porcentaje de la dosis recomendada de N y P.

ANEXO 4

Rendimientos reales y relativos de la cebolla

Tratamientos en el semillero	Rendimiento real (t.ha ⁻¹)	Rendimiento relativo (%)
Testigo absoluto	4.96	49.70
Testigo de producción	8.79	88.11
<i>Glomus clarum</i>	7.84	78.65
<i>Glomus fasciculatum</i>	7.66	76.78
<i>A. chroococcum</i>	9.85	98.77
<i>A. brasilense</i>	8.33	77.58
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>	9.97	100.00
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i>	8.33	83.50
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i>	6.40	64.14
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i>	8.72	87.49

ANEXO 5

Grosor del tallo al finalizar la etapa de semillero.
Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal.

Tratamientos	Cultivo			
	Tomate		Cebolla	
	Campaña 1996-1997	Campaña 1997-1998	Campaña 1996-1997	Campaña 1997-1998
T. absoluto	3,30 d	3,63 d	3,30 e	3,90 c
T. producción	5,50 a	5,62 a	5,40 a	5,80 a
<i>A. brasilense</i>	4,87 b	5,19 ab	4,80 bc	5,10 b
<i>A. chroococcum</i>	4,63 bc	4,84 bc	5,10 ab	5,60 a
<i>B. cepacia</i>	5,23 ab	5,07 ab	4,50 c	4,80 b
<i>P. fluorescens</i>	4,19 c	4,41 c	3,90 d	4,30 c
ESx	0,19***	0,56***	0,12***	0,14***

ANEXO 6

Grosor del tallo al finalizar la etapa de semillero.
Hongos Micorrízicos Arbusculares.

Tratamientos	Cultivo			
	Tomate		Cebolla	
	Campaña 1996-1997	Campaña 1997-1998	Campaña 1996-1997	Campaña 1997-1998
T. absoluto	3,30e	3,63 d	3,30 d	3,90e
T. producción	5,50 ab	5,62 a	5,40 ab	5,80 a
<i>G. clarum</i>	5,65 a	5,94 a	5,50 a	5,60 ab
<i>G. fasciculatum</i>	5,40 ab	5,63 a	5,60 a	6,00 a
<i>G. mosseae</i>	4,90 bc	5,02 b	5,30 ab	5,30 bc
<i>G. agregatum</i>	4,50 cd	4,85 bc	4,80 c	5,10 cd
<i>G. versiculiferum</i>	4,00 d	4,35 c	5,00 bc	4,80 d
ESx	0,20***	0,17***	0,13***	0,13***

ANEXO 7

Grosor del tallo al finalizar la etapa de semillero. Coinoculaciones RPCV x HMA.
Campaña 1997-1998.*

Tratamientos	Tomate	Cebolla
T. absoluto	3,63 e	3,90 b
T. producción	5,62 a	5,80 a
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i>	5,75 a	5,90 a
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>	5,46 a	6,02 a
<i>G. clarum</i> + <i>B. cepacia</i>	4,71 bc	ne
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i>	4,90 b	5,70 a
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i>	4,10 d	5,90 a
<i>G. fasciculatum</i> + <i>B. cepacia</i>	4,40 cd	ne
<i>G. mosseae</i> + <i>A. brasilense</i>	4,30 cd	5,60 a
<i>G. mosseae</i> + <i>A. chroococcum</i>	4,20 d	5,90 a
<i>G. mosseae</i> + <i>B. cepacia</i>	4,50 bcd	ne
ES:	0,15***	0,14***

* n e: no evaluado.

ANEXO 8

Grosor del tallo de las posturas al finalizar la etapa de semillero.

Tratamientos	Tomate	Cebolla
	Campaña 1999-2000	
Testigo absoluto	3.82 e	4.28 d
Testigo de producción	4.52 cd	6.28 a
<i>Glomus clarum</i>	5.66 a	5.40 bc
<i>Glomus fasciculatum</i>	4.68 cd	4.92 c
<i>A. chroococcum</i>	4.06 de	5.00 c
<i>B. cepacia</i>	4.48 cd	-
<i>A. brasilense</i>	5.14 abc	5.46 bc
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>	4.92 bc	6.78 a
<i>G. clarum</i> + <i>B. cepacia</i>	4.58 cd	-
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i>	5.02 abc	4.86 cd
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i>	4.50 cd	5.72 b
<i>G. fasciculatum</i> + <i>B. cepacia</i>	4.21 de	-
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i>	5.4 ab	4.94 c
ES:	0.20***	0.19***

ANEXO 9

Porcentaje de los elementos extraídos al finalizar la fase de semillero.

Tratamientos	Tomate			Cebolla		
	N	P	K	N	P	K
Testigo absoluto	2,00 b	0,35	3,75	2,11	0,19	1,88
Testigo de producción	3,41 a	0,29	4,25	2,47	0,17	2,55
<i>Glomus clarum</i>	2,00 b	0,33	3,60	1,76	0,22	2,20
<i>Glomus fasciculatum</i>	2,00 b	0,39	3,80	2,23	0,23	2,55
<i>A. chroococcum</i>	2,00 b	0,39	3,58	2,11	0,25	2,50
<i>B. cepacia</i>	2,23 b	0,31	3,80	-	-	-
<i>A. brasilense</i>	2,00 b	0,35	3,85	1,88	0,21	2,35
<i>G. clarum</i> + <i>A. chroococcum</i>	2,00 b	0,37	3,50	2,00	0,21	2,35
<i>G. clarum</i> + <i>B. cepacia</i>	2,11 b	0,37	3,60	-	-	-
<i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i>	2,10 b	0,31	3,75	2,00	0,21	2,40
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. chroococcum</i>	2,00 b	0,35	3,75	2,23	0,23	2,60
<i>G. fasciculatum</i> + <i>B. cepacia</i>	2,10 b	0,30	3,65	-	-	-
<i>G. fasciculatum</i> + <i>A. brasilense</i>	2,35 b	0,29	3,53	2,11	0,23	2,35
ES:	0,19***	0,06 ns	0,14 ns	0,14 ns	0,04 ns	0,27 ns