

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

MICROORGANISMOS BENÉFICOS Y PRODUCTOS
BIOACTIVOS COMO ALTERNATIVAS PARA LA
PRODUCCIÓN ECOLÓGICA DE TOMATE
(Lycopersicon esculentum, Mill. Var. "Amalia").

Tesis presentada en opción la grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas

Aspirante: MCs. Elein Terry Alfonso

Tutor: Dr. Angel Leyva Galán

La Habana

2005

SÍNTESIS

El presente trabajo se desarrolló en áreas experimentales del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), en un suelo Ferralítico Rojo lixiviado típico, durante las campañas hortícolas comprendidas entre los años 1995 - 2002, realizándose un total de diez experimentos, de ellos tres en el período temprano bajo el sistema de asociación de cultivos y siete en el período óptimo bajo el sistema de monocultivo. Se persiguió como objetivo general, evaluar la influencia que sobre el crecimiento, desarrollo, calidad y rendimiento en el cultivo del tomate, ejercían los microorganismos rizosféricos a base de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) y Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV) en inoculaciones simples y coinoculaciones, así como la combinación de estos con los productos bioactivos Biostan y Biobras-16, con vistas a lograr una producción adecuada y rentable con la menor aplicación de la fertilización mineral. El HMA *Glomus claruni* y la RPCV *Azospirillum brasilense*, resultaron ser las más efectivas y eficientes para el cultivo, estableciéndose ambas en la zona rizosférica del cultivo con un alto nivel poblacional con respecto a las especies nativas, reduciéndose el 20% de la fertilización nitrogenada. La inoculación mixta de ambas especies con un complemento en N de 30 kg.ha⁻¹, garantizó plántulas óptimas para el trasplante (mayores a 15 cm) entre 20 y 24 días posteriores a la germinación, igualmente la coinoculación de ambos microorganismos permitió la reducción del 4W/0 de la fertilización nitrogenada que requiere el cultivo. Con la aplicación de los productos bioactivos Biostan y Biobras-16, aplicados al inicio de la etapa de floración del cultivo, se lograron plantas con un mejor contenido de NPK foliar superando al testigo de producción; igualmente, la combinación de los microorganismos con los productos bioactivos y sólo la aplicación de 90 kg N.ha⁻¹ en todo el ciclo del cultivo, no afectó la calidad bromatológica de los frutos y el rendimiento fue superior con respecto al testigo de producción. Finalmente, agrupando estos resultados como alternativas para un manejo ecológico del cultivo, se evaluaron los microorganismos de conjunto con el Biostan en ausencia de la fertilización mineral, en sistemas de producción en organopónico y campo abierto, demostrándose en ambos sistemas que aún cuando la variante convencional es superior a la ecológica, el rendimiento que se alcanza con esta variante sin la utilización de fertilizante mineral, sobrepasa las 20 t.ha⁻¹. La combinación microorganismos benéficos - productos bioactivos bajo los dos sistemas de cultivo (asociación y monocultivo), resultaron ser económicamente factibles, siendo superior el beneficio económico obtenido con respecto a la variante convencional de producción, lo que estuvo relacionado con el acortamiento de la estancia en semillero, el incremento del rendimiento agrícola y la disminución de la fertilización mineral a aplicar en cultivo.

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha ido incrementando a escala internacional una consiente dirigida a la producción de alimentos con los recursos del propio agroecosistema, para garantizar cada día una alimentación de mayor calidad biológica y una mayor protección de los recursos naturales. En este contexto se ha fortalecido la llamada *Agricultura Ecológica* la cual, según Price, (1999) puede ser delinida como todo sistema de producción sostenible en el tiempo, que mediante el manejo racional de los recursos naturales, brinda alimentos sanos y abundantes así como mantiene o incrementa la fertilidad del suelo y la diversidad biológica.

Sin embargo, la implementación de esta nueva concepción agrícola a escala de producción, no puede ser establecida por decretos, requiriéndose de un período de tránsito donde se incorporan los resultados de la investigación, y se evalúa el funcionamiento práctico de las técnicas y tecnologías, que contribuyen a su fortalecimiento, hasta lograr un modelo de producción que sea sostenible en el tiempo (Leyva, 2000).

Los avances indiscutibles de esta forma de hacer agricultura, están estrechamente vinculados al riesgo demostrado que puede provocar a la salud humana, la presencia de residuos tóxicos provenientes de los pesticidas y algunos fertilizantes minerales en los alimentos agrícolas (Bañuls *et al.*, 1999).

En este sentido, la ciencia biotecnológica ha generado nuevas alternativas que van desde la síntesis de productos menos agresivos al medio ambiente hasta bioproductos de alta eficiencia, que son comercializados con vistas a la biofertilización microbiana. Hasta la fecha se han acumulado un gran número de informes acerca de microorganismos, que aislados de diversos ecosistemas naturales son capaces de excretar sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, las cuales conllevan a variaciones en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Dentro de este grupo puede citarse a la rizobacteria estimuladora del crecimiento vegetal *Azospirillum* sp, considerada como un sistema modelo para el estudio de la asociación entre bacterias y plantas que no nodulan (Bashan *et al.*, 2000). Otros microorganismos, con efectos positivos sobre las plantas, son los hongos formadores de micorrizas arbusculares, los cuales en su relación simbiótica actúan como mediadores del intercambio de nutrientes, permitiéndole a las plantas explotar mejor los recursos de su entorno (Azcón, 2000).

También los productos bioactivos pasan a desempeñar un papel importante en la agricultura; así algunos productos derivados del vermicompost han devenido como bioestimulantes ecológicos con efectos positivos en diferentes cultivos de interés económico (Garcés, 2000). Particularmente, los brasinoesteroides se han considerado como un nuevo grupo de hormonas vegetales con un marcado efecto en el crecimiento y desarrollo de las plantas, (Núñez y Robaina, 2000), análogos de estos brasinoesteroides han constituido una nueva opción para la agricultura por su eficiencia

productiva, sin provocar efectos residuales ni deterioro al medioambiente. La combinación adecuada de microorganismos benéficos y productos bioactivos podría contribuir al propósito de mejorar la calidad biológica de las cosechas agrícolas, especialmente en las hortalizas de hojas y frutos, alimentos estos que en los últimos años han alcanzado una elevada demanda en el mercado nacional e internacional.

Dentro de las hortalizas de fruto, el tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) es considerado uno de los cultivos hortícolas de mayor importancia a escala mundial, ocupando una producción global de más de 98 millones de toneladas métricas y una superficie alrededor de los 3,5 millones de hectáreas (Cuartero, 2001). En Cuba, este cultivo ocupa el 42% del área destinada a las hortalizas, con un rendimiento potencial de alrededor de 30 t.ha⁻¹; sin embargo, la presencia del complejo mosca blanca-geminivirus constituye hoy tinas de las causas fundamentales que ha incidido en que el rendimiento se limite a unas 14 t.ha⁻¹ (Gómez *et al.*, 2000).

Desde el punto de vista tecnológico, actualmente en el mundo se identifican tres sistemas de producción agrícola, a saber: el convencional o de altos insumos, el de transición hacia una producción ecológica, el cual se fundamenta en la incorporación paulatina de insumos no contaminadores del medio ambiente, en sustitución parcial de productos agresivos al agroecosistema y, el sistema de producción orgánica, en el cual se prescinde totalmente de los productos químicos (Altieri, 1997).

Cuba, que hasta los primeros años de la década del 90 desarrolló la producción de tomate sobre la base de una agricultura de altos insumos, hoy se encausa hacia una agricultura de producción más sostenible, incorporando algunos principios de la producción ecológica, haciendo uso de nuevos productos no contaminantes de la producción y el medio ambiente (Ramírez, 2001). También se ha recomendado la técnica de los policultivos sobre todo, cuando dichas producciones se realizan bajo condiciones climáticas adversas, como ocurre en el tomate, con las plantaciones fuera del período óptimo donde el uso de un cultivo protector como el maíz, beneficia su producción, cuantitativa y cualitativamente (Pino, 2001).

Las instrucciones técnicas del cultivo (Cuba, MINAGRI, 1984), indican que sus plantaciones bajo condiciones óptimas se corresponden desde el 21 de octubre hasta el 20 de diciembre, existiendo además un período temprano (21 agosto - 20 octubre) y otro tardío (21 enero - 20 febrero). Ambos extremos, han sido considerados como períodos no óptimos, por lo que son etapas menos explotadas por los productores debido a los bajos rendimientos que se alcanzan (Hernández, 1998). Desde el punto de vista práctico las producciones de tomate en período tardío, pueden resultar más riesgosas, ya que el período de fructificación y cosechas generalmente coincide con el inicio de las precipitaciones. Por ello, la tendencia ha sido adelantar las plantaciones para el periodo temprano lográndose en esta fecha una mayor rentabilidad dado por la escasez del producto en el mercado (Gómez *et al.*, 2000).

Debido a que en los últimos años han existido problemas con la disponibilidad de pesticidas y fertilizantes minerales, se ha incrementado la producción de medios biológicos y se ha logrado establecer entre los productores una producción de hortalizas menos contaminadas; no obstante, aún en la mayoría perdura la cultura de los agrotóxicos y no se ha establecido una producción de tomate, que pueda ser identificada como una tecnología ecológica a partir de la utilización de alternativas presentes en el entorno y propias del agroecosistema, como son los productos biofertilizantes y bioestimulantes obtenidos en el país, los cuales utilizados solos y combinados, pueden resultar una alternativa para esta forma de producción, al sustituirse total o parcialmente el fertilizante mineral de importación, contribuyéndose a un mayor acercamiento a la producción ecológica así como a la sostenibilidad del sistema, sobre todo en el período temprano, donde las condiciones del medio sugieren una atención más cuidadosa y conocer científicamente, las interacciones que se producen, en presencia de un complejo sistema policultural donde no existen antecedentes de investigaciones dirigidas a estos propósitos.

Tampoco se cuenta en Cuba, con una tecnología completamente ecológica para este cultivo, por lo que incursionar en el estudio de nuevas insumos nacionales como alternativas ecológicas que contribuyan a la obtención de producciones sanas y sin afectar el agroecosistema, abrirá las puertas al conocimiento de una nueva tecnología para estos propósitos, de gran beneficio para la población y la economía del país.

Teniendo en cuenta estos antecedentes, se formuló la siguiente hipótesis: **"El uso de microorganismos benéficos y su combinación con productos bioactivos, puede constituir una nueva alternativa ecológica para la producción sostenible en el cultivo del tomate"**.

Para dar respuesta a la hipótesis planteada se llevó a cabo la presente investigación que tuvo los siguientes objetivos:

Conocer la influencia de diferentes especies de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) y de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV) en inoculaciones simples y coinoculaciones sobre el crecimiento de plántulas de tomate (var. Amalia) en la etapa de semillero.

Estudiar la efectividad de las inoculaciones simples y coinoculaciones de HMA y RPCV como sustitutos parciales de la fertilización nitrogenada, y su influencia sobre el desarrollo, calidad y rendimiento del tomate, en la fase de plantación, en sistemas de unicultivo y cultivo asociado.

Conocer la efectividad de la combinación de los microorganismos benéficos y productos bioactivos en su estímulo sobre el desarrollo y rendimiento del cultivo, en sistemas de unicultivo y cultivo asociado.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. La Agricultura Ecológica

2.1.1. Antecedentes.

Con la aparición del movimiento agrícola conocido como *Revolución Verde*, al finalizar la Segunda Guerra Mundial, se ha podido presenciar el desarrollo de una agricultura que más que convencional, como se suele denominar, podría llamarse industrializada. Esto último responde fundamentalmente al empleo intensivo de abonos inorgánicos y plaguicidas, a la producción de nuevas variedades de aspecto más atractivo y a la progresiva mecanización de la forma de cultivo más practicada: el monocultivo (Rodríguez, 2000). Todo lo dicho inicialmente dio lugar a un sorprendente incremento de los rendimientos por unidad de superficie, lo cual hizo creer al sector agrícola que en las futuras generaciones se produciría el mismo efecto. Pero verdaderamente, el efecto más inmediato ha sido la intensificación aún más de la fertilización inorgánica y el empleo de productos fitosanitarios, lo que lleva al progresivo enriquecimiento de las industrias dedicadas a la fabricación de los productos citados y a la inevitable degradación de los agroecosistemas.

Hoy sin embargo la agricultura moderna enfrenta una crisis ambiental; debido a el uso de prácticas agrícolas intensivas basadas en altos insumos que llevan a la degradación de los recursos naturales a través de procesos de erosión de los suelos, salinización, contaminación con plaguicidas, desertificación y pérdida de la biomasa, lo que finalmente repercute en reducciones progresivas de su productividad (Conway y Barbier, 1996).

La pérdida de la fertilidad y la erosión de los suelos es el resultado de la excesiva explotación a que están siendo sometidos. La utilización de alarmantes dosis de fertilizantes inorgánicos, ha dado lugar a un empobrecimiento de los suelos en humus que afecta a su fertilidad, mullimiento, vida microbiana, estabilidad estructural, entre otros; por otra parte, grandes superficies dedicadas a un solo cultivo, favorecen la aparición de plagas y resistencias, y por tanto, el abuso de productos fitosanitarios (Solano, 2000).

Cuando fue introducida la Agricultura Orgánica a principios de 1900, los propugnadores como Rudolph Steiner, estaban preocupados por el rompimiento de conexiones ecológicas vitales que estaban siendo ignoradas por la entonces emergente agricultura industrial. Se sabía que Si no se mantenía la salud del ecosistema completo, entonces la agricultura no podría mantenerse de forma productiva. La historia demuestra, que los sistemas donde los terrenos agrícolas están diseñados para encajar en las inmediaciones ecológicas locales, son los más sustentables y productivos (De Vecchi, 2001)

Hoy la ciencia, con mayor conocimiento sobre la nutrición vegetal, cuestiona la agricultura convencional. El suministro desequilibrado de nutrientes como N, P, K, fuertemente promocionados como sustancias naturales por las multinacionales de productos agroquímicos y

los servicios oficiales de extensión, dejan de lado los oligoelementos y otras sustancias con la consiguiente alteración del suelo y de la vida de extensas zonas del planeta.

La degradación de los recursos naturales, producida como consecuencia del uso indiscriminado de agroquímicos y el laboreo excesivo del suelo, ha inducido al hombre a rescatar antiguos métodos y considerar nuevas alternativas de producción de alimentos, priorizando el cuidado al ambiente.

Muchas experiencias comprueban que algunos sistemas de producción han empobrecido y agotado el suelo mientras otros, contrariamente han logrado elevar la fertilidad del suelo hasta niveles muy altos; posibilitando también rendimientos altos y sostenidos, con una mínima aplicación de fertilizantes minerales (Kolmans y Vázquez, 1999). Los altos costos del modelo convencional de producción hacen inviable su posterior difusión y adopción. Bajo esta realidad es impostergable fomentar la Agricultura Ecológica, basada en un uso más apropiado de los recursos naturales, laborales y humanos.

La verdadera producción orgánica hoy, considera a toda producción certificada como producto libre de residuos no orgánicos y sigue normas internacionales establecidas, especialmente por la IFOAM (Federación Internacional del Movimiento de Agricultura Orgánica) y asumida por la CEE (Comunidad Económica Europea) y EUA (Estados Unidos de América), para el establecimiento de un comercio especializado; estas producciones pueden no ser sostenibles socialmente aun cuando económicamente son por lo general muy rentables. Conducir hoy una producción agrícola donde se combine la menor utilización de fertilizantes minerales con productos biológicos que se muestren como sustitutos parciales, constituye sin dudas, una oportunidad a tomar en cuenta en el desarrollo de una agricultura ecológica.

2.1.2. Definición

Los términos agricultura *ecológica, biológica, orgánica, biodinámica o biológico-dinámica* definen un sistema agrario cuyo objetivo fundamental es la obtención de alimentos de máxima calidad respetando el medio ambiente y conservando la fertilidad de la tierra, mediante la utilización óptima de los recursos naturales (Romera, 2001).

La agricultura ecológica no suprime totalmente la utilización de productos químicos, sino que rechaza aquellos que dañan al medio y para los que no lo hacen, prescribe su utilización racional combinada con los recursos presentes en los agroecosistemas, de manera que todo confluya hacia la conservación del ecosistema.

La producción ecológica se basa en la aplicación de un conjunto de técnicas tendientes a mantener- o aumentar la fertilidad del suelo y la diversidad biológica permitiendo proteger a los cultivos y animales de plagas, arvenses y enfermedades bajo un nivel tal que no provoquen daños económicos; a la vez que se apoya en la observación y conocimiento de los ciclos naturales de los elementos y los seres vivos (Altieri y Nicholls, 1999).

Para la FAO (1999), la Agricultura ecológica es un sistema global de gestión de la producción que fomenta y realza la salud de los agroecosistemas, inclusive la diversidad

biológica, los ciclos biológicos y la actividad biológica del suelo. Hace hincapié en la utilización de prácticas de gestión con preferencia a la utilización de insumos no agrícolas.

Esta forma de hacer agricultura, no solo implica la realización de prácticas de producción donde la interacción e interdependencia armónica de factores como suelo, plantas, animales, mano de obra y clima permiten conservar y potenciar los recursos y ciclos naturales, sino que en ella, los productos orgánicos, ecológicos o biológicos son obtenidos a partir de un sistema agropecuario cuyo principal objetivo es el de producir alimentos sanos y abundantes, respetando el medio ambiente y preservando los recursos naturales.

2.1.3. Principios generales en que se basa la Agricultura Ecológica.

En las últimas décadas se han presentado cambios importantes en la producción y consumo de alimentos a escala mundial. Esta tendencia se vincula principalmente con una fuerte preocupación por la salud, nuevas exigencias en los gustos de los consumidores y una mayor concientización por la protección del medio ambiente.

Según De Selincourt (1996), la agricultura ecológica representa una forma diferente de enfocar la producción agrícola; se basa en el respeto al entorno, la producción de alimentos sanos, de buena calidad y en cantidades aceptables. Se utiliza como modelo a la misma naturaleza, de la que se extrae toda la información para afrontar las circunstancias adversas del ambiente y se aprovecha al máximo su potencial productivo al aplicar conocimientos técnicos y científicos.

La Agricultura ecológica es un sistema de producción agrícola que se rige por los siguiente principios: (Gómez, 1997)

- A) La obtención de alimentos de alto valor biológico.
- B) Mantener y aumentar la fertilidad de los suelos mediante la aplicación de normas fitotécnicas adecuadas.
- C) Conservar el equilibrio biológico de los agroecosistemas.

A su vez, Kohnans y Vázquez (1999) plantean los siguientes principios básicos:

Estructura diversificada del sistema de producción.

Ver el conjunto del sistema productivo en forma integral e interdependiente holístico).

Fomento de la fertilidad autosostenida del suelo.

Aprovechamiento, lo mejor posible, de las fuentes de generación propias de la fertilidad de la finca.

Nutrición indirecta de las plantas mediante la actividad biológica del suelo.

Enfrentamiento de las causas y no de los síntomas en la protección vegetal, fomentando el equilibrio y la regulación ecológica.

Conservación y labranza del suelo sobre la base del mejoramiento bioestructural y la materia orgánica.

Selección y mejoramiento de variedades de vegetales y razas de animales en función de las condiciones naturales.

Crianza y producción animal sanas, de acuerdo con la naturaleza y requerimientos fisiológicos de los animales.

Producción ecológica, económicamente estable y socialmente justa.

Mejías (1995) plantea alrededor de 10 principios generales por los que se rige la Agricultura ecológica:

Entender y respetar las leyes de la ecología, trabajando con la naturaleza y no contra ella.

Considerar al suelo como un organismo vivo.

Reducir la lixiviación de los elementos minerales, en virtud del papel decisivo asignado a la materia orgánica en el suelo.

Dar una importancia preponderante al conocimiento y al manejo de los equilibrios naturales encaminados a mantener los cultivos sanos, trabajando con las causas (y no con los síntomas) por medio de la prevención.

Trabajar con tecnologías apropiadas aprovechando los recursos locales de manera racional.

Proteger el suelo con los recursos renovables y disminuir el uso de los no renovables.

Reducir y eliminar el uso y consumo de los aportes energéticos ligados a los insumos externos y, en consecuencia, la dependencia exterior de los mismos.

Fomentar y retener la mano de obra rural ofreciendo una fuente de empleo permanente.

Favorecer la salud de los trabajadores, los consumidores y el ambiente, al eliminar los riesgos asociados al uso de agroquímicos sintéticos.

Que sean socialmente justas y humanas, porque trabajan con unidades culturales, estimulan la autogestión y permiten el dominio tecnológico social.

Rodriguez y Paniagua (1997) dan a conocer los siguientes principios de la Agricultura ecológica:

Producir alimentos de la máxima calidad nutritiva, sanitaria y organoléptica en suficiente cantidad.

Mantener o incrementar la fertilidad del suelo a largo plazo.

Utilizar al máximo los recursos renovables de los agroecosistemas, optimizando los recursos locales, buscando un elevado nivel de autosuficiencia en las materias primas.

- Conservar los recursos naturales y genéticos, preservando las especies y cultivar variedades autóctonas y, en general, preservar la diversidad biológica tanto agrícola como silvestre.
- Proporcionar al ganado unas condiciones de vida que le permita desarrollar los aspectos básicos de su comportamiento innato.
- Evitar al máximo todas las formas de contaminación que pueden derivarse de las prácticas agrarias.
- En general, es el aprovechamiento y potenciación de todos los procesos y equilibrios naturales de los agroecosistemas , fomentando y estimulando los ciclos geobiológicos.

La concepción amplia de agricultura ecológica se basa en los sistemas integrales que utilizan insumos naturales a través de prácticas especiales, como compostas , abonos verdes, control biológico, cultivos trampa, insecticidas, a base de plantas, entre otros, generando un producto libre de residuos tóxicos, no sólo en el campo sino también en el transporte, envase, embalaje y etiquetado (FAO, 1999).

2.1.4. Calidad nutricional de los productos ecológicos.

El uso abusivo de los recursos agrícolas y naturales, en los actuales sistemas de agricultura industrializada, lleva a su agotamiento, se degradan los suelos cultivables, haciéndolos improductivos, se contamina el agua con nitratos y venenos, se simplifica la diversidad genética, se pierde la calidad de los alimentos y se consumen grandes cantidades de combustibles fósiles. La Agricultura Ecológica es una inversión para el futuro, pues con la utilización óptima de los recursos renovables, se procura un desarrollo sostenible (Cardenal, 1994).

Continuas investigaciones en todo el planeta dejan claro, por un lado, los beneficios de una alimentación sana y equilibrada, con abundancia de verduras y frutas frescas, y, por otro lado, advierten de los serios peligros para la salud, a corto y largo plazo, de la presencia en los alimentos de restos de plaguicidas y de infinidad de sustancias tóxicas que se han ido añadiendo en los procesos de producción, transformación o comercialización. El uso y abuso de abonos sintéticos, herbicidas y plaguicidas, fuerzan a la naturaleza a producir más allá de unos límites que permitirían mantener un mínimo equilibrio ecológico del entorno (Rodríguez, 1999). Toda esta situación lleva a plantearse la necesidad de consumir alimentos con garantía de producción ecológica, si realmente se está preocupado por la salud de los seres humanos y del planeta en su conjunto.

Los abonos inorgánicos empleados por la agricultura convencional son la principal causa de contaminación de las aguas dulces. Los nitratos, nitritos y fosfatos, contaminan las aguas superficiales originando su muerte biológica, haciéndolas inapropiadas para el consumo humano. (Terry, 1998).

En los países desarrollados se ha incrementado la orientación hacia una nutrición saludable, en la cual la calidad nutricional tiene una gran importancia a la hora de elegir los platos. Se han producido cambios en los métodos tradicionales de preparación de alimentos, así como una demanda creciente de platos sujetos a producciones claras, pues saben que de una nutrición saludable se deriva un futuro seguro; aumentando la popularidad de los alimentos naturales, ecológicos u orgánicos (Baqués *et al.*, 1998).

Un exceso de nitratos y nitritos en los alimentos puede acarrear graves trastornos cardíacos y respiratorios, e incluso producir la muerte por cianosis (coloración azul por falta de oxígeno) en el caso de los bebés (Johnston, 1997).

La contaminación por nitratos en las hortalizas según (INCUPO, 1996), se debe prioritariamente a factores como:

El desarrollo de una agricultura intensiva y centrada en el monocultivo lo cual lleva a un abuso de fertilizantes inorgánicos. El agricultor, para obtener el máximo rendimiento de sus cosechas hace un uso indiscriminado y sistemático de abonos nitrogenados de origen mineral, que al aumentar el peso de los cultivos con gran cantidad de agua, aumentan su producción, pero en detrimento de su calidad e inocuidad.

Producción bajo condiciones de invernadero. Con este sistema para obtener productos fuera de su estación, la acumulación de nitratos en frutos y vegetales es mucho más alta.

En el cultivo de las hortalizas se aportan cantidades muy elevadas de fertilizantes nitrogenados y de agua de riego, lo que ocasiona que exista un flujo importante de nitratos en el agua de drenaje que provoca la contaminación de los acuíferos; por todo ello, para reducir la creciente tasa de contaminación por nitratos en la zonas de agricultura intensiva, es absolutamente necesario racionalizar al máximo la aplicación de fertilizantes nitrogenados y mejorar la eficiencia de la utilización de éstos por las plantas (Bañuls *et al.*, 1999). La utilización de microorganismos con efectos positivos en las plantas o productos bioactivos que aportan determinados elementos a los cultivos, son alternativas que pueden contribuir al noble propósito de minimizar la aplicación de fertilizantes minerales para una mayor preservación del ecosistema y una mejora en la calidad de las cosechas.

El contenido de agua de los alimentos frescos aumenta de forma importante con el empleo de los abonos minerales, especialmente de los nitrogenados, en un porcentaje que puede variar entre el 15 y el 30%. Un aumento del 15% implica que cada siete kilogramos de frutas u hortalizas producidas con métodos químicos, contiene un kilogramo de agua más que los producidos ecológicamente (FAO, 1999). Los productos de la agricultura ecológica contienen un 13% más de potasio, un 56% más de calcio, el 49% más de magnesio, el 290% más de hierro y el 12% más de aminoácidos (Gutiérrez, 1997 y Céspedes y Carvajal, 1999).

En el caso específico de Cuba, existe hoy una tendencia hacia la oferta de productos ecológicos al sector turístico con una alta demanda y preferencia (Fernández *et al.*, 2002); también existe comercio internacional de algunos productos certificados como orgánicos dentro

de los que se encuentran el azúcar, café, cacao, cítricos, miel y sábila (Pérez, 2003). Particularmente la población cubana, consume hortalizas y frutas frescas procedentes fundamentalmente de la agricultura urbana, donde se hace muy poco uso de agrotóxicos, siguiendo la política agraria del país, por cuyas razones es de suponer que los niveles de contaminación por estas causas en Cuba deben ser relativamente bajas.

2.2. Biofertilizantes. Importancia para la agricultura.

Uno de los elementos más valiosos que puede utilizar la Agricultura Ecológica, lo constituye el uso de biofertilizantes, los cuales en los sistemas productivos constituyen una alternativa viable y sumamente importante para lograr un desarrollo agrícola ecológicamente sostenible, ya que permite una producción a bajo costo, no contamina el ambiente y mantiene la conservación del suelo desde el punto de vista de fertilidad y biodiversidad.

Hamdi (1985), establece que los biofertilizantes se basan en preparados que contienen organismos viables y se utilizan en la inoculación de semillas o en aplicaciones directas al suelo, con vistas a mejorar su Fertilidad así como, para acelerar el crecimiento de los cultivos como resultado del incremento de la densidad poblacional microbiana y, por consiguiente de la actividad microbiológica en las proximidades del sistema radical.

Martínez (1994), planteó que los biofertilizantes incluían 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.

Es así como este 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.

Hernández (1997), citado por Pulido (2002), definió a los biofertilizantes como aquellos biopreparados que contienen células vivas o latentes de cepas microbianas eficientes fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de Fósforo, potencializadoras de diversos nutrimentos o productoras de sustancias activas, que se utilizan para aplicar a las semillas o al suelo, con el objetivo de incrementar el número de estos microorganismos en el medio y acelerar los procesos microbianos de tal forma, que se aumenten las cantidades de nutrientes disponibles que pueden ser asimilados por las plantas o, se hagan más rápido los procesos fisiológicos que influyen sobre el desarrollo y rendimiento de los cultivos.

Entre otras acciones, los microorganismos facilitan la captación de nutrientes, producen fitohormonas que favorecen el enraizamiento, protegen a la planta contra patógenos, incrementan la

resistencia/tolerancia de la planta a la sequía o salinidad, descomponen sustancias tóxicas en el ecosistema y mejoran la estructura del suelo (Giller y Cadish, 1995).

La sostenibilidad de los sistemas agrícolas a largo plazo debe fomentar el uso y manejo efectivo de los recursos internos de los agroecosistemas. En este sentido, los biofertilizantes constituyen un componente vital de los sistemas sostenibles, ya que constituyen un medio económicamente atractivo y aceptable de reducir los insumos externos y de mejorar la cantidad y calidad de los recursos internos (Mejías, 1995).

Los biofertilizantes permiten poner al alcance de los agricultores, productos con alta efectividad, con los que se sustituye hasta el 50% del fertilizante nitrogenado industrial, en el caso de los fijadores asociativos, y hasta el 80% en el caso de los simbióticos, mientras que los microorganismos solubilizadores de fósforo, permiten sustituir hasta el 70% del fertilizante fosfórico. Además los rendimientos en productos agrícolas comerciales se incrementan hasta el 30% por el efecto de las sustancias activas sintetizadas por las bacterias fijadoras asociativas y solubilizadoras de fósforo (Viñals y Villar, 1999).

Se acepta que en los sistemas suelo -planta existen tres grupos principales de microorganismos beneficiosos, que son claves en el contexto de la sostenibilidad de los mismos: los Hongos Formadores de Micorrizas, las especies de Rizobiáceas y las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (Blanco y Salas, 1997).

En la actualidad constituye un grave problema la contaminación ambiental provocada en cierta medida por el uso indiscriminado de los fertilizantes sintéticos; es por ello que se ha recurrido a fuentes alternativas de fertilización biológica, donde juegan un importante papel los Hongos Micorrizógenos Arbusculares (HMA), así como las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV) (Martínez *et al.*, 1998). El listado de productos "biofertilizantes" se ha incrementado notablemente en los últimos años, debido al notorio desarrollo de la agricultura ecológica.

En Cuba se cuenta con gran número de trabajos donde se demuestra la influencia positiva de diferentes productos biofertilizantes, así puede citarse la utilización del Biostín y Oniohiostin ambos obtenidos a partir de la rizobacteria *Azobacter chroococcum* con efectos positivos en los cultivos de tomate (Martínez *et al.*, 1998); y cebolla (Dibut, 2000); Rizobac a base de *Burkholderia cepacia* en el cultivo del maíz (Hernández, 2002), EcoMic para cultivos de raíces y tubérculos (Ruiz, 2001), café (Rivera *et al.*, 2003) y hortalizas (Hernández *et al.*, 2001). También resultados de inoculaciones mixtas se han presentado como variantes exitosas, así se muestra la coinoculación *A. chroococcum*-fosforina (Martínez, 2001); *A. chroococcum* - HMA (Terry *et al.*, 2002); AzoFert-EcoMic en cultivos de tomate y cebolla (Pulido, 2002).

El uso de productos biológicos aplicados como inoculantes dentro de los sistemas de producción agrícola, está teniendo un gran auge, especialmente para lograr una mayor disponibilidad de elementos que permitan un rendimiento sostenible de los cultivos, ayudando a la conservación del medio ambiente y una mayor tasa de retorno.

Debido a que los productos biológicos son elaborados con organismos vivos, se requiere de un cuidadoso manejo para así evitar una reducción de su efectividad (Hernández *et al.*, 1999 y Martínez, 2001).

2.2.1. Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV) y su importancia en la nutrición de las plantas.

Schroth y Hancock (1981), definen como "rizobacterias", a todas las bacterias que poseen la aptitud de colonizar las raíces de las plantas de forma muy intensa.

Hasta la fecha, se han acumulado gran número de reportes acerca de microorganismos que aislados de diversos ecosistemas naturales, son capaces de excretar sustancias reguladoras del crecimiento vegetal. Estas sustancias orgánicas en pequeñas concentraciones influyen sobre el metabolismo de las plantas superiores conllevando a variaciones en su crecimiento y desarrollo; entre ellas las más conocidas son las fitohormonas que son sustancias de elevada actividad biológica (Dommelen, 1998).

Estas poblaciones microbianas juegan un papel muy importante en el desarrollo de las plantas, siendo capaces de colonizar las raíces de forma externa y, en algunos casos, internamente (Kloepper *et al.*, 1992). El interés sobre éstas, se ha basado en tres aspectos básicos: influencia en la nutrición de las plantas, protección de la raíz del ataque de patógenos procedentes del suelo y producción de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, tales como ácido indolacético, giberelinas, citoquininas y otros (Tuzun y Kloepper, 1995).

En las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV), se agrupan a varios géneros microbianos que estimulan directa o indirectamente el crecimiento y desarrollo de las plantas mediante diferentes mecanismos. La estimulación directa provee a la planta no sólo de nitrógeno, sino también de sustancias tipo fitohormonas, así como solubilizadores minerales, entre ellos fósforo (Megistu y Singh, 1999).

En las últimas décadas, las rizobacterias han recibido gran atención debido a la capacidad de fijar nitrógeno y producir sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal, características que las hacen potencialmente importantes en la agricultura.

Dentro de estas rizobacterias, se encuentra el género *Azospirillum* sp el cual, se considera muy promisorio como inoculante para las plantas; ya que tiene un número de características interesantes que lo hace adaptable para establecerse en el complejo medio competitivo de la rizosfera (Burdman *et al.*, 2000). Por otra parte, *Azospirillum* spp, es considerado un sistema modelo para el estudio de la asociación entre bacterias y plantas que no nodulan (Bashan y Holguin, 1997).

Los efectos reportados por la inoculación de este microorganismo parecen ser dependientes del tipo de planta hospedera, de la cepa de *Azospirillum* sp usada y de las condiciones del medio ambiente; 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 del agua y los

nutrientes, debido a que las raíces pueden explorar un volumen mayor de suelo (Perotto y Pidello, 1999).

La colonización de las raíces es el factor clave en el éxito de la interacción de las plantas con *Azospirillum* sp. Las especies de este género son conocidas por colonizar las superficies de las raíces de algunas especies de plantas (Bashan 1998a), así como la corteza interior de las mismas. Generalmente, las células de *Azospirillum* spp pueden ser encontradas en cualquier lugar a lo largo de los sistemas de raíces inoculadas, pero ellas son concentradas principalmente en la zona de elongación y en los pelos radicales.

De igual forma, Bashan y Holguin (1997) plantean que los efectos más marcados son cambios morfológicos en el sistema radical. Estos cambios están directamente relacionados con las concentraciones del inoculo (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* sp pueden colonizar las raíces penetrando dentro de los espacios intercelulares, aunque pueden colonizar enteramente el sistema radical. La colonización eficiente por las células de *Azospirillum* sp, después de la inoculación, es esencial para obtener una respuesta de las plantas a la presencia de la bacteria.

Estudios realizados en raíces de tomate, demostraron que la población de bacterias estaba concentrada en la zona de elongación y de pelos radicales; la principal distribución en raíces de tomate fue localizada sobre la base de los pelos radicales (Basteau, 1998a).

Medina (1999), trabajando en el cultivo del tomate señala que *Azospirillum* sp, suplementado con pequeñas cantidades de fertilizante nitrogenado, permite alcanzar rendimientos tan elevados como los alcanzados con dosis completas establecidas en las normas técnicas, lo que demuestra la efectividad de dicho microorganismo como biofertilizante en este cultivo.

Existen evidencias sobre la participación de *Azospirillum* sp en la regulación hormonal de la planta; sin embargo, para poder afirmar que los efectos hormonales son el mecanismo principal por medio del cual esta bacteria promueve el crecimiento vegetal, se deben hacer estudios adicionales ya que otros factores no considerados pueden estar involucrados (Caballero-Mellado *et al.*, 2002).

El efecto de la inoculación de *Azospirillum* sp sobre el rendimiento total, aumenta generalmente con el crecimiento de las plantas y está en un rango de 10-30%. Incrementos en el rendimiento debido a la inoculación, fueron reportados en un 75% usando variedades de trigo de verano y solo en un 50% usando trigo de primavera. Dos variables básicas que contribuyen a la respuesta del rendimiento a la inoculación son los cultivares, los cuales muestran respuestas diferentes a la inoculación, así como el nivel de fertilización nitrogenada; por lo tanto, la inoculación de *Azospirillum* sp fue considerada un sustituto parcial de la fertilización nitrogenada (Schloter y Hartmann, 1998).

Aún, en la actualidad se necesita continuar las investigaciones básicas, tanto sobre la bacteria como en su interacción con la planta, para un mejor entendimiento de la asociación

Azospirillum sp - planta. No obstante, la aplicación como bioestimulante que incrementa la producción de los cultivos debería extenderse a todos aquellos lugares donde la aplicación de fertilizantes es nula o escasa, como lamentablemente ocurre en no pocos países que tienen una agricultura subdesarrollada (Velazco, 2001). En las regiones donde se practica una agricultura moderna, la inoculación con *Azospirillum* sp permitiría reducir las elevadas cantidades de fertilizantes nitrogenados que generalmente se aplican y con ello disminuir tanto el costo de producción como los problemas derivados de su uso, principalmente la contaminación, sin detrimento de la producción.

2.2.2. Importancia de los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) en la agricultura y su papel en la nutrición vegetal.

Hoy en día existen muy pocas dudas entre los científicos de que los hongos micorrízicos son beneficiosos para el crecimiento, el desarrollo y de hecho son responsables de la supervivencia de la mayoría de las plantas en los agroecosistemas terrestres. La evidencia fósil reciente y los patrones moleculares de los hongos micorrízicos arbusculares los ubican entre 400 y 500 millones de años de antigüedad y evolucionando en la misma época en que las plantas se establecían en el medio ambiente terrestre. La simbiosis entre los hongos ecto y endomicorrízicos y sus hospederos vegetales son factores determinantes en la estabilidad de las comunidades de plantas en los ecosistemas globales. La micorriza arbuscular (MA), es por mucho el tipo más extendido en el reino vegetal, puesto que se estima que coloniza más del 80% de las especies de plantas con raíz (Guerrero *et al.*, 1996).

La MA se forma a partir de hongos bastantes localizados taxonómicamente, puesto que todos pertenecen al orden *Glomales* de la clase *Zigomicetes*. Los *Glomales* en hongos formadores de micorriza arbuscular conforman un grupo monofilético caracterizado por la capacidad de desarrollar una simbiosis mutualística y por la formación de arbusculos intrarradicales en las plantas hospederas (Azcón, 2000). Se trata de simbiosis obligados de raíces, que, sin embargo, no son hospederos específicos.

Una vez establecida la simbiosis el hongo proporciona nutrientes minerales a la planta, principalmente fósforo, mientras que la planta suministra al hongo compuestos carbonados procedentes de la fotosíntesis, aspectos fisiológicos de tal intercambio bidireccional de nutrientes, clave para el funcionamiento de la simbiosis, han sido objeto de numerosos estudios (Ferrol *et al.*, 1999).

Dependiendo del tipo de hongo, la relación es poco o muy específica, en general cada especie fúngica puede relacionarse con decenas de especies vegetales, aunque tenga preferencia por alguna determinada, en muchos casos esta relación es además muy necesaria para la planta, por lo que ésta incluso emite sustancias atrayentes (Schreiner y Jastrow, 1995).

Por otra parte, con frecuencia el hongo micorrízico es incapaz de subsistir fuera de la simbiosis. En la simbiosis, el vegetal cede al hongo hidratos de carbono, y el hongo facilita a la planta un mejor abastecimiento mineral, especialmente de fósforo, también proporcionan

tolerancia a la sequía, el incremento de producción de los vegetales es variable pero siempre mayor respecto a una planta no micorrizada (Blanco y Salas, 1997).

Actualmente se acepta que el transporte bidireccional de nutrientes entre la planta y el hongo ocurre a nivel de la interfase arbuscular y que implica procesos de transporte activo dirigidos por la H⁺-ATPasa de la membrana plasmática de ambos simbiontes (Rivas-Platero y Cuervo, 1998).

La micorriza es un factor biológico fundamental en la estructura del suelo e incide de manera importante en el comportamiento de las comunidades de plantas, sean éstas naturales o cultivadas (Miller y Jastrow, 2000). Estos se perfilan como un promisorio insumo microbiológico para la agricultura sostenible, su importancia en el funcionamiento de los ecosistemas y su potencial como "fertilizantes biológicos" son motivos suficientes para considerarlas como uno de los componentes más valiosos de la diversidad biológica del suelo (Bearden y Peterson, 1999 y Kapulnik y Douds, 2000).

La aplicación práctica de las micorrizas es factible en cultivos en los que es habitual una fase de trasplante, como es el caso de la fruticultura, horticultura y floricultura. Dados los efectos de las micorrizas como «biofertilizantes» y «bioprotectores» de los cultivos, se acepta que el manejo apropiado de esta simbiosis pueda permitir una reducción significativa de fertilizantes minerales y de fitofármacos, aspectos claves en una producción sostenible en horto-fruticultura, y conservación del ecosistema, con los consiguientes beneficios ecológicos y económicos. Se sabe que los máximos beneficios de la micorrización sólo se obtendrán utilizando los hongos micorrízicos más eficientes y tras una cuidadosa selección de combinaciones planta-hongo-sustrato, altamente compatibles (Guerrero *et al.*, 1996 y Blanco y Salas, 1997).

Se puede prever, que el manejo de la micorriza será una práctica cada vez más utilizada en la medida en que se amplíe el conocimiento sobre la biología de los hongos simbiontes y su comportamiento con diferentes hospederos, sustratos de crecimiento y condiciones ambientales para, de esta manera, poder ofrecer tecnologías eficientes, masificables y comercialmente rentables.

2.2.3. Acción combinada de los microorganismos. Coinoculación RPCV - HMA.

Las interacciones entre microorganismos rizosféricos son de gran importancia ya que estos influyen en la colonización microbiana de la superficie de la raíz, la rizoplana, y consecuentemente, la infección de la raíz, tanto por simbiontes parasíticos, como por los simbiontes mutualísticos (Azcon-Aguilar y Barca, 1996).

Según Hallsal (1986) citado por Soroa (2000), la interacción entre los componentes de una comunidad microbiana pueden manifestarse de diferentes modos, al respecto, hace algunos años se están haciendo intentos aislados para el carácter sinérgico de algunas asociaciones de microorganismos del suelo.

La interacción entre RPCV y HMA puede ser selectiva y dependiente de la bacteria y el hongo implicado. Concretamente, en plantas de yuca micorrizadas con *G. mosseae* se ha puesto

de manifiesto una notable estimulación del crecimiento de una población de *Speudomonas fluorescens* en la superficie del micelio extrarradical del hongo (Balota *et al.*, 1997).

Según Kapulnick y Douds (2000), muchos estudios en la literatura reportan las relaciones entre los hongos MA y algunas rizobacterias específicas; la relación espacial entre las hifas de las MA en el suelo y estas bacterias no ha sido bien establecida aunque es conocido que los agregados del suelo formados alrededor de la hifa de las MA presentan una elevada actividad microbiana; esto sugiere que algunos de los beneficios sobre el crecimiento de las plantas atribuidos a los hongos MA realmente pertenecen a la combinación con las bacterias asociativas.

Algunas especies de bacterias como *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Closiridiuni*, *Burkholderias*, y *Azospirillum*; han sido estudiadas en su interacción con micorrizas arbusculares (MA). *Azospirillum* sp en combinación con hongos MA, producen un incremento significativo del crecimiento de algunos cultivos, pero el mecanismo responsable es controvertido, pues los incrementos algunas veces ocurren sin la evidencia de incrementos en la fijación de nitrógeno o aumentos del contenido de nitrógeno en las plantas (Blanco y Salas, 1997).

Trabajos realizados por Barca y Bonis (1985), mostraron que las plantas micorrizadas e inoculadas con *Azospirillum* sp estimularon su desarrollo, siendo la inoculación efectiva en la mejora del crecimiento de la planta de centeno, así como permitió un crecimiento y toma de nutrientes similar que la lograda con la fertilización mineral.

Azospirillum brasilense ha sido reportada como estimuladora de la colonización de las raíces por MA así como del crecimiento de las plantas inoculadas, según Ratti y Janardhanan (1996). Estudios realizados por Pacovsky y Fuller (1988), citado por ASA (1992) con sorgo (*Sorghum bicolor* (L) Moench), sobre el crecimiento de las plantas con baja disponibilidad de nitrógeno y fósforo e inoculaciones con *Glomus fasciculatum*, *Azospirillum brasilense* o ambas, resultó en una mejoría en el crecimiento con cada microorganismo por separado comparado con los controles no inoculados; pero el crecimiento fue aún mayor con la combinación de los dos simbioses. La adición de *Azospirillum brasilense* a la MA resultó en una colonización superior de la MA.

Por su parte Subba-Rao y Tilak (1985) citados por ASA (1992), encontraron que la toma de fósforo de millo perla en un suelo estéril y deficiente de fósforo, fue mejorada por la inoculación de la semilla con *Azospirillum brasilense* o la inoculación del suelo con micorriza arbuscular (*Acaulospora* sp, *Gigaspora margarita*, *Glomus fasciculatum*); estos microorganismos funcionaron sinérgicamente cuando se añadieron simultáneamente: *Azospirillum brasilense* + *Gigaspora margarita* y *Azospirillum brasilense* + *Glomus fasciculatum*, incrementándose significativamente el contenido de materia seca de los vástagos, la biomasa de las raíces y la toma de fósforo, en comparación con los controles no inoculados.

Efectos sinérgicos de la coinoculación de *Azospirillum* sp y hongos micorrizógenos arbusculares resultaron en un incremento significativo en el crecimiento y contenido de fósforo en las plantas; esta inoculación mixta permitió sustituir completamente la aplicación de fertilizante nitrogenado y fosfórico así como mejora la infección de las plantas por la micorriza (Bashan, 1998a e Iglesias *et al.*, 2000).

Para la agricultura actual, reviste gran importancia la preparación de biopreparados conjuntos que tengan una acción eficaz sobre las plantas y el agroecosistema, siendo además un mecanismo más viable desde el punto de vista económico a la hora de realizar la aplicación (Martínez *et al.*, 2002).

2.3. Los productos bioactivos y su influencia en el crecimiento de las plantas.

Según definición dada por De Liñán (2000), los bioactivadores son productos que activan el crecimiento y desarrollo de las plantas aportando compuestos directamente utilizables; la asimilación de estos elementos favorece o potencia la actividad normal de la planta.

En el Vademécum de productos fitosanitarios y nutricionales (De Liñán, 2000), se reconocen diferentes tipos de bioactivadores como son los de síntesis, de fermentación, de hidrólisis de proteínas, bioactivadores que contienen NPK, de origen vegetal, entre otros, reconocidos como inductores de resistencia, promotores de defensas, repelentes, etc.

2.3.1. El Vermicompost y su influencia en las plantas.

El compostaje es un proceso biológico que consiste en la descomposición de restos de plantas y animales. Es una forma fácil y natural de reciclar los residuos orgánicos y reducir su volumen.

El compost contiene materia orgánica, que es la vida del suelo, y de él depende su fertilidad. Un total de sólo 1 a un 2% es necesario para diferenciar un suelo fértil y otro que no lo es. La fracción superior de la tierra, de color oscuro, con la materia orgánica muy descompuesta, es el llamado humus. Un puñado de ella contiene millones de microorganismos. Dentro de la materia orgánica del suelo, el humus representa del 85 al 90% del total, por ello, hablar de materia orgánica y de la fracción húmica es casi equivalente (EMISON, 2000).

En el mundo cada vez circulan más productos del tipo de sustancias húmicas en fase líquida obtenida de la turba, depósitos de lignito o de compost, los cuales se ofertan a un alto precio por empresas casi siempre de países desarrollados, los cuales tienen un marcado efecto beneficioso en las plantas.

La lombriz californiana se utiliza para transformar residuos orgánicos en abono, humus de lombriz o *worm casting* como se le conoce en el comercio internacional. Un residuo orgánico, con el adecuado laboreo y compostaje, es puesto como sustrato y hábitat para la lombriz y transformado por ésta, mediante su ingesta y excreta en una extraordinaria enmienda fertilizadora. La acción de la lombriz en su proceso digestivo produce un agregado de bacterias que actúan sobre los nutrientes. La acción microbiana del humus de lombriz hace asimilable para las plantas materiales inertes como fósforo, calcio, potasio, magnesio y oligoclementos (EMISON, 2001). El humus de lombriz acelera el desarrollo radicular y los procesos fisiológicos de brotación, floración, maduración y mejora el sabor y color de los frutos.

El vermicompost tiene más valor que el compost convencional, ya que las lombrices transforman el nitrógeno y los otros elementos de forma más útil para las plantas. Tiene un

revestimiento alrededor de los granos que permite que los nutrientes se liberen en el suelo gradualmente; posee hormonas (fitohormonas) que favorecen el crecimiento de las plantas, la floración y la fijación de flores y frutos (Benitez *et al.*, 1999a). Otra característica es, que las hortalizas que se cultivan con ese compost son más ricas en minerales y vitaminas; las plantas aumentan sus defensas naturales porque el vermicompost es más fértil que cualquier otro abono, ya sea químico, natural o la mezcla de ambos (Sainz *et al.*, 2000).

Entre las fuentes de materia orgánica aplicables en la agricultura cubana, el uso de extractos provenientes del vermicompost constituye una alternativa nutricional a utilizar dentro del desarrollo de una agricultura ecológica. Dentro de los productos derivados del vermicompost puede citarse al *BIOSTAN* el cual se presenta como un nuevo bioestimulante para la Agricultura sostenible; es un producto que al actuar sobre las plantas les proporciona un mayor vigor, asegurando más floración y fructificación. Contiene catorce elementos minerales, un adecuado contenido en ácidos húmicos de baja a media masa molar y al menos tres familias de fitohormonas (Garcés, 1999a) y (Garcés *et al.*, 2002).

En cuanto a la efectividad de este producto bioactivo, Huelva *et al.*, (2002) plantean que el *BIOSTAN* en concentraciones acuosas por debajo de 20 mg/l, presenta una alta actividad biológica, facilitando el desarrollo radicular de las plantas, el crecimiento del tallo y hojas así como provoca una mayor floración con una fructificación adecuada.

Su eficiencia estimuladora sobre la productividad agrícola ha sido demostrada en diversos cultivos: hortalizas, granos, floricultura, tabaco (cepellones) y vitroplantas. Se suministra en fase sólida, es estable, fácilmente soluble en agua, aplicable a las semillas, raíces de plantas al momento del trasplante, foliarmente y puede ser peletizado junto a otros componentes (Garcés, 2003).

2.3.2. Los Brasinoesteroides y sus análogos en la agricultura.

Los brasinoesteroides son considerados la sexta clase de hormonas vegetales y su denominación deviene de la brasinólida y/o sus compuestos relacionados, los cuales se encuentran en bajas concentraciones en la fuente natural (Nuñez y Robaina, 2000). Están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, tanto en plantas superiores como inferiores; de esta manera, son encontrados en gimnospermas, monocotiledóneas, dicotiledóneas y algas; están presentes en casi todas las partes de las plantas con las más altas concentraciones en los órganos reproductivos (polen y semillas inmaduras). Los brasinoesteroides muestran varios tipos de actividades reguladoras en el crecimiento y desarrollo de las plantas, tales como estimulación en el alargamiento y división celular, inclinación de la lámina y cambios en los potenciales de membrana. A nivel molecular los brasinoesteroides cambian la expresión de los genes y el metabolismo de los ácidos nucleicos y las proteínas (Khripach *et al.*, 2001); por su efectividad, este colectivo de autores los han considerado como una nueva clase de hormona vegetal, con un efecto positivo en el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Al respecto, se han realizado diferentes estudios donde por ejemplo, en el cultivo del frijol luego de la aplicación del brasinoesteroide, se aceleró el crecimiento de los entrenudos lo cual fue el resultado de la elongación y división celular; una respuesta similar relacionada con el crecimiento celular y la acumulación de biomasa fueron encontrados en varios cultivos.

El amplio espectro de la actividad biológica de los brasinoesteroides ha dificultado la interpretación de los mecanismos básicos de acción; sin embargo, el reciente descubrimiento de genes mutantes, con lesiones en la vía biosintética para los brasinoesteroides y sensibles a estos, ha permitido aclarar muchos de estos mecanismos (Yakota, 1997).

Para la investigación acerca del modo fisiológico de acción de los brasinoesteroides, han sido realizados varios estudios, demostrándose un amplio espectro de acción biológica, siendo capaces de influir en varios procesos fisiológicos de las plantas (Nuñez, 1996)

Los análogos de brasinoesteroides contribuyen a un aumento del rendimiento y la calidad de las plantas en condiciones adversas de estrés salinos, hídricos y térmicos; incrementan la resistencia de las plantas frente al efecto de algunas plagas y productos químicos y pueden sustituir en diversos procesos a varias de las fitohormonas conocidas (Nuñez, 2000).

Por su parte Wilen *et al.*, (1995) demostraron que los brasinoesteroides confieren a las células vegetales alguna tolerancia al estrés y sugieren que los mecanismos por los cuales estos compuestos ejercen efectos antiestrés, pueden ser, en parte, similares a los del ácido abscísico. De esta forma, en trabajos realizados por Nuñez *et al.*, (1998), aplicando un análogo de brasinoesteroide en el cultivo del tomate 20 días después de la siembra, encontraron que este bioestimulante fue capaz de reducir ligeramente los efectos adversos que el déficit hídrico provoca en el crecimiento de las plantas.

En varios sistemas, los brasinoesteroides interactúan fuertemente de forma sinérgica con las auxinas; por otra parte, las respuestas de los brasinoesteroides y las giberelinas parecen ser ambas independientes y activas (Nuñez y Robaina, 2000).

Analizando la respuesta de diferentes sistemas de raíces a los brasinoesteroides, algunas peculiaridades comunes han sido indicadas; aunque la respuesta fisiológica de las raíces a los brasinoesteroides aún no está bien esclarecida; investigaciones en este campo son de gran utilidad para comprender el rol y el mecanismo de acción de estos compuestos endógenos y exógenos en plantas, la capacidad de estimular es importante para la aplicación práctica de los brasinoesteroides (Khrpach *et al.*, 2001). Este mismo autor expone trabajos relacionados con la influencia de los brasinoesteroides en el control de hongos fitopatógenos, donde se ha demostrado en el cultivo de la papa (como sistema de planta modelo), una fuerte resistencia a la infección por *Phytophthora infestans*; también en el cultivo de la cebada se observó una disminución en la enfermedad foliar provocada por *Helminthosporium teres* Sacc.

En Cuba, se dispone de diferentes análogos de brasinoesteroides con diferentes estructuras químicas, contándose con cantidades suficientes para evaluar su efectividad como biorreguladores entre ellos se encuentran el Biobras-16 (BB-16), Biobras-6 (BB-6), MH5, DI-5, entre otros (Nuñez, 1996).

Diversos estudios han demostrado la actividad estimuladora de estos compuestos; por ejemplo Nuñez (2000), en un proyecto de investigación realizado sobre esta temática, reporta incrementos en el rendimiento agrícola de diferentes cultivos: tomate (18-47,5%); ajo (14,2-17,7%); maíz (10,8-50,5%); soya (10-69,1%); papa (7,3-31,4%); arroz (45,2-49,8%); etc.

Resultados similares obtuvieron Savelieva *et al.*, (1997) quienes observaron una aceleración en el crecimiento de plantas de tomate crecidas en invernadero, incrementándose los rendimientos entre un 10-18%. Por otra parte, Churikova y Dereushchukov (1997), en condiciones de campo obtuvieron los mejores resultados cuando aplicaron un análogo de brasinoesteroide dos veces, una aplicación a la semilla y la otra aplicación foliar en la fase de floración, las plantas tratadas fueron menos dañadas por *Phytophthora* y tuvieron mejores propiedades organolépticas.

Por su papel como traslocador de los productos del metabolismo de las plantas, pueden ser los análogos de brasinoesteroides considerados como alternativas complementarias para la nutrición a partir de su efecto positivo en el estímulo del crecimiento y desarrollo de las plantas.

2.4. El cultivo del tomate y su importancia económica y nutricional.

2.4.1. Generalidades

El centro de origen del género *Lycopersicon* es la región andina que se extiende desde el Sur de Colombia al Norte de Chile, pero se reconoce que fue en México donde se domesticó, quizás porque allí crecía como mala hierba entre los huertos y milpas. A mediados del siglo XVI se consumía en México tomates de distintas formas y tamaños e incluso rojos y amarillos, pero por entonces ya habían sido llevados a España y servían como alimento; de este país se difundió a otros países europeos y también llegó a Estados Unidos y Canadá (Argerich, 1995). El tomate se cultiva hoy, desde el trópico hasta el círculo polar ártico, adaptándose a un amplísimo rango de condiciones ambientales (Ruiz, 2002).

El tomate es la hortaliza más ampliamente difundida en todo el mundo y la de mayor valor económico; su demanda aumenta continuamente y con ella su cultivo, producción y comercio (Asociación tomate, 2000). El consumo per cápita de hortalizas en América Latina y el Caribe es, con pocas excepciones, reducido comparado con el de los países desarrollados. Aunque en Cuba, el consumo de hortalizas ha crecido con los avances de la Agricultura Urbana, se continúa enfatizando en la necesidad de un mayor consumo de hortalizas y frutas como fuentes de vitaminas, minerales y Fibras en la dieta humana (Dominí, 1996).

El tomate es una hortaliza que ha venido despertando en los últimos años un gran interés entre la comunidad científica por el efecto beneficioso que tiene sobre el organismo humano, y son cada vez más los estudios que confirman que este vegetal es una fuente inagotable de propiedades preventivas y curativas. Al respecto Borrego (2001) señala que los frutos tienen un alto contenido de vitamina A y C así como potasio y licopeno; esto le imprime un importante contenido nutritivo, por propiedades antioxidantes que reducen la presencia de radicales libres en el cuerpo humano, disminuyendo algunas enfermedades.

Gómez *et al.*, (2000) señalan que sólo el 10% de la producción mundial de tomate se produce en América Latina y el Caribe. En Cuba, ocupa el 42% del área destinada a las hortalizas, encontrándose el nivel de producción alrededor de las 311800 toneladas con un rendimiento promedio de 10,02 t.ha' comercializándose en los últimos años más de 200 000 t (IIHLD, 2000). Se cultiva en todas las provincias del país, siendo las principales productoras La Habana, Pinar del Río y Villa Clara; la producción se destina al consumo en estado fresco para la población y a la industria, donde son elaborados diferentes subproductos como puré, salsas, jugos y encurtidos (Huerres y Caraballo, 1991).

En nuestro país, la producción de tomate se realiza fundamentalmente en la llamada "estación de seca" (noviembre - abril) donde se presentan las condiciones del clima más favorables. En el período de primavera - verano "estación lluviosa", la interacción de las altas temperaturas con la alta intensidad luminosa, son responsables de la baja fructificación del tomate y provocan a su vez efectos sobre el crecimiento (Cuba, MINAGRI, 1984). Las plantaciones de tomate que se realizan en los meses de agosto - septiembre sin protección, pierden de 2-3 racimos y no pueden fructificar normalmente (Pino, 2001).

La producción de tomate en Cuba a campo abierto es desarrollada fundamentalmente en dos períodos de siembra: (Gómez *et al.*, 2000)

Período temprano y Medio temprano (21 agosto al 20 octubre): se caracteriza por temperaturas altas y la ocurrencia de fuertes lluvias que disminuyen con el avance de la fecha, deben utilizarse cultivares con adaptación a las altas temperaturas y humedad en los diferentes ciclos vegetativos.

Período normal u óptimo (21 de octubre al 20 diciembre): es el período más favorable para la mayor producción de tomate en Cuba y se caracteriza por temperaturas aún altas al principio, pero con tendencia a disminuir gradualmente con el avance de la fecha. Deben emplearse cultivares de alto potencial productivo y de diferentes ciclos.

2.4.2. La asociación de cultivos como alternativa para la producción de tomate fuera del período óptimo.

A medida que las investigaciones se encaminan hacia los mecanismos de uso de recursos en poli y monocultivos, se hace más evidente que las ventajas de producción de los policultivos están a menudo asociadas a una mayor utilización de la luz, el agua y los nutrientes disponibles, o con el uso más eficaz de una determinada unidad de recursos (Leyva *et al.*, 2002).

La asociación de cultivos cobra gran importancia para la producción de tomate en período no óptimo a partir de que se toma en cuenta que la fuerte radiación solar y las altas temperaturas predominantes en el clima de Cuba. Las producciones de tomate en condiciones de altas temperaturas y humedad, son particularmente desfavorables para la fructificación limitando su producción. Se conoce que este cultivo es sensible a ciertas temperaturas críticas que pueden inducir la caída de botones y flores, así como disminuir el número máximo de frutos que puede producir la planta (Abdul-Baki, 1991).

Enfocado hacia el sistema de cultivo del pequeño productor de tomate tropical de bajos recursos, la asociación de cultivos puede lograr una interacción dinámica de diversos factores, que contribuya a una mayor estabilidad de la producción del sistema como conjunto y un menor riesgo de pérdidas. Esto da la idea de lo que puede representar para el tomate la asociación con otros cultivos que permitan, por ejemplo, superar situaciones de estrés físico, disminución de enfermedades y plagas, así como lograr un uso más racional del suelo y su conservación (Odum, 1999 y Gómez *et.al.*, 2000).

El hecho de aumentar la diversidad de la vegetación mediante el uso de los policultivos no es la panacea para resolver los problemas de producción y protección de cultivos, pero puede ofrecer a los agricultores opciones potencialmente útiles para disminuir la dependencia de insumos externos, reducir al mínimo la exposición a los productos agroquímicos, aminorar el riesgo económico, la vulnerabilidad nutricional y proteger la base necesaria de los recursos naturales para la sustentación agrícola. (Treto *et al.*, 2001 y Vandermeer y Perfecto, 2002).

El aporte de múltiples excreciones radicales propiciadas en una asociación de cultivos, favorece una actividad diversa y equilibrada del suelo, puede realizarse un mejor aprovechamiento de la humedad del suelo, así como mejorar la bioestructura del mismo dado por el mayor aporte de biomasa (Triado, 1999 y De Vecchi, 2001).

Diversos estudios donde se asocia el tomate a otros cultivos, han sido desarrollados por diferentes autores, teniendo como objetivo principal el manejo de las plagas en el cultivo del tomate (Nordlund *et al.*, 1984; Kalbone, 1985; Arola *et al.*, 1991 y León, 1999). Recientemente, Pino (2001) tuvo en cuenta esta asociación para modificar la productividad del cultivo del tomate fuera del período óptimo, utilizando al maíz congo sombra natural, estos resultados constituyen hoy una tecnología de aplicación recomendada para la producción de esta especie en período no óptimo. Sin embargo, aún bajo este sistema de producción de tomate, quedan importantes aspectos por investigar siendo uno de ellos, la utilización de alternativas para la nutrición del cultivo del tomate que le permitan a las plantas una mayor tolerancia al estrés ambiental que impera en los períodos tempranos y tardíos de siembra del cultivo.

La tarea para el futuro, es poder entender mejor la dinámica y complejidad de los policultivos para que este sistema pueda refinarse, transferirse y adaptarse de manera que se obtengan beneficios predecibles, de aquí se avizora un futuro prominente donde los sistemas (los cultivos asociados constituyan una alternativa para la producción sostenible del cultivo del tomate bajo nuestras condiciones ambientales.

2.4.3. Nutrición v fertilización en el cultivo del tomate.

Las plantas, al igual que los restantes seres vivos, precisan una nutrición adecuada para poder asegurar un normal desarrollo. El follaje toma el carbono de la atmósfera y las raíces extraen el agua y los nutrientes del suelo. Ambas partes de la planta interactúan para hacer posible el crecimiento (Berttsch, 1998).

Cuando el suministro de nutrientes es adecuado, el crecimiento de hojas y tallos (parte aérea) es relativamente mayor que el crecimiento de las raíces; en cambio, cuando los nutrientes son insuficientes, las plantas producen más raíces y menos follaje, siendo este de menor calidad (Welch, 1995). Las plantas tienen que lograr un equilibrio entre la absorción de los nutrientes y el uso que hacen de ellos (CIAT, 1993). Todos los elementos que necesita la planta, macroelementos y microelementos se encuentran en casi todos los suelos, aunque en ciertos casos algunos se encuentran en poca cantidad o en estado no asimilable por las raíces. Por otra parte, las plantas están extrayendo constantemente grandes cantidades de esos minerales, principalmente: calcio, fósforo, nitrógeno, potasio, magnesio y azufre (SQM, 1999).

Para que el funcionamiento metabólico de la planta sea adecuado y su desarrollo óptimo, es necesario que las sustancias nutritivas se encuentren en equilibrio, interactuando en forma armónica; un exceso o déficit ocasiona plantas débiles susceptibles a plagas y enfermedades, baja calidad alimentaria y cosechas de poca durabilidad. Asimismo, la forma de la disponibilidad en términos cuantitativos y cualitativos, influye en las plantas en cuanto a calidad, vitalidad, resistencia y susceptibilidad a plagas y enfermedades, conformación y sabor (Gutiérrez, 1997 y Darwich, 1998).

El tomate es exigente en cuanto a niveles de nutrición mineral apropiados debido principalmente al gran volumen de frutos producidos por unidad de superficie. La cantidad de nutrientes encontrados en los frutos cosechados es relativamente superior cuando se compara con otras hortalizas (Nuez, 1995 y Cuartero, 2001).

La fertilización del suelo está destinada a restituir, mantener o aumentar el potencial productivo de este para que las plantas que se cultiven tengan todos los aportes de nutrientes que necesitan para poder desarrollarse adecuadamente. El suelo ya cuenta con un grado de fertilidad que viene dado por la naturaleza de la roca madre, los depósitos aéreos, la composición (complejo arcillo-hímico) y otros factores como el clima, la topografía y la circulación del agua; dependiendo de estos factores se necesitará más o menos trabajo para que el suelo consiga una fertilización óptima (Marschener *et al.*, 1996 y Johnston, 1997).

Treto *et al.*, (2001) plantean que en el marco de la Agricultura Sostenible, la fertilización se concibe como la aplicación racional de fertilizantes dentro del respeto al medio ambiente. La posible contaminación en el sistema suelo - planta con la aplicación de fertilizantes puede deberse a los metales pesados que contengan los materiales fertilizantes o bien a una inadecuada dosificación. De aquí que, por un lado, es necesario utilizar recursos naturales, como la fijación biológica de nitrógeno y el aprovechamiento de residuos de cosechas; por otra parte, se debe hacer la dosificación de fertilizantes orgánicos y minerales que completen los recursos naturales, en base a un adecuado diagnóstico de suelos, plantas y aguas de riego (FAO, 1998).

Los cultivos tienen diferentes requerimientos o demandas de nutrientes que deben ser satisfechos para lograr rendimientos determinados. El tomate en su ciclo de crecimiento pasa por varias etapas de desarrollo: establecimiento de plántulas; crecimiento vegetativo; floración;

desarrollo de frutos y madurez; cada uno de estos estados es diferente desde el punto de vista de requerimientos nutricionales (FAO, 1992).

En Cuba, resultados experimentales obtenidos en suelos Ferralíticos Rojos, con contenidos medios y altos de P₂O₅ y K₂O se han tomado como elemento básico para determinar las dosis de fertilizantes a aplicar, estableciéndose la aplicación de 150 kg/ha de N; 75 kg/ha de P₂O₅ y 100 kg/ha de K₂O (Cuba, MINAG, 1984). De forma general, en el tomate se aplican 0.50-1.86 t/ha de la formulación 8-7.5-12 y 0.07-0.47 t/ha de 33-0-0 que proporcionan al suelo 125-144 kg/ha de N; 42-142 kg/ha de P₂O₅ y 72-232 kg/ha de K₂O (Huerres y Caraballo, 1991).

En cuanto al fraccionamiento y momentos de aplicación, se ha tratado de ajustar al máximo a los resultados experimentales obtenidos en suelos rojos, donde se plantea aplicar el fósforo y potasio en siembra con 1/3 de nitrógeno y los 2/3 de nitrógeno restantes se aplicarán a los 25-30 días posteriores con respecto a la fertilización anterior.

Las recomendaciones de nutrición y fertilización en el cultivo del tomate son variables, y dependen de las condiciones locales específicas. Los mejores rendimientos y calidad se obtendrán cuando se aporte la cantidad necesaria de nutrientes, en forma balanceada, en época oportuna, de acuerdo al ritmo de absorción de la planta, y con la fuente de fertilizante adecuada.

2.5. Consideraciones generales.

Cualquiera que sea el nuevo paradigma agrícola, lo que resulta claro, es que la revolución verde ha cumplido su ciclo y se requiere una evolución hacia sistemas más sostenibles y menos contaminantes. Los excesos de agroquímicos son responsables de la contaminación de los suelos agrícolas, de su degradación y de la pérdida de la comunidad biótica.

La agricultura del siglo XXI enfrentará una creciente demanda mundial de alimentos y materias primas provenientes de la producción ecológica. Los consumidores están cada vez más interesados en productos sanos, libres de residuos tóxicos y comprometidos en no colocar en riesgo la salud humana ni ambiental. El productor exitoso de las próximas décadas deberá ser guiado por principios éticos sólidos, con técnicas y métodos confiables que garanticen una producción económica, social y ambientalmente sostenible.

Los objetivos económicos no son la única motivación para hacer agricultura ecológica, su propósito es lograr una interacción óptima entre el suelo, los animales y las plantas, conservar los nutrientes naturales y los ciclos de energía y potenciar la diversidad biológica, todo lo cual contribuye a la Agricultura Sostenible.

El enriquecimiento de sustratos con microorganismos que demuestran grandes beneficios para las plantas como es el caso de rizobacterias promotoras del crecimiento y hongos micorrízicos, constituye un campo de acción de gran importancia para proveer a la planta de defensas naturales y de una nutrición adecuada. Los estudios de los biofertilizantes a base de rizobacterias y hongos micorrizógenos y la acción conjunta de estos, aún no han sido estudiados a profundidad, tampoco el efecto de estos unidos a los productos bioactivos son encontrados en la literatura internacional; de aquí, que estos estudios en el cultivo del tomate representan un

significante aporte a la producción ecológica de esta demandada hortaliza para diferentes períodos de siembra.

De manera general, puede verse la necesidad, urgencia y conveniencia de emprender acciones tendientes a lograr la difusión y la consolidación de los principios de la agricultura ecológica para lograr una agricultura realmente sostenible, con los consiguientes beneficios económicos, sociales y ambientales para los productores, los consumidores y los agroecosistemas.

III. Materiales y Métodos.

3.1. Ubicación y caracterización edafoclimática del área experimental.

El trabajo experimental fue realizado entre los años 1995 y 2002, en el área experimental del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), ubicado San José de las Lajas, provincia La Habana y situada a 138 m sobre el nivel del mar, sobre un suelo Ferralítico Rojo lixiviado típico (Hernández *et al.*, 1999), que se correlaciona con Udic Rhodustalf (Sol] Survey Satff, 1999) y Nitisol ródico éútrico (Deckers *et al.*, 1998). La caracterización de un perfil de este suelo se presenta en el Anexo 1, tomado de Borges (2004).

El comportamiento de las principales variables climáticas que incluyen en el cultivo y durante el período de desarrollo de los experimentos, se refleja en la Figura 1 para los períodos temprano y óptimo. Como se aprecia, las características climáticas del agroecosistema donde se desarrollaron los experimentos, en el período temprano, las precipitaciones están por encima de 100 mm y en el período óptimo por encima de 50 mm, el promedio de la temperatura es de 26,3 gC (temprano) y 23.2 gC (óptimo). En toda la región las precipitaciones anuales sobrepasan los 1250 mm, lo cual señala a esta región como la más húmeda de las llanuras de Cuba; el promedio anual de la temperatura es de 23.6 gC y la humedad relativa de 80.9%.

El análisis de la microbiota realizado previo al inicio de la investigación (Tabla 1), refleja que los microorganismos estudiados durante el período experimental, se encuentran en bajas poblaciones lo que sugiere la necesidad de una inoculación artificial para lograr una mayor eficiencia en el cultivo del tomate.

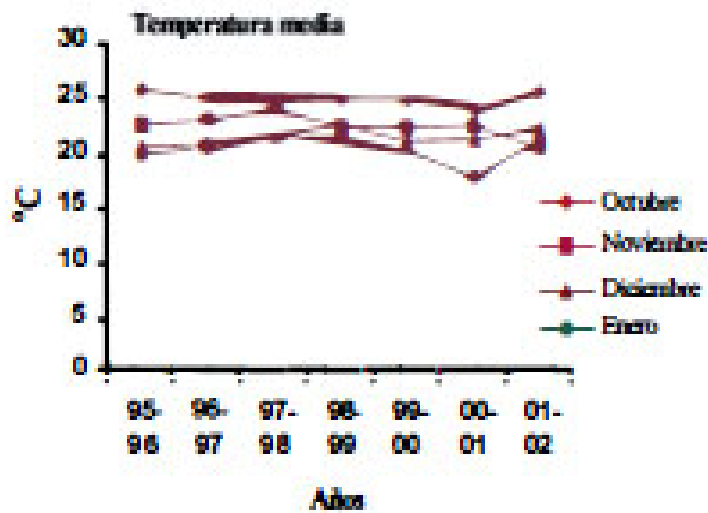
Tabla 1. Población microbiana.

Microorganismos	Población
Microbiota total	1.86×10^7 ufc.g ⁻¹ de suelo rizosférico
<i>Azospirillum brasilense</i>	3.73×10^4 ufe.g ⁻¹ de suelo rizosférico
Hongos micorrízicos arbusculares	20 - 50 esporas. 50 g ⁻¹ de suelo

3.2. Esquema experimental.

Como se aprecia en el esquema, se desarrollaron experimentos para definir la efectividad de HMA y RPCV en el crecimiento de las plántulas en condiciones de semillero a campo abierto, y en condiciones de macetas para evaluar el efecto de la coinoculación. Luego de contarse con la información de esta etapa, se procedió a evaluar el comportamiento de las plántulas en la fase de plantación, en un sistema de policultivo en el período temprano y en unicultivo en el período óptimo. Posteriormente, se condujeron experimentos para estudiar el proceso de coinoculación, más la aplicación de los productos bioactivos en sistemas de policultivo y unicultivo en plantación temprana y óptima, respectivamente. Finalmente en condiciones de organopónico y campo abierto se realizó un estudio prescindiendo de fertilizantes sintéticos, con el objetivo de conocer el alcance

Periodo Optimo



Periodo Temprano

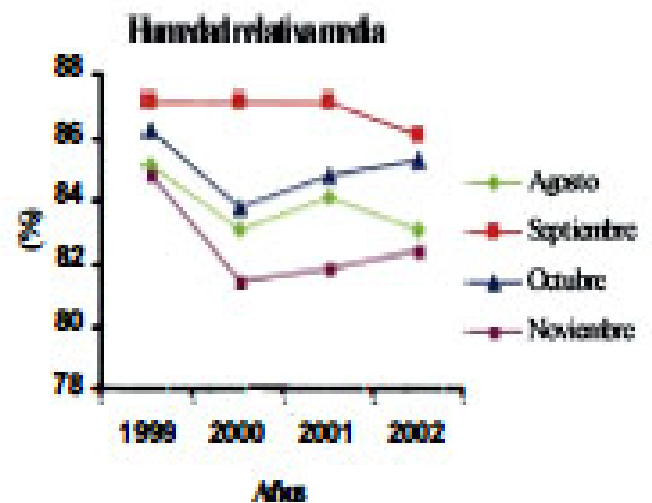
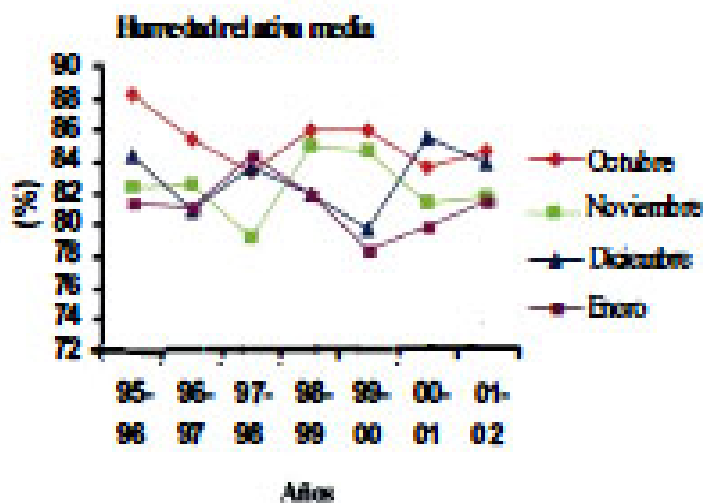
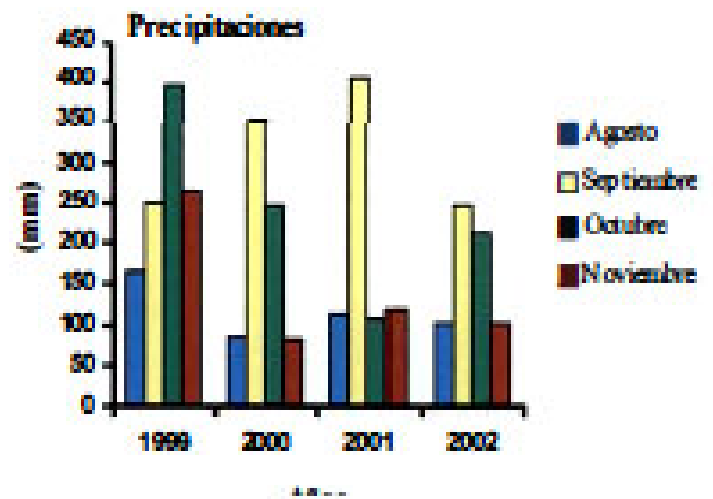
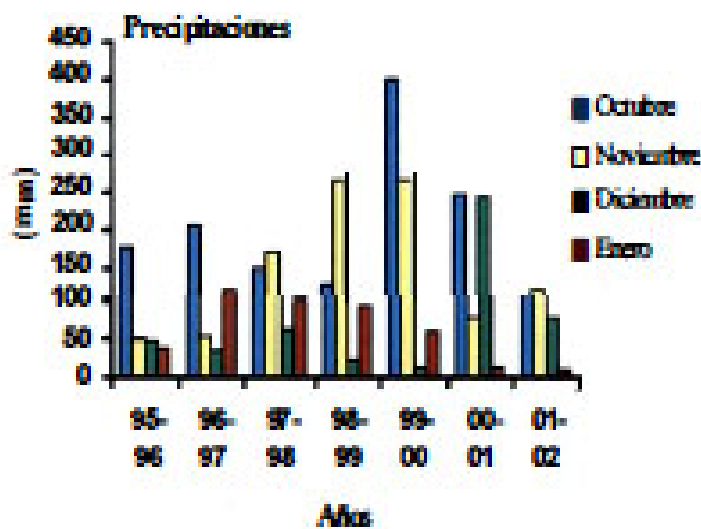
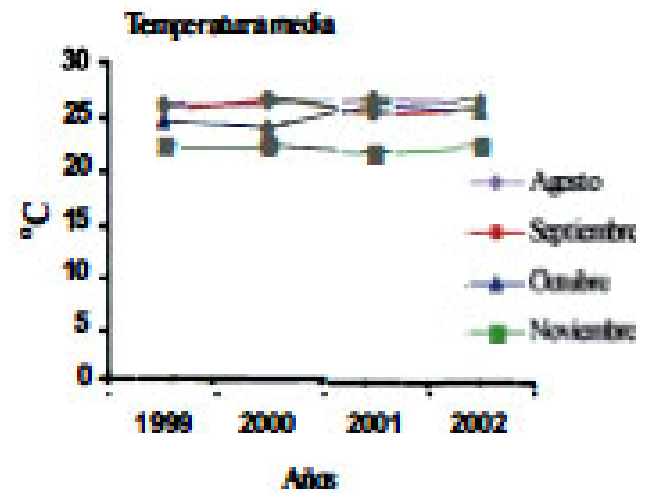
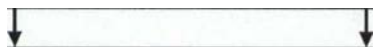


Figura 1. Algunas características climáticas predominantes en los periodos de trabajo experimental.

de los microorganismos benéficos y los productos bioactivos como alternativa ecológica para la producción de tomate bajo condiciones similares a las desarrolladas en esta investigación.

Experimentos en período óptimo



- Evaluación y selección de diferentes especies de HMA**
- Evaluación y selección de diferentes especies de RPCV.**
- Evaluación de la coinoculación HMA - RPCV.**
- Influencia de la coinoculación y el producto bioactivo Biostan**
- Influencia de la coinoculación y el producto bioactivo Biobras-16.**
- Contribución a la producción de tomate con una alternativa ecológica.**

Experimentos en período temprana

- Evaluación de la coinoculación HMA - RPCV.**
- Influencia de la coinoculación y los productos bioactivos Biostan y Biobras-16.**
- Contribución a la producción de tomate con una alternativa ecológica.**

3.3. Aspectos fitotécnicos generales.

Para todos los experimentos se utilizó la variedad de tomate Amalia procedente del Programa de Mejoramiento Genético del INCA y generalizada en el país (Alvarez *et al.*, 1997). Para los experimentos en el período temprano se montaron los semilleros en la segunda quincena de agosto, con trasplante en septiembre y cosechas entre los meses de noviembre-diciembre; en el caso de los experimentos en el período óptimo, los semilleros se montaron en la segunda quincena de octubre con trasplante en noviembre y cosechas entre diciembre-enero. Se produjeron las plántulas en semilleros temporales a campo abierto, el manejo de estos se realizó teniendo en cuenta la Protección Integrada con criterios Agroecológicos. Las plántulas para los experimentos sin Fertilización mineral, se produjeron en cepellones conformados por una mezcla de cachaza y litonita. La plantación se realizó por el método de trasplante de plántulas inoculadas a raíz desnuda, a una distancia en unicultivo de 1,40 x 0,30 m y en asociación de cultivos, a una distancia de 0,90 x 0,30 m con un arreglo topológico de tres hileras de tomate con dos hileras de maíz por ambos lados, según lo recomendado por Pino (2001). En ambos sistemas se realizaron las atenciones culturales de los dos cultivos según lo recomendado por los Instructivos técnicos de tomate (Cuba. MINAGRI, 1984) y maíz (Cuba. MINAGRI, 1984), excepto la fertilización nitrogenada, que se varió en el cultivo del tomate en función de los tratamientos en estudio, utilizándose como portador la urea (46% N) aplicándose a razón de 150 kg.ha⁻¹ de forma Craccionada en tres tiempos a saber, en el

momento de la siembra, en el trasplante y 30 días después. Se aplicó como fertilizante de fondo fósforo y potasio (superfosfato simple, 20% P₂O₅; y cloruro de potasio, 60% K₂O) en el momento del trasplante, a una dosis de 75 kg P₂O₅.ha⁻¹ y 100 kg K₂O ha⁻¹ respectivamente (Cuba, MINAGRI, 1984). En los experimentos donde se sustituyeron los fertilizantes minerales, se utilizaron sólo biofertilizantes y productos bioactivos.

La variedad de maíz empleada en la asociación fue la 'Francisco mejorada' caracterizada por tener un porte alto y un ciclo biológico de 120 días. Se le realizó una fertilización nitrogenada a una dosis de 150 kg.ha⁻¹ de forma fraccionada en el momento de la siembra y a los 30 días de realizada la misma (Cuba, MINAGRI, 1984).

Los tratamientos en condiciones de semilleros, contaron con una superficie de 2 m², distribuidos en un diseño completamente aleatorizado. La plantación de los experimentos conducidos en el período óptimo, se realizó en parcelas de 35 m², con un área de cálculo para la cosecha de 21m² en un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas por tratamientos. Los experimentos desarrollados en el período temprano (policultivo) se asignaron aleatoriamente a las unidades experimentales en franjas de 25 m de largo y 15.3 m de ancho (382.5 m²), constituyendo los 3 surcos de tomate la superficie de cálculo para la cosecha. El experimento realizado en condiciones de organopónico se desarrolló en canaletas de 25 m de largo x 1 m de ancho, donde se utilizó como sustrato, suelo Ferralítico Rojo y cachaza comportada en una relación 3:1.

En los experimentos se evaluaron dos grupos de microorganismos: Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV) y Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA), los cuales fueron inoculados a la semilla según la tecnología de recubrimiento propuesta por Gómez *et al.*, (1996) y Fernández *et al.*, (2000). Las cepas y títulos de cada inóculo fueron: *Azospirillum brasilense* (Sp7)= 3,42 x 10⁹ ufc.g⁻¹; *Azospirillum lipoférum* (SpBr17)= 3,27 x 10⁹ ufc.g⁻¹, ambos en soporte sólido (turba tamizada y estiércol). Los hongos MA poseían un título de 25 esporas g⁻¹.

Se utilizaron dos productos bioactivos: el producto obtenido en el Departamento de Química de la Universidad Agraria de La Habana, producido a partir del vermicompost y cuyo nombre comercial es 'Biostan' (**Anexo 2**) y también se contó con un producto procedente del Centro de Estudios de Productos naturales de la Facultad de Química de la Universidad de La Habana, cuya formulación es conocida como 'Biobras-16' y que tiene como ingrediente activo un análogo espirostánico de brasinoesteroide, el cual ha sido utilizado con éxito en el cultivo (Nuñez, 2000). Ambos fueron aplicados mediante aspersión foliar en horas tempranas del día para coincidir con la apertura estomática como vía para facilitar la penetración del producto; realizándose la misma en dos etapas del desarrollo del cultivo: inicio de la floración (IF) y floración-fructificación (FI-Fr), a una dosis de 25 mg.ha⁻¹ (Biobras-16) y 730 mg.ha⁻¹ (Biostan), según lo recomendado por Nuñez *et al.* (1995) y Garcés (2000) respectivamente.

Los experimentos que fueron conducidos para cumplir los objetivos de esta investigación se presentan en la Tabla siguiente:

Tabla 2. Experimentos desarrollados

Experimentos en Período óptimo (Unicultivo)	Años
1) Selección de diferentes especies de <i>Glomus</i> sp	1995 y 1996
2) Selección de diferentes especies de <i>Azospirillum</i> sp	1995 y 1996
3) Coinoculación <i>Glomus</i> sp + <i>Azospirillum</i> sp y diferentes niveles de nitrógeno	1997 y 1998
4) Coinoculación <i>Glomus</i> sp + <i>Azospirillum</i> sp + Biostan	1999 y 2000
5) Coinoculación <i>Glomus</i> sp + <i>Azospirillum</i> sp + Biobras-16	1999 y 2000
6) Contribución de microorganismos benéficos y productos bioactivos a la nutrición de las plantas, en ausencia de la fertilización mineral.	2001(organopónico) 2001 y 2002 (campo abierto)
Experimentos en Período temprano (Policultivo)	Años
1) Coinoculación <i>Glomus</i> sp + <i>Azospirillum</i> sp y diferentes niveles de nitrógeno	1998 y 1999
2) Coinoculación + Biostan y Biobras-16	2000 y 2001
3) Contribución de microorganismos benéficos y productos bioactivos a la <u>nutrición de las plantas</u> , en <u>ausencia</u> de la fertilización <u>mineral</u> .	2002 (campo abierto)

3.4. Experimentos desarrollados.

3.4.1. Evaluación y selección de diferentes especies de HMA y RPCV en el cultivo del tomate (var. Amalia).

3.4.1.1. Evaluación y selección de diferentes especies de HMA (*Glomus* spp) . Influencia en el crecimiento, rendimiento y colonización en el cultivo del tomate.

Se desarrolló un experimento entre los años 1995 y 1996, en el período óptimo del cultivo, con el objetivo de determinar primeramente, las especies con mayor efecto en el crecimiento de las plántulas: para ello, en la fase de semillero se evaluaron tres especies de *Glomus* spp, en inoculaciones simples con y sin suplemento de fertilizante nitrogenado, comparados con un testigo absoluto y un testigo de producción (Tabla 3). Las especies seleccionadas fueron tomadas a partir de un screening realizado por Medina y Pino (1992) y como fertilización mineral, se aplicó 30 kg N.ha⁻¹ según lo recomendado por el Instructivo técnico del cultivo (Cuba, MINAGRI, 1984). En la etapa de plantación, se evaluó la eficiencia de la inoculación con las diferentes especies de *Glomus* spp, los tratamientos consistieron en evaluar las tres especies de HMA con diferentes dosis de fertilizantes nitrogenados para medir la eficiencia de estas especies.

Tabla 3. Tratamientos para la evaluación y selección de especie de HMA

No.	Tratamientos (semillero)	No.	Tratamientos (plantación)
1	Testigo Absoluto (0 fertilizante mineral y no inoculación)	1	Testigo Absoluto (0 fertilizante mineral y no inoculación)
2	<i>Glomus mosseae</i> + 0 kg N.ha ⁻¹	2	<i>Glomus mosseae</i> + 0 kg N.ha ⁻¹
3	<i>Glomus fasciculatum</i> + 0 kg N.ha ⁻¹	3	<i>Glomus fasciculatum</i> + 0 kg N.ha ⁻¹
4	<i>Glomus clarum</i> + 0 kg N.ha ⁻¹	4	<i>Glomus clarum</i> + 0 kg N.ha ⁻¹
5	<i>Glomus mosseae</i> + 30 kg N.ha ⁻¹	5	<i>Glomus mosseae</i> + 90 kg N.ha ⁻¹
6	<i>Glomus fasciculatum</i> + 30 kg N.ha ⁻¹	6	<i>Glomus fasciculatum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹
7	<i>Glomus clarum</i> + 30 kg N.ha ⁻¹	7	<i>Glomus clarum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹
8	Testigo de producción (30 kg N.ha ⁻¹)	8	<i>Glomus mosseae</i> + 120 kg N.ha ⁻¹
		9	<i>Glomus fasciculatum</i> + 120 kg N.ha ⁻¹
		10	<i>Glomus clarum</i> + 120 kg N.ha ⁻¹
		11	Testigo de producción (150 kg N.ha ⁻¹)
		12	90 kg N.ha ⁻¹
		13	120 kg N.ha ⁻¹

3.4.1.2. Evaluación y selección de diferentes especies de RPCV (*Azospirillum* spp). Influencia en el crecimiento, rendimiento y colonización en el cultivo del tomate.

En el período óptimo del cultivo (años 1995 y 1996), se desarrolló un experimento, con el objetivo de evaluar primeramente, las especies con mayor efecto en el crecimiento de las plántulas; para ello, en el semillero se estudiaron dos especies de *Azospirillum* spp, en inoculaciones simples con y sin suplemento de fertilizante nitrogenado, comparados con un testigo absoluto y un testigo de producción (Tabla 4). Las especies escogidas para el estudio fueron tomadas a partir de un screening realizado por Medina y Pino (1992) y como fertilización mineral, se aplicó 30 kg N.ha⁻¹ según lo recomendado por el Instructivo técnico del cultivo (Cuba, MINAGRI, 1984). En la etapa de plantación, se evaluaron estas especies con el objetivo de evaluar la eficiencia de la inoculación a partir de diferentes dosis de fertilización nitrogenada.

Tabla 4. Tratamientos para la evaluación y selección de especie de RPCV.

No.	Tratamientos (semillero)	No.	Tratamientos (plantación)
1	Testigo Absoluto (0 fertilizante mineral y no inoculación)	1	Testigo Absoluto (0 fertilizante mineral y no inoculación)
2	<i>Azospirillum lipoferum</i> + 0 kg N.ha ⁻¹	2	<i>Azospirillum lipoferum</i> + 0 kg N.ha ⁻¹
3	<i>Azospirillum brasilense</i> + 0 kg N.ha ⁻¹	3	<i>Azospirillum brasilense</i> + 0 kg N.ha ⁻¹
4	<i>Azospirillum lipoferum</i> + 30 kg N.ha ⁻¹	4	<i>Azospirillum lipoferum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹
5	<i>Azospirillum brasilense</i> + 30 kg N.ha ⁻¹	5	<i>Azospirillum brasilense</i> + 90 kg N.ha ⁻¹
6	Testigo de producción (30 kg N.ha ⁻¹)	6	<i>Azospirillum lipoferum</i> + 120 kg N.ha ⁻¹
		7	<i>Azospirillum brasilense</i> + 120 kg N.ha ⁻¹
		8	90 kg N.ha ⁻¹
		9	120 kg N.ha ⁻¹
		10	Testigo de producción (150 kg N.ha ⁻¹)

3.4.2. Evaluación de la coinoculación HMA - RPCV en el crecimiento, desarrollo, rendimiento y colonización en el cultivo del tomate.

3.4.2.1. Evaluación de la coinoculación *Glomus clarum* + *Azospirillum brasilense* en plántulas de tomate.

Teniendo en cuenta los resultados de los experimentos anteriores, donde se seleccionaron las especies *G. clarum* y *A. brasilense*, se desarrolló un experimento en macetas con capacidad para un volumen de 5 kg. de suelo Ferralítico Rojo lixiviado, en el período óptimo del cultivo (año 1997 y 1998), con el objetivo de evaluar de forma más controlada la efectividad de la coinoculación de ambos microorganismos sobre algunos indicadores del crecimiento de las plantas. Se siguió una dinámica de la altura a partir de los 10 días después de la germinación (DDG) hasta los 51 DDG; a los 30 días se realizaron las evaluaciones del crecimiento en el semillero temporal, evaluándose 10 plantas según los tratamientos en estudio (Tabla 5) a través de un diseño completamente aleatorizado.

Tabla S. Tratamientos para evaluar el efecto de la coinoculación en el crecimiento de las plántulas

No	Tratamientos
1	<i>Azospirillum brasilense</i> + 30 kg N.ha ⁻¹
2	<i>Glomus clarum</i> + 30 kg N.ha ⁻¹
3	<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Glomus clarum</i> + 30 kg N.ha ⁻¹
4	Testigo de producción (30 kg N.ha ⁻¹)

3.4.2.2. Efectividad de la coinoculación *G. clarum* + *A. brasilense* y diferentes dosis de fertilización nitrogenada en plantación de tomate en período temprano y óptimo.

A partir de la selección de las especies más eficientes de *Glomus* sp y *Azospirillum* sp realizada en los experimentos anteriores, se condujeron dos experimentos: uno en el período temprano de 1998 y 1999 en asociación de cultivos (A) y uno en los años 1997 y 1998 en unicultivo (B). Tabla 6 (A y B).

Tabla 6. Tratamientos evaluados para estudiar el efecto de la coinoculación HMA - RPCV.

(A) Período temprano (Policultivo)		(B) Período óptimo (Unicultivo)	
No.	Tratamientos	No	Tratamientos
1	Testigo Absoluto (asociación, sin fertilizante mineral y sin inoculación)	1	Testigo Absoluto (sin fertilizante mineral y sin inoculación)
2	Asociación (<i>A. brasilense</i> + 120 kg N.ha ⁻¹)	2	<i>Azospirillum brasilense</i> + 120 kg N.ha ⁻¹
3	Asociación (<i>G. clarum</i>) + 120 kg N.ha ⁻¹)	3	<i>Glomus clarum</i> + 120 kg N.ha ⁻¹
4	Asociación (<i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 120 kg N.ha ⁻¹)	4	<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Glomus clarum</i> + 60 kg N.ha ⁻¹
5	Asociación (<i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹)	5	<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Glomus clarum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹
6	Asociación (<i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 60 kg N.ha ⁻¹)	6	<i>Azospirillum brasilense</i> + <i>Glomus clarum</i> + 120 kg N.ha ⁻¹
7	Asociación (Testigo de producción- 150 kg N.ha ⁻¹)	7	Testigo de producción (150 kg N.ha ⁻¹)
8	Unicultivo de tomate (150 kg N.ha ⁻¹)		
9	Unicultivo de maíz (150 kg N.ha ⁻¹)		

El objetivo de estos experimentos, fue evaluar la eficiencia de la coinoculación de estos microorganismos, suplementados con diferentes dosis de fertilización nitrogenada

3.4.3. Influencia de los productos bioactivos Biostan y Biobras-16 en el cultivo del tomate coinoculado a partir de *G. clarum* + *A. brasilense* y con suplemento nitrogenado, en período óptimo y temprano.

Una vez conocida, la efectividad de la coinoculación y su complementación con la fertilización nitrogenada en los dos sistemas, se procedió a combinar la mejor variante con los productos bioactivos Biostan y Biobras-16, ambos aplicados en tres momentos: al inicio de la floración del cultivo (IF), en la etapa de floración - fructificación (F1-Fr) y en ambas etapas, tomándose las dosis y momentos de aplicación de acuerdo a los resultados obtenidos por Nuñez *et al.*, (1995) y Garcés (1999b). La investigación se condujo durante los años 1999 y 2000- en sistema de unicultivo (período óptimo). Tabla 7 (A y B) y en el 2000 y 2001 en sistema de policultivo (período temprano), tratamientos que se muestran en la Tabla 8

Tabla 7. Tratamientos evaluados en el período óptimo en sistema de unicultivo.

(A) "Biostan"		(B) "Biobras-16"	
No.	Tratamientos	No	Tratamientos
1	Testigo Absoluto (0 fertilizante mineral y no inoculación)	1	Testigo Absoluto (0 fertilizante mineral y no inoculación)
2	<i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	2	<i>A. brasilense</i> + <i>G. clarean</i> 90 kg N.ha ⁻¹
3	<i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹ + <u>Biostan (IF)</u>	3	<i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> 90 kg N.ha ⁻¹ + Biobras-16 (1 F)
4	<i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹ + Biostan (IF) + Biostan (FI-Fr)	4	<i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹ + Biobras-16 (IF) + Biobras-16 (FI-Fr)
5	<i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹ + Biostan (F1-Fr)	5	<i>A. brasilense</i> + <i>G. clorum</i> e + 90 kg N.ha ⁻¹ + Biobras-16 (FI-Fr)
6	Biostan (IF) + 90 kg N.ha ⁻¹	6	Biobras-16 (IF) + 90 kg N.ha ⁻¹
7	Biostan (F1-Fr) + 90 kg N.ha ⁻¹	7	Biobras-16 (FI-Fr) + 90 kg N.ha ⁻¹
8	Biostan (IF) y (FI-Fr) + 90 kg N.ha ⁻¹	8	Biobras-16 (IF) y (F1-Fr) + 90 kg N.ha ⁻¹
9	Testigo de producción (150 kg N.ha ⁻¹)	9	Testigo de producción (150 kg N.ha ⁻¹)

Tabla 8. Tratamientos evaluados en el período temprano en sistema de policultivo.

No.	Tratamientos
1	Unicultivo de tomate (150 kg N.ha-1)
2	Unicultivo de maíz (150 kg N.ha-1)
3	<u>Asociación maíz- tomate (<i>A. brasilense</i> + <i>G. claruum</i>) +90 kg N.ha-1)</u>
4	Asociación maíz- tomate (<i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i>) + 90 kg N.ha-1)+ Biostan (IF)
5	Asociación maíz- tomate (<i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i>) + 90 kg N.ha-1)+ Biobras-16 (IF)
6	Asociación maíz- tomate + 90 kg N.ha-1 + Biostan (IF)
7	Asociación maíz- tomate + 90 kg N.ha-1 + Biobras-16 (IF)
8	Asociación maíz- tomate + 150 kg N.ha-1 (Testigo de producción)

3.4.4. Contribución de microorganismos benéficos y productos bioactivos a la producción del cultivo, en ausencia de la fertilización mineral.

Con el objetivo de conocer el efecto de la coinoculación de los microorganismos estudiados, conjuntamente con la aplicación del Biostan, se procedió a evaluar su comportamiento en un sistema de producción en condiciones de organopónico (período óptimo del 2001), prescindiéndose totalmente de la fertilización mineral (**Tabla 9**).

Tabla 9. Tratamientos estudiados.

No.	Tratamientos
1	Plántulas coinoculadas + Biostan (IF)
2	Plántulas coinoculadas + Biostan (F1-Fr)
3	Plántulas coinoculadas + Biostan (IF) y (F1-Fr)
4	Testigo de producción (solo materia orgánica 3:1)

IF: Inicio de la floración
FL-Fr: Floración-Fructificación

Con la mejor variante, se procedió a su evaluación en campo abierto en sistema de cultivo asociado (2002) y unicultivo (2001 y 2002). Tabla 10 (A y B), como alternativa completamente ecológica is variantes testigos, una de producción con fertilizante mineral, acorde con las dosis recomendadas y la alternativa sin fertilizar (absolutamente libre de fertilizantes)

Tabla 10. Tratamientos estudiados como alternativa nutricional ecológica.

(A). Período óptimo (Unicultivo)

No.	Tratamientos
1	Testigo Absoluto (0 fertilizante mineral y sin inoculación)
2	Variante Convencional (150 kg N.ha ⁻¹)
3	Variante Ecológica (Plántulas a base de M.O + <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + aspersión de Biostan (IF) + Biostan (F1-11R) (Sin fertilización mineral)

Nota: M.O. = Materia Orgánica

(B). Período temprano (Policultivo)

No.	Tratamientos
1	Testigo Absoluto (0 fertilizante mineral y sin inoculación)
2	Tomate en asociación con maíz., Variante convencional (150 kg N.ha ⁻¹)
3	Tomate en asociación con maíz. Variante Ecológica (Plántulas a base de M.O. + <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + Biostan (IF) + Biostan (F1-Fr) (Sin fertilización mineral)

3.5. Evaluaciones realizadas durante el desarrollo de los experimentos.

1. **Análisis químico del suelo:** Los muestreos de suelos se realizaron al inicio de los experimentos con barrena edafológica. Las evaluaciones que a continuación se enumeran fueron realizadas siguiendo las técnicas descritas en el Manual de técnicas analíticas para el análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos (INCA, 1999)

Materia orgánica (%): por el método de Walkley y Black

pH (H₂O): por el método potenciométrico

P₂O₅ (ppm): mediante extracción con H₂SO₄ 0,1 N y determinación colorimétrica

K, Ca, y Mg intercambiables (cmol.kg⁻¹): mediante extracción con NH₄Ac 1 N a pH 7 y determinación de K por fotometría de llama y Ca y Mg por complexometría.

2. **Evaluaciones en las plantas:** se realizaron a los 30 días después de la germinación y en el trasplante en la etapa de floración - fructificación a una muestra de 20 plantas por tratamientos tonadas al azar, se le realizaron las siguientes evaluaciones:

Altura (cm): con regla graduada, se midió desde el cuello de la raíz hasta la axila de la hoja más joven. En el experimento en macetas se siguió una dinámica semanal hasta los 51 días posteriores a la germinación, realizándose el análisis por cada momento de evaluación.

Longitud radical (cm): con regla graduada, se midió la raíz principal del cultivo

Diámetro del tallo (cm): con un pie de rey, se midió a partir de dos centímetros del cuello de la raíz

Masa seca de las plantas (g), por pesada en balanza analítica y secado en estufa a 70 °C hasta masa constante.

Contenido de proteínas (mg.g⁻¹ masa fresca), según Bradford (1976)

Contenido de fenoles (mg.g⁻¹ masa fresca), según Morales y Pozo (1985) Se realizó en el momento del trasplante y 30 días después de este.

Contenidos de NPK foliar (%): por digestión húmeda con H₂SO₄ + Se, según método Kjeldahl y determinación colorimétrica con reactivo Nessler y azul de molibdeno para N y P respectivamente, y fotometría de llama para el K. Las muestras fueron tomadas en la fase de floración-fructificación del cultivo, entre el tercero y quinto par de hojas.

Número de flores y frutos por planta. En la etapa de floración - fructificación.

Fructificación: resultado de la división del número de frutos/planta entre el número de flores/planta expresada en por ciento.

Masa promedio de los frutos (g): resultado de dividir el peso total de los frutos entre la cantidad de frutos de la parcela.

Rendimiento agrícola (t.ha⁻¹): por pesada de la producción total del área de cálculo, extrapolada a 1 ha⁻¹

Incidencia de *Alternaria solani*: se realizó una evaluación a la semana del trasplante y otra un mes después de este. Se utilizó una escala de grados de 0 al 6 para medir el porcentaje de infección donde: grado 0: hojas sanas, grado 1: del 1-5% de la superficie total de la hoja dañada, grado 2: 6-10% de la superficie total de la hoja dañada, grado 3: del 11-25% de la superficie total de la hoja dañada. (Cuba, MINAGRI, 1987).

- 3. Evaluaciones en los frutos:** Con el objetivo de conocer la influencia de los productos en la calidad interna de los frutos, a una muestra de 15 frutos (en base a fruta fresca) por tratamientos tomados al azar se les hicieron las siguientes determinaciones, según métodos convencionales de laboratorio.

Contenido de nitratos ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de fruta fresca), por cromatografía gaseosa, según Noa *et al.*, 1990

Contenido de sólidos solubles (Brix %), por método refractométrico

Acidez (%), por valoración con NaOH 0,1 N, utilizando fenolftaleína como indicador.

- 4. Análisis microbiológicos:** Además de los análisis previos a la investigación, en el momento del trasplante (0), 30 y 60 días posteriores a este (DDT) y, realizándose el análisis en cada momento de evaluación, se tuvieron en cuenta los siguientes indicadores:

Colonización micorrízica (%): tomando muestras de raicillas de 10 plantas por tratamientos, aplicando la metodología descrita por Phyllips y Hayman (Herrera *et al.*, 1995).

Densidad visual, por el método de Trouvelot *et al.*, (1986)

Población bacteriana en la rizosfera del cultivo (ufc. g^{-1} suelo rizosférico): según los métodos descritos por Bashan *et al.*, (1996).

3.6. 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 los tratamientos, se utilizó como criterio discriminante la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan.

Los datos originales correspondientes a la variable colonización bacteriana (%) fueron transformados según la función $\log n$.

Fueron realizados análisis Biplot (Gabriel, 1971), utilizando como variables las evaluaciones realizadas durante la etapa de plantación del cultivo, con el objetivo de agrupar las que más contribuyen al rendimiento, teniendo en cuenta los dos años por experimento.

Se aplicó la prueba de "t" para comparar las medias poblacionales de los tratamientos entre sí en los experimentos de asociación de cultivos (Steell y Torrie, 1988).

3.7. Evaluación económica

La valoración económica de los resultados se realizó en pesos cubanos, según la metodología propuesta por la FAO (1980) sobre la base de considerar las tres variantes estudiadas a saber, la convencional (testigo que utiliza la fertilización mineral durante todo el ciclo del cultivo), la variante que hace uso de la combinación de los productos complementada con la fertilización mineral y la alternativa ecológica, que prescinde del uso de fertilizantes sintéticos. Los indicadores evaluados fueron los siguientes:

Valor de la producción ($\$.ha^{-1}$): resultado del rendimiento por el precio de una tonelada de fruto.

Costo de producción ($\$.ha^{-1}$): según los gastos incurridos en la producción de una hectárea

Beneficio ($\$.ha^{-1}$): resultado de la diferencia entre el valor de producción y el costo

Relación Beneficio / Costo: cociente obtenido de dividir el beneficio entre el costo de producción.

Para el cálculo de estos indicadores se utilizó como información básica los costos incurridos según los precios de los insumos y los costos para la producción de una tonelada de tomate:

Urea ($\$.t^{-1}$)	273,40 pesos
_Superfosfato triple($\$.t^{-1}$)	264,41 pesos
-Cloruro de Potasio($\$.t^{-1}$)	162,20 pesos
Tomate (t^{-1} de fruto)	286.00 pesos
500 g AzoFert*	5.00 pesos (Listado oficial del INCA, 2000)
kg EcoMic**	2.50 pesos (Listado oficial del INCA, 2000)
g Biostan	200.00 pesos (Listado oficial de la UNA FI)
1 L Biobras-16	200.00 pesos (Listado oficial de la UH)
Costo de una hectárea tomate en unicultivo....	3432.20 pesos (Cuba, MINAGRI, 2001)
Costo de una hectárea de tomate en policultivo.	3614.14 pesos (Cuba, MINAGRI, 2001)
Costo de 1 t de cachaza-----	20.00 pesos

*Biofertilizante a partir de bacterias del género *Azospirillum* sp

**Biofertilizante a partir de hongos MA del género *Glomus* sp

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Evaluación y selección de diferentes especies de HMA y RPCV en el cultivo del tomate (var. 'Amalia'), sembrado en período óptimo.

Para una mejor comprensión de los resultados y hacer la discusión con una secuencia armónica, de la evaluación y selección de las diferentes especies de HMA y RPCV en el cultivo del tomate, se procederá al análisis primero, de las diferentes especies de HMA y posteriormente, se realizará el análisis de las RPCV.

4.1.1. Evaluación y selección de diferentes especies de HMA . Influencia en el crecimiento, rendimiento y colonización en el cultivo del tomate.

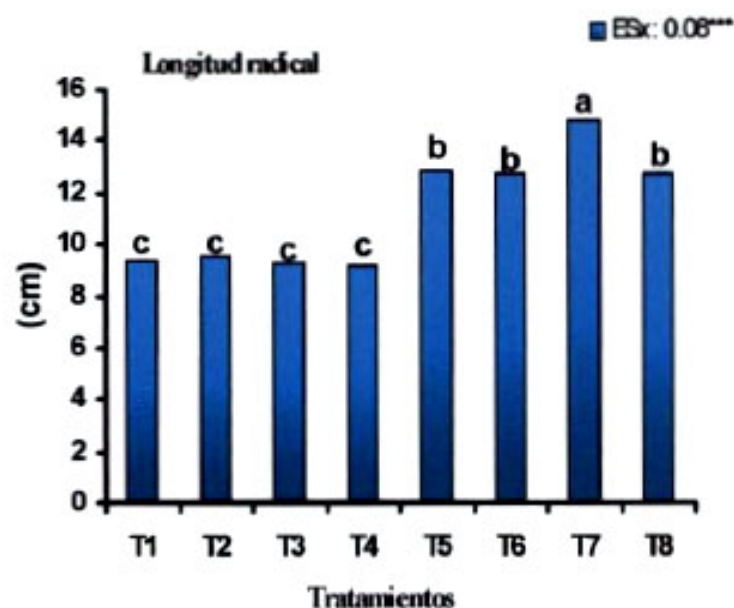
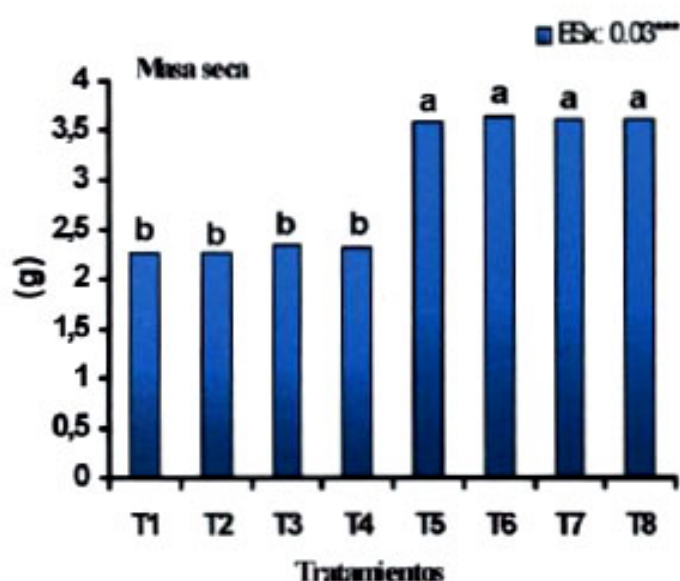
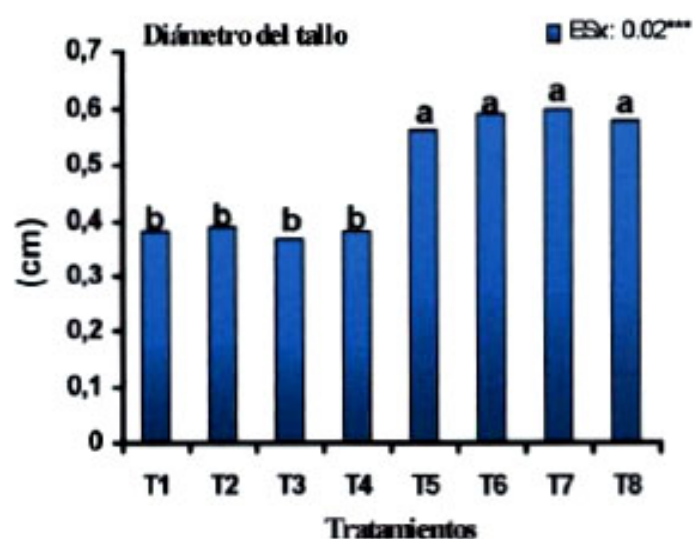
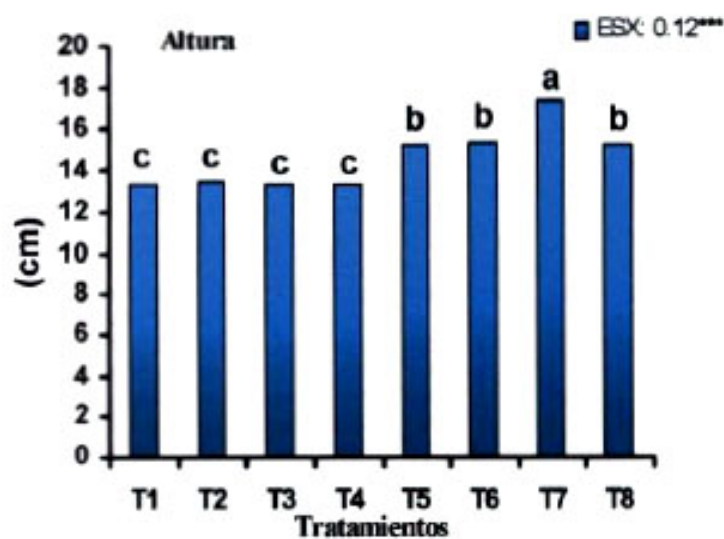
4.1.1.1. Efectos de diferentes especies de *Glomus* spp en el crecimiento de plántulas de tomate.

Los resultados obtenidos en esta investigación conducida durante dos años, como se aprecia en **las Figuras 2** (a y b), muestran los efectos de la inoculación con diferentes especies de *Glomus* spp sobre algunas variables del crecimiento referidas a la altura de las plántulas, diámetro del tallo, la masa seca por plántula y la longitud radical, evaluados en la primera etapa de su crecimiento, asumida para el trasplante a los 30 días después de la germinación, (Cuba, MINAGRI, 1984).

En cada una de las variables evaluadas, los tratamientos donde se realizó la inoculación de cualquiera de las especies de *Glomus* spp, complementadas con 30 kg N.ha-' en la siembra (T5-T6-T7) y donde sólo se aplicó la fertilización mineral (T8), no mostraron diferencias significativas entre ellas y presentaron valores acordes a lo establecido, dentro de los parámetros de calidad de las plántulas para ser trasplantadas (entre 15 y 18 cm de altura y longitud radical superior a 10 cm) según el Instructivo técnico del cultivo (Cuba, MINAGRI, 1984).

Se aprecia, que hasta ese momento, aún no se muestra una respuesta de las plántulas a la micorrización, al obtenerse resultados similares al testigo de producción, debiéndose el efecto encontrado a la fertilización nitrogenada aplicada en estos tratamientos. Sólo para las variables altura y longitud radical se observó una estimulación con la micorrización de la especie *Glomus clarum*.

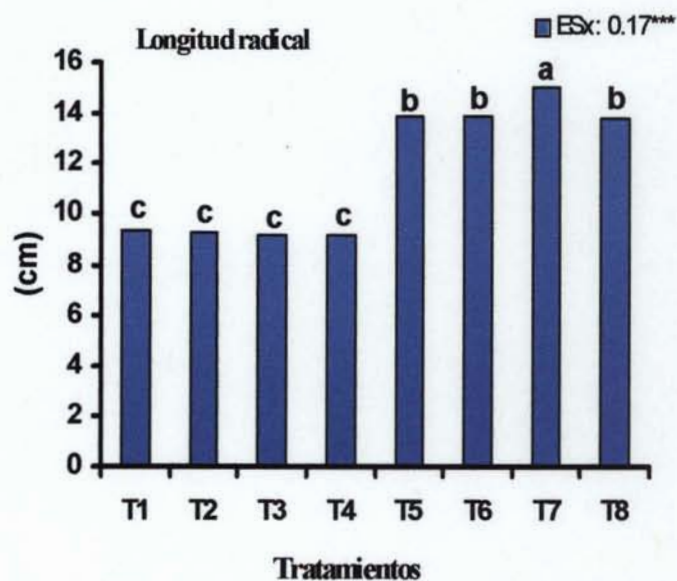
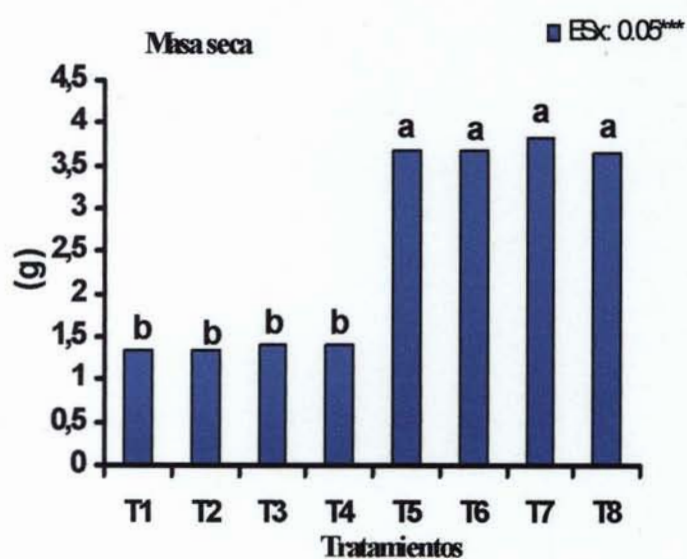
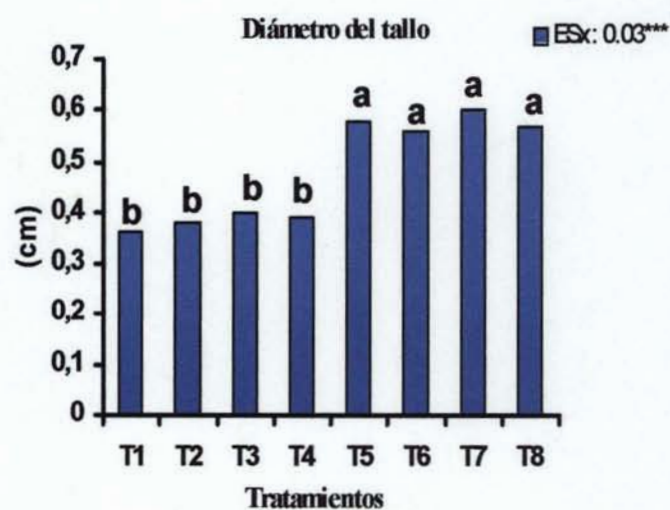
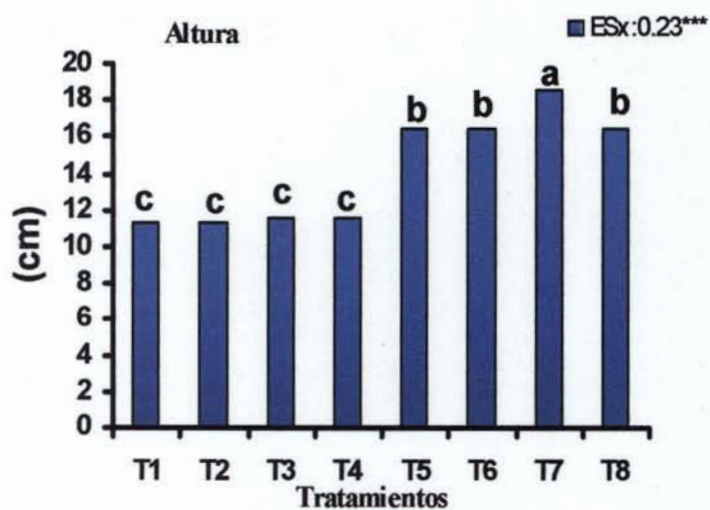
Para los restantes tratamientos, que recibieron la inoculación sin aplicación de la dosis de fertilizante mineral recomendada para esa etapa del cultivo (T2-T3-T4), no se lograron plántulas con adecuada calidad, los que a su vez tuvieron un comportamiento similar al testigo absoluto (TI); de esta forma, se evidencia como la fertilización nitrogenada se convierte en el factor limitante para la obtención de plántulas de tomate con adecuada calidad para el trasplante en el período de tiempo señalado.



T1. Testigo Absoluto T2. *Glomus mosseae* + 0 kg N/ha T3. *Glomus fasciculatum* + 0 kg N/ha
 T4. *Glomus clarum* + 0 kg N/ha T5. *Glomus mosseae* + 30 kg N/ha T6. *Glomus fasciculatum* + 30 kg N/ha
 T7. *Glomus clarum* + 30 kg N/ha T8. Testigo de Producción (30 kg N/ha)

Medias con letras comunes no difieren significativamente según Duncan para $p < 0.001$

Figura 2(a). Influencia de las especies de HMA en el crecimiento de las plántulas (1995).



T1. Testigo Absoluto T2. *Glomus mosseae* + 0 kg N/ha T3. *Glomus fasciculatum* + 0 kg N/ha
 T4. *Glomus clarum* + 0 kg N/ha T5. *Glomus mosseae* + 30 kg N/ha T6. *Glomus fasciculatum* + 30 kg
 N/ha T7. *Glomus clarum* + 30 kg N/ha T8. Testigo de Producción (30 kg N/ha)

Medias con letras comunes no difieren significativamente según Duncan para $p < 0.001$

Figura 2(b). Influencia de las especies de HMA en el crecimiento de las plántulas (1996).

Diferentes estudios realizados para conocer los efectos de la micorrización en el cultivo del tomate en la etapa de semillero, igualmente no han obtenido respuesta a la inoculación (Cuevas, 1998, Hernández, 2000 y Pulido, 2002), tomándose como justificación para este efecto el criterio expuesto por Dodd *et al.*, (1996), quienes han señalado que la simbiosis HMA - planta, atraviesa por una etapa parasítica inicial en la cual no hay intercambios de metabolitos hacia la planta, faltando el drenaje de carbono hacia el hongo, por lo cual ocurre una disminución en la velocidad de crecimiento del hospedero, para una etapa que se extiende por un período de duración de aproximadamente cuatro semanas dependiendo de los factores que afectan la interacción hongo - planta.

El comportamiento específico encontrado a favor de la altura y longitud radical, pudiera estar relacionado con lo señalado por Vega *et al.*, (2000), al indicar que las especies de HMA en particular, responden de forma diferente, debido a que durante el establecimiento de la micorrización, lo primero que se produce es una respuesta defensiva por parte de la planta, la cual es de carácter transitorio, por lo que el tiempo requerido entre especies de micorrizas para lograr establecer la simbiosis varía, y por consiguiente también la manifestación de sus efectos benéficos.

La información discutida, es el resultado de la investigación realizada en el año 1995, siendo similar la respuesta obtenida en 1996, según se observa en la Figura 2 (b). Los criterios expuestos, indican que resultaría riesgoso escoger la fase de semillero como criterio de selección de cepas efectivas, todo lo cual supone, que este proceso podría ser evaluado con mayor eficiencia y precisión, durante la etapa de plantación del cultivo.

4.1.1.2. Influencia de las especies de *Glomus* spp, en el rendimiento agrícola y algunos de sus componentes.

Resulta obvio, que la efectividad micorrízica sobre el crecimiento o el rendimiento de un cultivo, es el resultado de la interacción fisiológica entre los simbioses (funcionamiento micorrízico), bajo determinadas condiciones ambientales (Rivera *et al.*, 2003). De esta manera, la influencia que tienen los tratamientos en estudio en el rendimiento agrícola y algunos de sus principales componentes, puede observarse en la Tabla 11.

Se presentaron diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) para cada uno de los componentes del rendimiento, alcanzándose sus más altos valores en los tratamientos donde se inoculó la especie *G. clarlan* combinada con 120 kg N.ha⁻¹ (TIO) y el tratamiento testigo de producción, correspondiente a sólo la aplicación de 150 kg N.ha⁻¹ (TI 1), dosis que se recomienda en el Instructivo Técnico del cultivo (Cuba, MINAGRI, 1984).

Tabla 11. Efectos de las especies de HMA en el rendimiento agrícola y sus componentes.

Tratamientos	Flores /planta No		Frutos /planta No.		Fructificación %	
	1995	1996	1995	1996	1995	1996
1. Testigo Absoluto (sin fertilizar)	3.83 h	3.92 f	2.61 f	2.81 e	68	71
2. <i>G. mosseae</i> + 0 kg N.ha ⁻¹	5.39 f	5.79 de	3.52 f	3.57 e	65	62
3. <i>G. fasciculatum</i> + 0 kg N.ha ⁻¹	4.63 g	4.70 f	3.37 f	3.33 e	73	71
4. <i>G. clarum</i> + 0 kg N.ha ⁻¹	4.69 g	4.88 ef	3.54 f	3.48 e	75	71
5. <i>G. mosseae</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	11.40 d	10.56 c	7.47 d	8.50 c	65	80
6. <i>G. fasciculatum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	12.32 c	10.64 c	7.55 d	8.44 c	61	79
7. <i>G. clarum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	11.83 cd	10.75 c	9.64 c	8.60 c	81	80
8. <i>G. inosaeae</i> + 120 kg N.ha ⁻¹	13.89 b	12.42 b	12.39 b	10.62 b	89	85
9. <i>G. fasciculatum</i> + 120 kg N.ha ⁻¹	14.23 b	12.64 b	12.42 b	11.55 b	87	91
10. <i>G. clarum</i> + 120 kg N.ha ⁻¹	17.13 a	16.60 a	15.52 a	14.72 a	90	89
11. T. de Producción (150 kg N.ha ⁻¹)	17.11 a	17.31 a	15.40 a	13.57 a	90	78
12. 90 kg N.ha ⁻¹	7.42 e	6.69 d	5.47 e	5.48 d	74	81
13. 120 kg N.ha ⁻¹	11.83 cd	10.52 c	8.62 cd	8.38 c	73	80
ES x	0.24***	0.35***	0.38***	0.40***	----	----
Tratamientos	Masa Promedio/fruto		Rendimiento (t.ha ⁻¹)			
	1995	1996	1995	1996		
1. Testigo Absoluto(sin fertilizar)	64.41 g	60.55 g	3.81 j	3.90 g		
2. <i>G. mosseae</i> + 0 N.ha ⁻¹	68.42 e	69.38 f	5.74 i	5.73 f		
3. <i>G. fasciculatum</i> + 0 N.ha ⁻¹	66.36 f	68.43 f	5.81 i	5.38 fg		
4. <i>G. clarum</i> + 0 N.ha ⁻¹	68.05 e	70.44 f	5.08 j	5.22 fg		
5. <i>G. mosseae</i> + 90 N.ha ⁻¹	78.56 c	75.47 e	13.32 g	14.88 d		
6. <i>G. fasciculatum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	77.61 cd	78.45 d	14.52 f	15.35 d		
7. <i>G. clarum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	77.63 cd	81.50 c	18.02 d	16.37 d		
8. <i>G. mosseae</i> + 120 kg N.ha ⁻¹	87.44 b	90.41 a	24.65 c	22.68 c		
9. <i>G. fasciculatum</i> . + 120 kg N.ha ⁻¹	90.54 a	91.59 a	26.63 b	25.03 b		
10. <i>G. clarum</i> + 120 kg N. ha ⁻¹	88.58 b	80.42 c	29.44 a	28.06 a		
11. T. de Producción. (150 kg N.ha ⁻¹)	78.73 c	88.43 b	29.26 a	28.32 a		
12. 90 kg N.ha ⁻¹	76.54 d	81.47 c	10.01 h	10.27 e		
13. 120 kg N.ha ⁻¹	78.62 c	78.39 d	15.52 e	15.20 d		
ES x	0.44***	0.44***	0.32***	0.50***		

Medias con letras comunes no difieren significativamente, según Duncan para $p < 0.001$

Tanto en el año 1995 como en el año 1996, se obtuvieron resultados similares para ambos tratamientos, observándose una influencia positiva en el porcentaje de fructificación, lo cual estuvo estrechamente relacionado con el mayor número de flores y frutos por planta, donde se alcanzan valores entre un 89 y 90% de cuajado de los frutos, cifra esta igual o superior a la obtenida en el testigo de producción, que estuvo alrededor de un 78 - 90%, lo que le confiere un efecto positivo en el rendimiento agrícola.

Estos resultados evidencian, la eficiencia de la especie *G. clarum* en su papel facilitador de nutrientes a las plantas que finalmente propician altos niveles de rendimiento agrícola, al obtenerse valores de 29,44 y 28.06 t.ha⁻¹ en 1995 y 1996 respectivamente, con la consiguiente disminución de 30 kg N.ha⁻¹, lo que representa una eficiencia del 20% del fertilizante nitrogenado que se le aplica al cultivo en condiciones de producción; por lo que la dosis de nitrógeno aplicada, propició una adecuada eficiencia de esta especie en el cultivo, poniéndose de manifiesto en este sentido, el incremento del coeficiente de aprovechamiento de los nutrientes por las plantas micorrizadas. Por otra parte, el rendimiento se incrementa en alrededor de 13-14 t.ha⁻¹ (84-89%), en las plantas micorrizadas y suplementadas con 120 kg N.ha⁻¹ con respecto al testigo fertilizado con solo 120 kg N.ha⁻¹, el resultado fue similar en los dos años de investigación.

El resultado obtenido al inocularse *G. fasciculatum* + 120 kg N.ha⁻¹, (T9), también propició un efecto positivo a partir de una mayor masa promedio por fruto así como en el porcentaje de fructificación de las plantas, alcanzando valores entre 87% y 91% en los años 1995 y 1996 respectivamente, por lo que esta especie debe ser también considerada como una alternativa potencial a considerar en el manejo de la nutrición de esta variedad.

De esta manera, se demuestra la especificidad de las especies de HMA y que la inoculación con cepas eficientes propicia una disminución de las dosis de fertilizantes minerales. No obstante, con el resultado obtenido en los tratamientos 2, 3 y 4, se evidencia la necesidad del suministro adicional de nutrientes para lograr una respuesta positiva a la inoculación, que permita garantizar rendimientos aceptables en plantas micorrizadas, aún cuando se utilicen especies de HMA de alta efectividad, tal y como ha señalado Azcón (2000) y Rivera (2000). El bajo rendimiento alcanzado por el testigo absoluto y las inoculaciones sin suplemento de nitrógeno, corroboran la importancia de este macronutriente, que al comportarse como factor limitante para el desarrollo del cultivo, afectó el número de flores y frutos por planta, lo cual provocó una baja fructificación y por consiguiente, una severa afectación en el rendimiento agrícola, al parecer influido también por los bajos niveles de materia orgánica en el suelo donde se desarrollaron los experimentos (Anexo 1), lo que no le permitió a las plantas una nutrición adecuada.

Ya Ruiz (2001), había indicado que en plantas de raíces y tubérculos las distintas especies de HMA variaban en su respuesta a la fertilización; en este caso, las dosis de fertilizantes

nitrogenados aplicados, permitieron que se lograra una adecuada simbiosis planta - hongo micorrizógeno, lo que se manifestó en el rendimiento obtenido.

En general estos resultados concuerdan con los obtenidos por Cuevas, (1998), al inocular HMA en el cultivo del tomate (variedad "Campbell-28") en un suelo Hidromórfico Gley nodular ferruginoso, logrando disminuir la dosis del fertilizante nitrogenado, con la inoculación de la especie *G. fasciculatum* lo que evidencia también las potencialidades de eficiencia de esta especie, así como la posible especificidad de las especies frente al tipo de suelo empleado.

La información hasta aquí descrita, permite confirmar que *G. clarum*, fue la especie que aportó los mejores resultados en todos los indicadores del rendimiento, seguida por la inoculación con *G. fasciculatum*, que tuvo un efecto positivo en el porcentaje de fructificación y en la masa promedio de los frutos. La selección de la especie *G. clarum* para dar continuidad a las investigaciones estuvo basada en estos resultados, lo cual está en correspondencia con las recomendaciones realizadas por Rivera et al., (2003), quienes han recomendado ambas especies de HMA para este tipo de suelo, basado en investigaciones precedentes a estos resultados.

4.1.1.3. Evaluación de diferentes especies de *Glomus* spp en la rizosfera del cultivo.

El grado de predominio de una especie de microorganismo en las raíces de una planta está dado por el grado de interacción planta - microorganismo, lo cual repercute en la selección y predominio del microorganismo en función de la variabilidad de los exudados radicales de las plantas inoculadas (Azcón, 2000). Con la finalidad de obtener una respuesta en función del efecto agrobiológico obtenido por la influencia de la inoculación de las especies de HMA sobre el crecimiento, desarrollo y posterior rendimiento del cultivo del tomate, se llevó a cabo el análisis del nivel poblacional del microorganismo a los 0, 30 y 60 días después del trasplante (DDT), correspondiente al porcentaje de colonización y la densidad visual para cada año en estudio (**Figura 3**), pudiendo apreciarse que en sentido general, se presentaron diferencias altamente significativas entre los tratamientos en cada momento de realizada la evaluación, siendo superiores los niveles de colonización en la rizosfera del cultivo inoculado artificialmente, respecto a la micorriza nativa (T 1 , T 11, T12, T13), para la especie *Glomus clarum* (T 10) se presentaron los valores más altos en cada indicador evaluado.

El porcentaje de colonización de las plántulas en el momento del trasplante (0 DDT), no arrojó diferencias significativas entre las especies inoculadas y suplementadas con la fertilización mineral (tratamientos 5,6,7,8,9,10), alcanzándose alrededor de un 20% de colonización rizosférica.