

**Figura 8. Influencia de la coinoculación en el crecimiento de las plántulas.**  
Medias con letras comunes no difieren significativamente para  $p < 0.001$

Tabla 13. Incrementos de las variables de crecimiento de las plántulas coinoculadas con respecto a la inoculación simple.

Variables	Coinoculación vs <i>A. brasilense</i>	Coinoculación vs <i>G. clarum</i>
Altura (cm)	12%	18
Diámetro del tallo (cm)	10%	22-25
Longitud radical (cm)	13%	24-29
Masa seca/planta (g)	18-26%	71-76

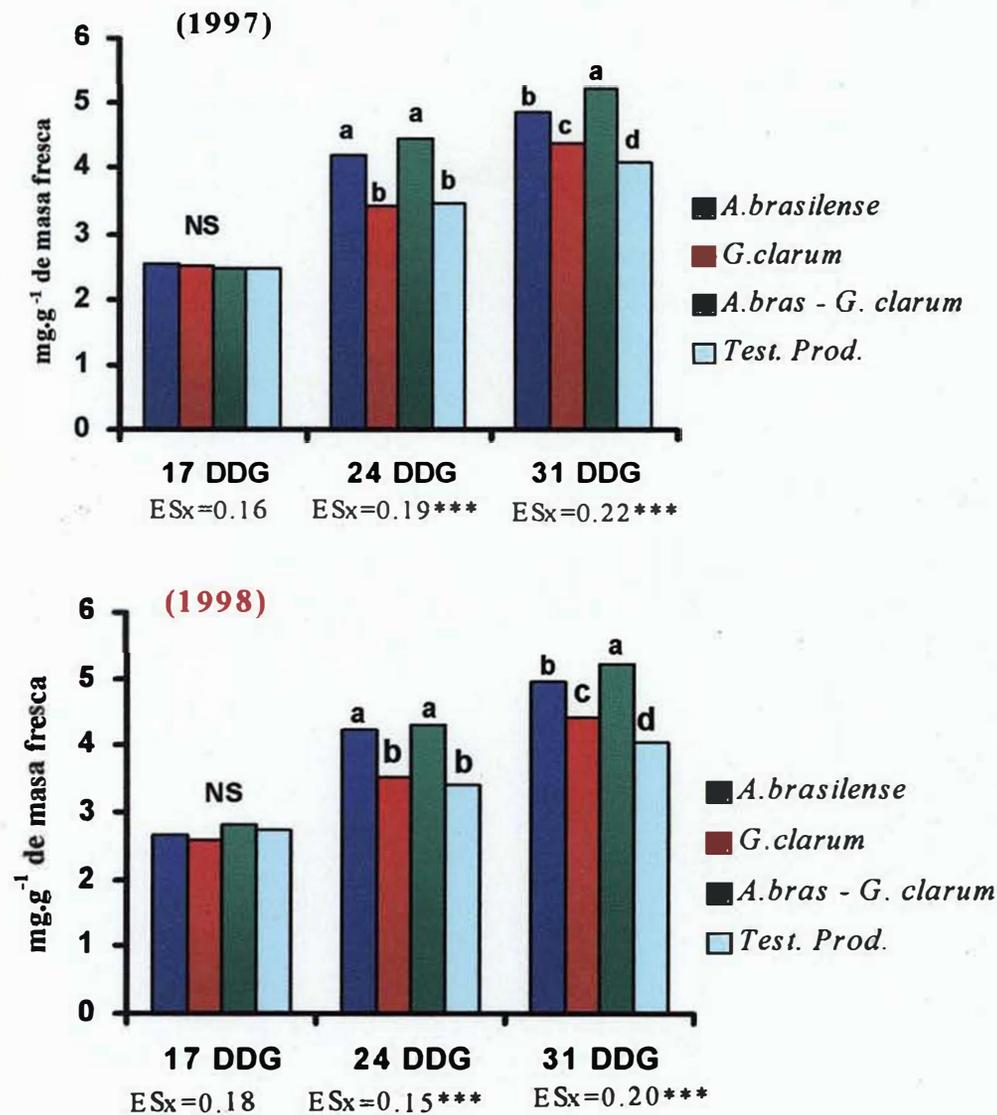
En la literatura consultada, se recogen algunos trabajos que avalan la potenciación de los efectos individuales de los microorganismos cuando son inoculados de conjunto. Así, pudiera citarse el uso de *Azotobacteriruceas* y *Endogene* sp en trigo, obteniéndose con esta combinación mayor altura, y masa aérea y radicular de las plantas (Iglesias *et al.*, 2000). También Molla *et al.* (2001) en el cultivo de la soya, obtuvieron buen crecimiento radical e incrementos en el número de nódulos a partir de la combinación de *Azospirillum* y *Bradyrhizobium*. En el caso específico del cultivo del tomate, se han realizado trabajos donde se ha combinado *Azotobacter*+*Pseudomonas* (Martínez *et al.*, 2002) y *Azotobacter* + *G. fasciculatum* (Pulido, 2002), con información comprobada que favorecen su utilización; por lo que, estos resultados constituyen un nuevo aporte al conocimiento (le la coinoculación en el cultivo del tomate).

En la inoculación mixta HMA+RPCV, sin embargo, tiene mucho que ver el aporte de sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal que brindan las rizobacterias, lo que hace que en etapas tempranas del crecimiento de las plantas de tomate, se presente un efecto de la inoculación y no así en el caso de los HMA, los cuales como se expresó anteriormente, por la existencia de una etapa inicial parasítica. provoca que los efectos benéficos sean observados con mayor precisión en la fase de plantación.

Otro aspecto importante a tomar en consideración al evaluar el crecimiento de las plántulas de tomate, y que se encuentra en estrecha relación con el nivel nutricional de las mismas, es el contenido de proteínas foliares presentes en las plantas, si se toma en cuenta que una de las funciones fundamentales de los microorganismos inoculados, es estimular el desarrollo radical de las plantas lo que posibilita una mayor exploración del sistema radical para una mejor absorción de nutrientes. Tomando en consideración este criterio, **en la Figura 9** se muestra el contenido de proteínas solubles totales en las hojas, en los cuatro tratamientos evaluados en los dos años de investigación, a los 17, 24 y 31 días después de la germinación de las semillas.

Como se aprecia, en la primera evaluación, a los 17 días después de la germinación, no existieron diferencias significativas entre los tratamientos, no encontrarse aún un efecto en la absorción de los nutrientes; sin embargo, en la evaluación realizada a los 24 días posteriores a la

germinación, comienzan a diferenciarse los tratamientos entre sí, siendo mayores los contenidos de proteínas en las plantas inoculadas con *A. brasilense* y las coinoculadas con *A. brasilense* + *G. clarum*. El menor contenido de proteínas encontrado en las plantas inoculadas sólo con *G. clarum*, permite inferir que en la coinoculación primó el efecto de *A. brasilense*, la cual estimuló la biosíntesis de estas sustancias en las plantas.



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

Figura 9 . Efectos de la coinoculación en el contenido de proteínas solubles totales.

El comportamiento de los tratamientos en la última evaluación a los 31 días después de la germinación, evidenció un mayor contenido de proteínas en las hojas de las plantas que se encontraban coinoculadas con respecto a las de los restantes tratamientos.

Este resultado permite confirmar, que a diferencia de la evaluación realizada a los 24 días, ya a los 31 días, la coinoculación potencia el contenido de proteínas solubles totales en las plantas, donde se suma la acción del hongo todo lo cual pudiera estar relacionado con la culminación de la etapa parasítica, ya que según Dodd *et al.*, (1996) este proceso puede durar alrededor de cuatro semanas dependiendo de la especie y de la planta hospedera.

En sentido general, se evidenció una respuesta de las plantas a la inoculación en cuanto al contenido foliar de proteínas solubles totales, lo que le permite tener una mayor actividad metabólica a partir de un mejor estado nutricional, siendo superior el contenido de nitrógeno foliar, lo que se traduce en plantas con mayor vigor tal y como se muestra en los resultados de las evaluaciones de crecimiento, donde cada una de las variables evaluadas se vieron favorecidas con la inoculación de los microorganismos con respecto al tratamiento testigo.

Incrementos en el contenido de proteínas solubles totales en el cultivo del arroz, fueron obtenidos en aquellas plantas que se encontraban inoculadas con diferentes cepas de *Azospirillum* (Pazos 2000), estas plantas también mostraron mayor altura con respecto a los testigos.

En estudios realizados por Owen y Jones (2001), se ha comprobado que los microorganismos productores de fitohormonas son capaces de alterar la síntesis de ARN y proteínas en plantas como respuesta a la acción microbiológica, provocando alteraciones enzimáticas, estando estos a su vez, directamente relacionados con el crecimiento y desarrollo de los cultivos. Por tanto, los resultados hasta aquí presentados, muestran la efectividad de la inoculación mixta *Azospirillum brasilense* + *Glomus clarum*, como relación simbiótica mutualista, capaz de potenciar los efectos individuales de cada microorganismo a partir del efecto ejercido sobre las diferentes variables de crecimiento y en el contenido de proteínas foliares de las plantas coinoculadas.

#### **4.2.2. Efectividad de la coinoculación *G. clarum* + *A. brasilense* en plantación de tomate en período temprano y óptimo.**

Quedó demostrado, la superioridad de la inoculación mixta *G. clarum* + *A. brasilense* en el estímulo de las diferentes variables de crecimiento evaluadas, donde se potencia la acción individual de cada microorganismo a partir del incremento de sus efectos.

En este acápite, se discutirán los resultados obtenidos con la coinoculación y su complementación con diferentes dosis de fertilización nitrogenada, en dos sistemas de producción del cultivo: asociación (período temprano) donde no existe información sobre el manejo de la

nutrición en este sistema tomate - maíz, por lo que estos constituirán los primeros resultados en esta temática, y el otro sistema de monocultivo (período óptimo), evaluándose la influencia de los tratamientos en el estado nutricional de las plantas y en el rendimiento agrícola y algunos de sus componentes en la etapa de plantación del cultivo.

#### 4.2.2.1. **Influencia de la coinoculación en el estado nutricional de las plantas.**

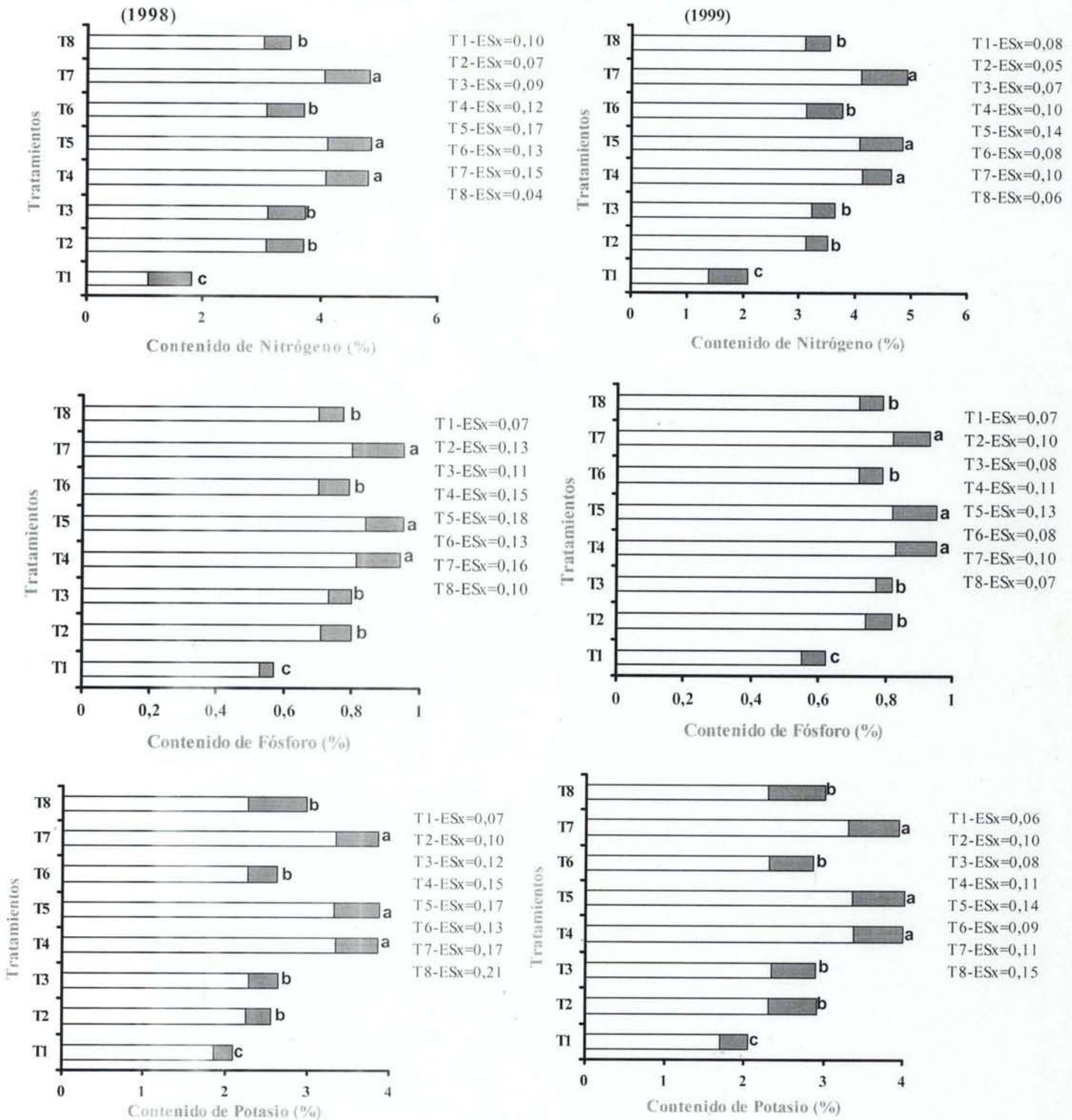
##### 4.2.2.1.1. **Resultados obtenidos en el período temprano.**

La Figura 10, muestra los contenidos foliares de nitrógeno, fósforo y potasio en el cultivo del tomate, sembrado en período temprano en un sistema de asociación de cultivos, obteniéndose diferencias altamente significativas ( $p < 0.001$ ) en cada macroelemento evaluado para los dos años en que se realizó el estudio.

Los contenidos de estos elementos fueron superiores en los tratamientos donde el tomate se encontraba asociado al cultivo del maíz. No se presentaron diferencias estadísticas entre las plantas coinoculadas y suplementadas con 120 ó 90 kg N.ha<sup>-1</sup> (T4 y T5), con el testigo de producción que recibió la fertilización de 150 kg N.ha<sup>-1</sup> (T7).

A su vez, las plantas que recibieron la coinoculación complementada con 60 kg N.ha<sup>-1</sup> (T6) no alcanzaron un adecuado estado nutricional, lo que evidencia que esta dosis de nitrógeno no fue suficiente para la nutrición del cultivo. La ausencia de diferencias entre la aplicación de 120 ó 90 kg N.ha<sup>-1</sup> permite decidir por la opción más económica, es decir la utilización de 90 kg de nitrógeno, con la cual se logran contenidos de NPK acordes con las necesidades del cultivo y favorece a la vez, la protección de los recursos naturales, al disminuirse el lavado de los nutrientes a través del perfil del suelo, evitándose así, la contaminación de las aguas subterráneas.

La coinoculación más 90 kg N.ha<sup>-1</sup>, superó a la inoculación simple con *A. brasilense* en el contenido de nitrógeno entre un 0.95-1.04%, el contenido de fósforo entre el 0.08-0.13% y el de potasio entre el 1.05-1.08%. La inoculación simple de *G. clarum* fue superada entre un 0.86-1.00% en el contenido de nitrógeno, un 0.05-0.11% en el contenido de fósforo y entre un 1.02-1.04% en el contenido de potasio, lo que demuestra la relación mutualista que existe entre ambos, cuando son inoculados conjuntamente. Al respecto, Minerdi *et al.*, (2001) encontraron bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el interior de las esporas del género *Gigaspora* y más recientemente en Cuba, en la especie *Glomus clarum* (Mirabal *et al.*, 2003).



T1. Testigo absoluto, T2. Asoc. (*A. brasilense* + 120 kg N/ha), T3. Asoc. (*G. clarum* + 120 kg N/ha, T4. Asoc. (*A. brasilense-G. clarum* + 120 kg N/ha, T5. Asoc. (*A. brasilense-G. clarum* + 90 kg N/ha, T6. Asoc. (*A. brasilense-G. clarum* + 60 kg N/ha, T7. Asoc. (150 kg N/ha), T8. unicultivo (150 kg N/ha)

Figura 10. Influencia en el contenido de NPK foliar de las plantas (zona sombreada es el intervalo de confianza).

#### 4.2.2.1.2. Resultados obtenidos en el período óptimo.

El análisis del contenido foliar de NPK en el experimento desarrollado en el período óptimo en sistema de unicultivo (Tabla 14), arrojó diferencias significativas entre los tratamientos estudiados. Se denota, la no existencia de diferencias estadísticas entre los tratamientos coinoculados y complementados con 90 y 120 kg N.ha<sup>-1</sup> (T5 y T6) y el testigo de producción (T7).

Tabla 14. Influencia de la coinoculación en el contenido de NPK foliar en plantas de tomate en sistema de unicultivo (período óptimo).

Tratamientos	Contenido N (%)		Contenido P(%)		Contenido K(%)	
	1997	1998	1997	1998	1997	1998
1. Testigo Absoluto (sin fertilizar)	1.41 c	1.37 c	0.56 d	0.53 c	1.91 c	1.87 c
2. <i>A. brasilense</i> +120 kg N.ha <sup>-1</sup>	4.07 b	4.10 b	0.87 c	0.87 b	4.38 b	4.42 b
3. <i>G. clarum</i> +120 kg N.ha <sup>-1</sup>	4.11 b	4.13 b	0.89 bc	0.89 b	4.41 b	4.46 b
4. <i>A. brasilense</i> - <i>G. clarum</i> + 60 kg Nha <sup>-1</sup>	4.09 b	4.11 b	0.88 c	0.86 b	4.36 b	4.44 b
5. <i>A. brasilense</i> <i>G. clarum</i> + 90 kg Nha <sup>-1</sup>	4.77 a	4.81 a	0.95 ab	0.96 a	5.27 a	5.31 a
6. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> +120kg N.ha <sup>-1</sup>	4.81 a	4.86 a	0.96 a	0.99 a	5.32 a	5.37 a
7. Testigo de Producción (150 kg N.ha <sup>-1</sup> )	4.73 a	4.79 a	0.94 ab	0.95 a	5.21 a	5.29 a
ES x	0.09***	0.07***	0.02***	0.02***	0.07***	0.09***

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

En este caso, el tratamiento coinoculado y suplementado con 90 kg N.ha<sup>-1</sup> (T5), permitió incrementar el contenido de nitrógeno entre un 0.66-0.7%, el de fósforo entre un 0.06-0.09% y el contenido de potasio en un 0.85 -0.89% con respecto a las inoculaciones simples de *A. brasilense* y *G. clarum*; de aquí que se logre una eficiencia equivalente al 40% del fertilizante nitrogenado con la inoculación mixta de ambos microorganismos, lo que permite que las plantas tengan un balance nutricional adecuado para su normal desarrollo. En este resultado además se evidencia la necesidad de un óptimo de nutrientes en el suelo que permita potencialmente la absorción de estos elementos para un adecuado balance nutricional.

#### 4.2.2.1.3. Evaluación general de la influencia de la coinoculación en el estado nutricional de las plantas en ambos períodos de siembra.

En las determinaciones realizadas en ambos períodos de siembra, se obtuvo que la mayor absorción de nutrientes se alcanzó en los experimentos desarrollados en el período óptimo bajo el sistema de unicultivo; el resultado de los experimentos bajo asociación de cultivos donde fue inferior la absorción de NPK foliar, pudo deberse a la presencia de dos cultivos cohabitando dentro del sistema, absorbiendo de la misma manera los nutrientes presentes en el suelo y los aportados con la fertilización mineral; no obstante, se observa la complementación entre ambos

cultivos (tomate - maíz) al no afectarse el estado nutricional del tomate que es dentro del sistema, el cultivo principal. Sobre este tema, no hay estudios específicos, siendo estos los primeros donde se evidencia la necesidad de desarrollar investigaciones, donde se pueda precisar con mayor claridad, las relaciones en el policultivo respecto a la absorción de nutrientes; sólo Vandermeer, (1995) hace referencia a la complementación fisiológica que se da entre dos cultivos con patrones de raíces complementarios en la absorción de los nutrientes disponibles

Por otra parte, al comparar los contenidos de nutrientes NPK en el tratamiento en unicultivo (T8) del experimento en período temprano, con el tratamiento homólogo en el experimento del período óptimo (T7), se evidencia como las condiciones de estrés ambiental bajo las cuales se desarrolla el cultivo en el período temprano, impide que fisiológicamente las plantas puedan realizar una mayor absorción de los nutrientes aportados.

A pesar de las diferencias existentes en cuanto a los contenidos foliares de cada nutriente en ambos períodos de siembra, puede plantearse que los valores de NPK obtenidos están de acuerdo a los publicados por Bennett (1996) para el cultivo del tomate en condiciones de campo abierto, donde estima rangos de 3.0 - 5.0% de nitrógeno, 0.70 - 1.30% de fósforo y 2.16- 6% de potasio.

Los resultados de coinoculación están basados en el hecho de que las relaciones mutualista que se establecen entre micorrizas y bacterias promotoras del crecimiento vegetal, están dadas, en que por un lado las bacterias ponen a disposición el nitrógeno atmosférico fijado y las micorrizas incrementan la absorción de otros elementos, entre los que se encuentra el fósforo, muy importante para garantizar una adecuada fijación del nitrógeno y crecimiento de las plantas (Rivera *et al.*, 2003). Por otra parte, entre las causas que pueden motivar la relación mutualista entre las micorrizas y las rizobacterias, está el mejoramiento de la nutrición fosfórica por parte de las micorrizas, la que fortalece el elevado consumo de energía que conlleva la fijación biológica del nitrógeno (Ojeda, 1998).

También se plantea en la literatura, que la coinoculación hongo MA- *Azospirillum* sp, es un ejemplo de interacción benéfica, ya que la colonización de las raíces por los hongos, estimula el flujo de carbohidratos desde el follaje hasta la raíz, estos carbohidratos pueden constituir fuentes de carbono para el crecimiento de la bacteria (Costacurta, 1995) citado por Pulido (2002).

Refiriéndose al incremento del contenido de nitrógeno en plantas inoculadas con *Azospirillum* sp, Sang (1984) citado por Parra y Cuevas (2002), plantean que el incremento en la actividad nitrogenasa de raíces inoculadas, constituye una evidencia de que esta fijación biológica puede contribuir al balance del nitrógeno de las plantas, pues se ha reflejado que la actividad de esta enzima, es de magnitud suficiente para explicar este incremento si todo el nitrógeno fijado es incorporado a la planta.

Los resultados hasta aquí expuestos pueden constituir un aporte al estudio de la relación simbiótica HMA - bacterias asociativas - hortalizas, como una vía para mantener un adecuado estado nutricional de las plantas (tomate) con menor aplicación de fertilizante mineral, siendo un mecanismo eficiente para el manejo de la nutrición del cultivo en cualesquiera de los sistemas de producción estudiados.

#### **4.2.3. Influencia de la coinoculación en el rendimiento agrícola y sus componentes.**

##### **4.2.3.1. Resultados obtenidos en el período temprano.**

En la Figura 11 (a y b) correspondientes al sistema de asociación de cultivos, se muestran los resultados obtenidos a partir de la influencia de los tratamientos en el rendimiento agrícola y algunos de sus componentes en el cultivo del tomate.

Al analizar el comportamiento en este período (1998 y 1999), donde la producción de tomate en Cuba se realiza en condiciones adversas, producto de las condiciones climáticas no favorables para el normal desarrollo del cultivo, se aprecia que los mejores resultados para el rendimiento y los componentes evaluados, se obtuvieron en los tratamientos donde se realizó la coinoculación complementada con 120 ó 90 kg N.ha<sup>-1</sup> (T4 y T5) y el tratamiento de la norma técnica (T7), que recibió sólo la aplicación de 150 kg N.ha<sup>-1</sup>. Por otra parte, el tratamiento en unicultivo (T8), evidenció la acción estresante del clima lo que provocó que los rendimientos y sus componentes fueran inferiores al alcanzado en los tratamientos donde el tomate se encontraba asociado al cultivo del maíz.

La ausencia de diferencias estadísticas entre las dosis de 120 y 90 kg N.ha<sup>-1</sup>, permiten recomendar que con la menor dosis (90 kg N.ha<sup>-1</sup>) pueda sustituirse parcialmente la fertilización nitrogenada que requiere el cultivo en un 40%; además, la coinoculación complementada con esta dosis, permitió incrementar en un 0'50 el rendimiento obtenido con la inoculación simple de *A. brasilense* y de un 9-10% con respecto a la inoculación individual de *G. clarum*. Por otra parte, la asociación de cultivos como sistema, favoreció el rendimiento del cultivo a partir de una mayor floración y fructificación de las plantas, demostrándose que bajo este sistema, se logra un porcentaje de cuajado de los frutos por encima del 80% a diferencia del tratamiento en unicultivo, lo que corrobora lo señalado por Sam (1993), al referir que las altas temperaturas que prevalecen en este período, favorecen la formación de polen estéril y por tanto baja fructificación.

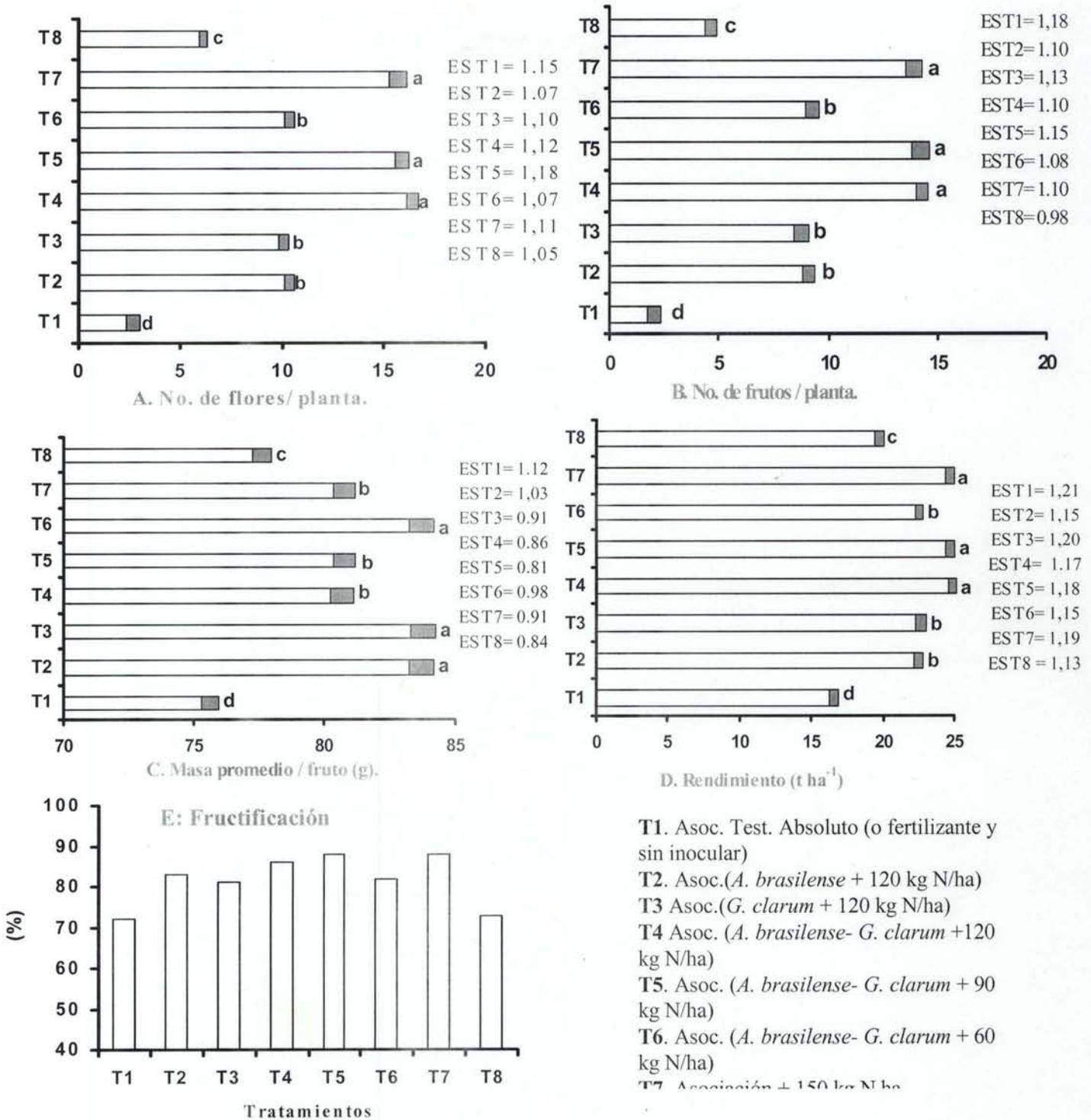


Figura 11a. Influencia de la coinoculación en el rendimiento y algunos de sus componentes (Año 1998. Zona sombreada es el intervalo de confianza).

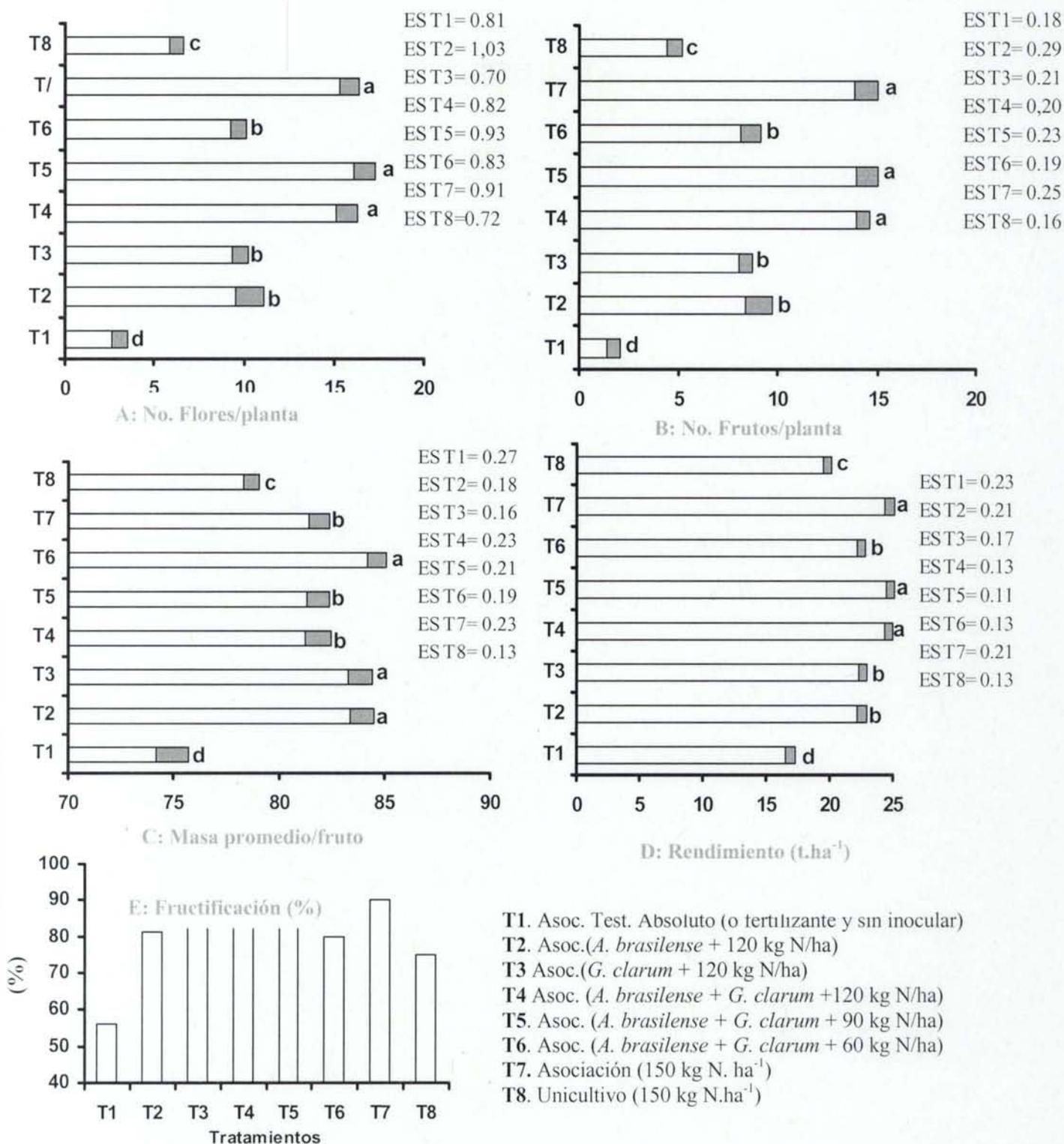


Figura 11b. Influencia de la coinoculación en el rendimiento y algunos de sus componentes (Año 1999. Zona sombreada es el intervalo de confianza).

Algunos estudios de interacción entre las micorrizas y rizobacterias, han sido llevadas a cabo por Barea *et al.*, (1975) citados por Rivera *et al.*, (2003) en coinoculaciones HMA -bacterias solubilizadoras de fósforo. Boelens *et al.*, (1993) y Gryndler (2000), encontraron que la inoculación de *Glomus mosseae* y las bacterias, incrementó significativamente el rendimiento con relación a la utilización de cada uno de ellos por separado.

El resultado en el rendimiento agrícola obtenido en esta investigación, evidencia que una planta con un estado nutricional adecuado, es capaz de brindar una producción aceptable, donde la coinoculación dentro del sistema de asociación de cultivos al parecer, permite un mejor aprovechamiento de los nutrientes aportados con la fertilización mineral, lo que conlleva a un manejo más eficiente de la nutrición en el sistema.

#### 4.2.3.2. Resultados obtenidos en el período óptimo.

Al analizar el rendimiento y algunos de sus componentes en los experimentos desarrollados en el período óptimo (1997 y 1998) para cada uno de los componentes del rendimiento (Tabla 15), se encontraron diferencias altamente significativas ( $p < 0.001$ ) entre los tratamientos estudiados. Los mayores rendimientos se alcanzaron en aquellos provenientes de plántulas coinoculadas y suplementadas su nutrición con 90 ó 120 kg N.ha<sup>-1</sup> (T5 y T6), sin diferencias estadísticas con el testigo de producción (T7), en los cuales, se logra mayor número de flores y frutos por planta, siendo superior también el porcentaje de fructificación, propiciándose por consiguiente mayores rendimientos.

Este resultado, demuestra la eficiencia de la coinoculación *A. brasilense* + *G. clarum* como alternativa para la sustitución del fertilizante nitrogenado que en condiciones de producción se le aplica al cultivo, sin detrimento del rendimiento, ya que aún cuando se disminuyen 60 kg N.ha<sup>-1</sup> (T5) que representa el 40% del fertilizante aplicado, se logra un rendimiento similar al obtenido con la dosis óptima (T7), obteniéndose alrededor de 30 t.ha<sup>-1</sup>. La coinoculación potenció la acción individual de los microorganismos sobre el rendimiento agrícola, entre un 6-9% más de producción, resultado que se corrobora en el año de 1998.

Resultados favorables a la coinoculación han sido obtenidos en diferentes cultivos por autores como Soroa (2000) en el cultivo de la gerbera, Iglesias *et al.*, (2000) en el cultivo del trigo y Pulido (2002) en el cultivo de la cebolla. En el caso del tomate, para variedades 'Roma' y 'HC 3880', también se ha obtenido una respuesta positiva a la coinoculación, estos resultados constituyen los primeros para la variedad 'Amalia en sentido general, se pone de manifiesto la eficiencia de la coinoculación para esta especie agrícola.

Tabla 15. Efectos de la coinoculación en el rendimiento agrícola y sus componentes en el período óptimo.

Tratamientos	Flores/planta (No.)		Frutos/planta (No.)		Fructificación %	
	1997	1998	1997	1998	1997	1998
1. Testigo Absoluto (sin fertilizar)	4.45 b	3.82 b	3.42 c	2.69 c	77	70
2. <i>A. brasilense</i> +120 kg N.ha <sup>-1</sup>	16.83 a	16.90 a	13.80 b	13.82 b	82	82
3. <i>G. clarum</i> +120 kg N.ha <sup>-1</sup>	17.33a	16.87a	13.74 b	13.77 b	79	82
4. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 60 kg Nha <sup>-1</sup>	17.37 a	17.64 a	13.80 b	13.91 ab	79	79
5. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg Nha <sup>-1</sup>	17.45 a	17.57 a	15.41 a	15.59 a	88	89
6. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 120kg N.ha <sup>-1</sup>	17.42 a	17.73 a	15.47 a	15.35 ab	89	86
7. T. de producción. (150 kg N.ha <sup>-1</sup> )	16.33 a	16.74 a	14.78 ab	14.16 ab	90	84
ES x	0.35***	0.36***	0.41 ***	0.52***	---	---

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

Tratamientos	Masa promedio/fruto (g)		Rendimiento t.ha <sup>-1</sup>	
	1997	1998	1997	1998
1. Testigo Absoluto (sin fertilizar)	66.56 d	68.43 d	4.98 d	4.54 d
2. <i>A. brasilense</i> +120 kg N. ha <sup>-1</sup>	90.40 a	89.80 a	29.32 b	29.59 b
3. <i>G. clarum</i> +120 kg N.ha <sup>-1</sup>	91.55 a	89.78 a	29.18 b	29.57 b
4. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 60 kg N.ha <sup>-1</sup>	83.54 c	84.80 e	27.05 c	27.93 c
5. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg N.ha <sup>-1</sup>	87.64 b	86.74 b	31.26 a	32.70 a
6. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 120 kNha <sup>-1</sup>	87.58 b	87.53 b	31.14 a	32.08 a
7. T. de producción (150 kg N.ha <sup>-1</sup> )	86.79 b	87.55 b	31.11 a	31.92 a
ES x	0.42***	0.40***	0.43***	0.42***

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

Estos experimentos permitieron además, corroborar la efectividad de la inoculación simple de *A. brasilense* y *G. clarum* suplementados con 120 kg N.ha<sup>-1</sup>, en los cuales se obtuvo un rendimiento similar al de los dos años anteriores (1995 y 1996), en lo que pudo influir las similares características climáticas (Figura 1) ocurridas en los años 1997 y 1998.

#### 4.2.3.3. Evaluación general (de la influencia de la coinoculación en el rendimiento agrícola y algunos de sus componentes en ambos períodos de siembra).

El análisis general de los rendimientos obtenidos en cada período de siembra, demuestra que con la coinoculación *G. clarum* + *A. brasilense* suplementada con 90 kg N.ha<sup>-1</sup>, en el período temprano, basándose en la superficie neta cubierta de tomate bajo el sistema de asociación de cultivos, se alcanzaron rendimientos agrícolas superiores que en el monocultivo (testigo), con un incremento ascendente al 25%.

Aún cuando se trata de la misma variedad ('Amalia'), la producción en cada período fue diferente, siendo menor en el período temprano (24 t.ha<sup>-1</sup>) en relación al período óptimo (31 t.ha<sup>-1</sup>);

sin embargo, se aprecia una efectividad de la coinoculación en ambos períodos, pues los rendimientos fueron superiores con respecto a las inoculaciones simples de *A. brasilense* y *G. clarum*, evidenciándose en qué grado los microorganismos logran poner en función de las plantas sus diferentes mecanismos de acción, ejerciendo un efecto positivo sobre todo en aquellas plantas que en cierta medida, se encuentran bajo condiciones de estrés ambiental, como es el caso de las desarrolladas en el período temprano de siembra.

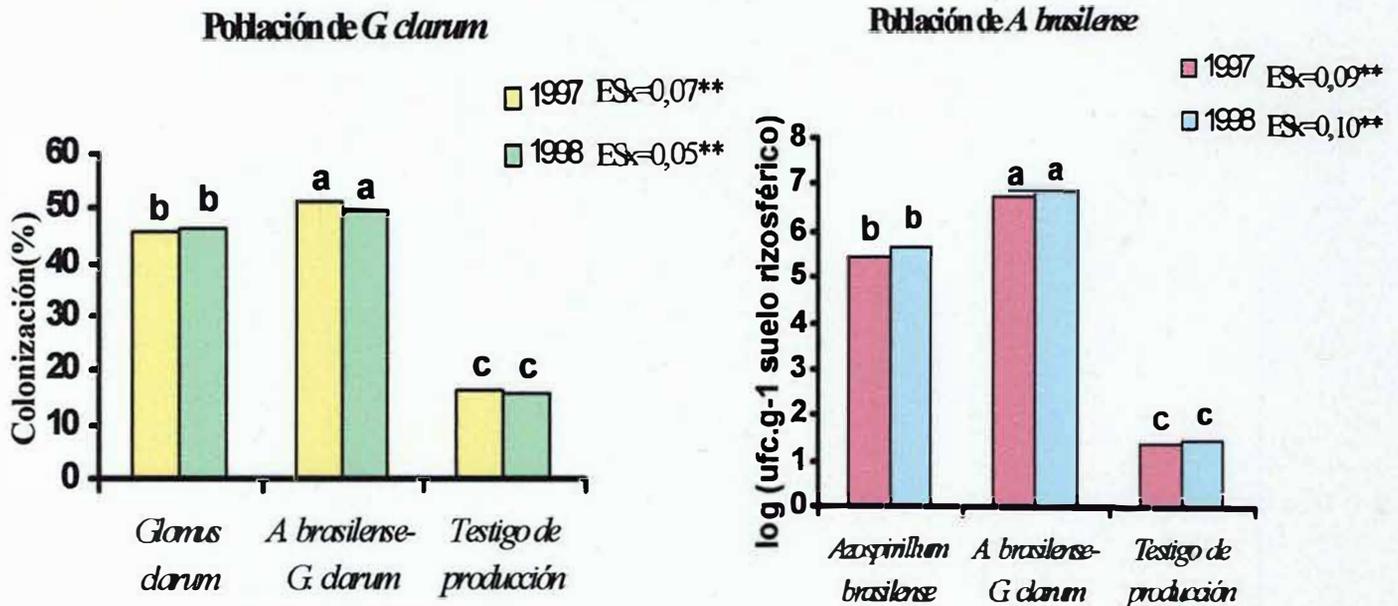
Por otra parte, se observó como en el período temprano en el tratamiento que se encuentra sin asociar (o sea en unicultivo, T8), no se superan las 20 t.ha<sup>-1</sup>, manifestándose claramente el efecto estresante del ambiente, que en comparación con el período óptimo bajo el sistema de unicultivo (T7), el rendimiento que se alcanza está por encima de las 31 t.ha<sup>-1</sup>, lo que permite corroborar el resultado obtenido por Pino (2001), quién recomienda la asociación de cultivos tomate - maíz, como alternativa viable para atenuar el estrés que causan las altas temperaturas y las intensas lluvias en el cultivo del tomate y de esta forma, lograr producciones aceptables, siendo esta la razón fundamental por la que se ha asumido esta tecnología para las siembras tempranas y tardías. En el sistema de asociación de cultivo, el hecho de utilizarse el maíz como cultivo protector del tomate, aporta una producción adicional el cual tiene una repercusión positiva en el sistema, lo que será discutido en el análisis económico.

#### **4.2.4. Efectos de la coinoculación *G. clarum* + *A. brasilense* en la colonización rizosférica.**

Por haber sido demostrado que los mayores niveles poblacionales de los microorganismos evaluados se encontraron alrededor de los 30 días después del trasplante; se tomó como referencia este momento, para evaluar la influencia de la coinoculación en la colonización radical para cada microorganismo (**Figura 12**).

Como se puede apreciar, los mayores valores para el porcentaje de colonización tanto de *G. clarum* como de *A. brasilense*, se lograron con la coinoculación de ambas especies, poniéndose de manifiesto que no existió relación antagónica entre ambos microorganismos, sino que por el contrario, ambos son capaces de complementarse y ser más efectivos cuando se encuentran juntos en la rizosfera del cultivo.

Con este resultado, se corrobora la superioridad de la coinoculación con respecto a las inoculaciones simples, potenciándose estos efectos individuales al lograrse un efecto superior en la altura de las plantas así como en la población rizosférica.



(Medias con letras comunes no difieren significativamente según Duncan para  $p < 0.01$ )

**Figura 12. Efectos de la coinoculación en la colonización rizosférica.**

Al respecto, Azcón y Barea (1996) plantean que la interacción entre RPCV y micorrizas puede ser selectiva y dependiente de la bacteria y el hongo implicado. Estos autores refieren, una notable estimulación del crecimiento de una población de *Pseudomonas fluorescens* en la superficie del micelio extraradical del hongo.

En este mismo sentido, Gianinazzi-Pearson *et al.*, (1982) determinaron que las bacterias de vida libre como *Azotobacter sp* y *Azospirillum sp*, aumentaron su población en la rizosfera de la planta hospedera al estar micorrizadas las raíces. También Barea y Azcón-Aguilar (1982), en trabajos de inoculaciones conjuntas de microorganismos, encontraron que la infección micorrizica se incrementó con la presencia de *Azotobacter sp*. Por su parte, Cuervo y Rivas-Platero (1997), demostraron que la inoculación de *Pseudomonas fluorescens* en tomate, estimula la colonización micorrizica en la raíz e incrementa la producción del cultivo. Para las condiciones de Cuba, autores como Hernández (2000) y Pulido (2002), trabajando en el cultivo del tomate, encontraron una mayor colonización rizosférica en los tratamientos coinoculados con micorrizas y rizobacterias, lo que permite corroborar los resultados de esta investigación, de manera que queda demostrada la relación compatible entre HMA y RPCV.

Los resultados hasta aquí descritos corroboran la relación compatible entre rizobacterias estimuladoras del crecimiento vegetal y hongos formadores de micorrizas arbusculares, siendo incrementadas sus poblaciones en la rizosfera del cultivo del tomate.

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

Una vez conocida la efectividad de la coinoculación *G. clarum* + *A. brasilense* y su complementación con 90 kg N.ha<sup>-1</sup>, se procedió a evaluar **la influencia** que pudiera ejercer la combinación de estos microorganismos con dos productos bioactivos (Biostan y Biobras-16), en el período temprano en sistema de asociación de cultivos y en el período óptimo en sistema de monocultivo, de manera que se lograra un mejor estado nutricional de las plantas, buena calidad bromatológica de los frutos así como un mayor incremento del rendimiento agrícola, con vistas a contar con una alternativa que en su conjunto, enriquece la tecnología para la producción del cultivo del tomate, todo lo cual resulta novedoso ya que en la literatura internacional no se abordan trabajos de esta temática, por lo que estos resultados pueden constituir los primeros aportes en esta línea de investigación.

##### **4.3.1. Influencia en el estado nutricional de las plantas**

###### **4.3.1.1. Resultados obtenidos en el período óptimo.**

Como ya ha sido demostrado, cuando las plantas son inoculadas con microorganismos que estimulan su crecimiento y desarrollo o son tratadas con algún producto bioestimulante, presentan una mayor capacidad para absorber más eficientemente el agua y los nutrientes del suelo, a través del estímulo provocado en el sistema radical y que se refleja en el estado nutricional de las plantas. Así en la Tabla 16, se refleja el resultado obtenido en los análisis foliares sobre los contenidos en nitrógeno, fósforo y potasio presentes en hojas de plantas de tomate, coinoculadas con *Glomus clarum* + *Azospirillum brasilense* así como asperjadas foliarmente con Biostan como producto bioactivo, en ambos años.

Como puede apreciarse, resultó efectiva la combinación de este producto aplicado en diferentes fases del desarrollo del cultivo, en plantas coinoculadas y suplementadas su nutrición con 90 kg N.ha<sup>-1</sup> (T3, T4), los cuales mostraron diferencias altamente significativas para los macronutrientes nitrógeno y fósforo y no así para el potasio, resultado que fue corroborado en el otro experimento que fue desarrollado en el año 2000. Se logran incrementos con respecto a las plantas sólo coinoculadas (T2) en un 1.17% en el contenido de nitrógeno en ambos años y un 0.15%, para fósforo, siendo la mayor contribución para el elemento nitrógeno.

Se aprecia además, que la sustitución del 40% de la fertilización nitrogenada, a partir de la coinoculación (T2), o por sólo la aplicación del Bioatan ((T6, T7, T8), no afecta el estado nutricional de las plantas al no diferenciarse estadísticamente del tratamiento testigo de producción (T9).

**Tabla 16. Influencia del Biostan y la coinoculación en el contenido de NPK foliar**

Tratamientos	Contenido N (%)		Contenido P (%)		Contenido K (%)	
	1999	2000	1999	2000	1999	2000
1. Testigo absoluto	1.43 c	1.39 c	0.55 e	0.61 d	1.87 b	1.91 b
2. <i>G. clarum</i> - <i>A. brasilense</i> +90 kg. N.ha <sup>-1</sup>	4.61 ab	4.57 ab	0.93 cd	0.91 bc	5.17 a	5.23 a
3. <i>G. clarum</i> - <i>A. brasilense</i> +90 kg. N.ha <sup>-1</sup> + Biostan (IF)	5.78 a	5.74 a	1.08 a	1.03 ab	5.85 a	5.82 a
4. <i>G. clarum</i> - <i>A. brasilense</i> +90 kg. N.ha <sup>-1</sup> + Biostan (IF) + Biostan (FI-Fr))	5.86 a	5.81 a	1.12 a	1.07 a	5.91 a	4.88 a
5. <i>G. clarum</i> - <i>A. brasilense</i> +90 kg. N.ha <sup>-1</sup> + Biostan (FI-Fr)	4.63 ab	3.17 b	1.05 ab	1.00 ab	5.78 a	5.71 a
6. Biostan (IF) + 90 kg. N.ha <sup>-1</sup>	4.53 ab	4.48 ab	0.95 cd	0.93 bc	5.12 a	5.19 a
7. Biostan (FI-Fr) + 90 kg. N.ha <sup>-1</sup>	3.47 b	3.43 b	0.86 d	0.83 c	4.16 a	4.24 a
8. Biostan (IF) y (FI-Fr)+ 90 kg N ha <sup>-1</sup>	4.61 ab	4.57 ab	0.98 bc	0.95 abc	5.14 a	5.18 a
9. T de producción (150 kg N.ha <sup>-1</sup> )	4.68 ab	4.61 ab	0.95 cd	0.97 ab	5.19 a	5.15 a
ES $\bar{x}$	0.60**	0.60**	0.02***	0.03***	0.60**	0.60**

Medias con letras comunes no difieren significativamente, según Duncan para  $p < 0.01$  y  $p < 0.001$ .

El resultado de los contenidos foliares de NPK, cuando se aplicó el Biobras-16 como producto bioactivo (Tabla 17), no mostró diferencias estadísticas entre los tratamientos en que fueron aplicados los diferentes productos, los cuales sólo difirieron del testigo absoluto.

**Tabla 17. Influencia del Biobras-16 y la coinoculación en el contenido de NPK foliar .**

Tratamientos	Contenido N (%)		Contenido P (%)		Contenido K (%)	
	1999	2000	1999	2000	1999	2000
1. Testigo absoluto	1.48 b	1.41 b	0.52 c	0.50 d	1.82 b	1.79 c
2. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90kg. N.ha <sup>-1</sup>	4.59 a	4.60 a	0.91 ab	0.89 ab	4.93 a	4.89 a
3. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg N.ha <sup>-1</sup> +Biobras-16 (IF )	5.15 a	5.21 a	0.95 ab	0.90 ab	5.16 a	5.18 a
4. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90kg. N.ha <sup>-1</sup> +Biobras-16 (IF y FI-Fr)	5.17 a	5.23 a	0.98 a	0.92 a	5.11 a	5.13 a
5. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90kg. N.ha <sup>-1</sup> +Biobras-16 (FI-Fr)	4.51 a	5.16 a	0.90 ab	0.89 ab	4.87 a	4.90 a
6. Biobras-16 (IF) + 90 kg. N.ha <sup>-1</sup>	4.26 a	4.22 a	0.93 ab	0.90 ab	4.96 a	4.94 a
7. Biobras-16 (FI-Fr) + 90 kg. N.ha <sup>-1</sup>	3.30 ab	3.27 a	0.84 b	0.82 c	3.74 a	3.61 b
8. Biobras-16 (IF) y (FI-Fr) + 90 kg. N.ha <sup>-1</sup>	4.38 a	4.31 a	0.90 ab	0.87 b	4.91 a	4.93 a
9. T. de producción (150 kg N.ha <sup>-1</sup> )	4.61 a	4.59 a	0.93 ab	0.89 ab	4.94 a	4.91 a
ES $\bar{x}$	0.60***	0.60***	0.12***	0.02***	0.60***	0.38***

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

No obstante, se demuestra la contribución de los microorganismos benéficos a la nutrición de las plantas, potenciado por el producto bioactivo, aún cuando el análogo de brasinoesteroide como producto no aporta nutrientes, su acción como regulador del crecimiento de las plantas, al parecer, influye en una mayor absorción de elementos minerales por las mismas, aspecto que ha sido referido por Khripach., *et al.*, (2001), y que se demuestra con el resultado obtenido en los tratamientos 6,7 y 8, los cuales no difieren del testigo de producción.

Los valores de los macroelementos encontrados para cada experimento, están en el rango de los que se pueden obtener en el cultivo, cuando las plantas alcanzan un nivel nutricional adecuado (Benett, 1996), resultando interesante para la práctica productiva conocer que los niveles de nitrógeno en planta alcanzan valores equivalentes a una fertilización convencional, por lo que la reducción de esta, en función de la utilización de los productos aplicados, resultaría ecológico y económicamente aconsejable dentro del sistema productivo del cultivo.

Comparando la influencia de ambos productos bioactivos en este período de siembra (óptimo), los mayores contenidos foliares de cada macronutriente, se obtuvieron cuando se combinó la coinoculación con el producto bioactivo Biostan. Este resultado pudiera deberse a la constitución del producto formado por 4 fracciones: hormonal, inorgánica, proteica y húmica, las cuales de manera combinada o por separado, pueden producir un efecto bioestimulante en las plantas. La presencia de sustancias húmicas puede ejercer un papel importante, ya que es probable que facilite una mejor absorción de los nutrientes en la planta, debido a que presentan más estructuras carboxílicas capaces de quelatar a los metales, pudiendo influir en la estructura físico-química del protoplasma de las plantas, incrementando la permeabilidad de las membranas vegetales (Nardi *et al.*, 2000) y Canellas *et al.*, (2002), esto posibilitará un aumento de la entrada en la planta del nitrógeno, fósforo, potasio y otros microelementos presentes en el medio nutritivo del suelo. El resto de las fracciones, igualmente actúan en el metabolismo de las plantas provocando un estímulo en su crecimiento y desarrollo.

De acuerdo a los resultados discutidos, podría pensarse que, por la composición de este producto (Biostan), su aplicación en la práctica productiva podría constituir una variante de gran utilidad como alternativa para potenciar el crecimiento y desarrollo de las plantas.

#### **4.3.1.2. Resultados obtenidos en el período temprano.**

El análisis de los resultados obtenidos en el experimento desarrollado en el período temprano en un sistema de asociación de cultivos ( **Figura 13**), arrojó diferencias estadísticas para cada uno de los macroelementos evaluados. Los mayores valores para los contenidos de nitrógeno, fósforo y potasio, se obtuvieron en los tratamientos que se coinocularon y asperjaron con Biostan ó Biobras-16 al inicio de la floración (T4 y T5), con diferencias significativas con respecto al testigo de producción en asociación (T8).