

---

# EFECTO DE *Azospirillum brasilense* Y FERTILIZACIÓN QUÍMICA SOBRE EL CRECIMIENTO, DESARROLLO, RENDIMIENTO Y CALIDAD DE FRUTO DE FRESA (*Fragaria x ananassa* Duch)

---

Ma. Claudia Castañeda-Saucedo, Guillermo Gómez-González, Ernesto Tapia-Campos,  
Octavio Núñez Maciel, Juan Saúl Barajas Pérez y Martha Leticia Rujano Silva

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de fertilización química y *Azospirillum brasilense* sobre crecimiento, desarrollo, rendimiento y calidad de fruto de fresa (*Fragaria x ananassa*). Se aplicaron tres tratamientos: T1: aplicación de *A. brasilense* a una dosis de  $\log 10^9$  unidades formadoras de colonias (UFC) /planta; T2: *A. brasilense* a una dosis de  $\log 10^9$  UFC/planta + fertilización química; T3: fertilización química; y T4: testigo. Las variables evaluadas fueron: número de hojas ( $N_h$ ), flores ( $N_f$ ) y frutos ( $N_{fr}$ ); área foliar (AF), peso seco de planta (PS), longitud de la raíz (LR) altura de la planta (AL), rendimiento por planta (RP), tamaño de fruto (TF) y peso del fruto; a partir del peso seco se calculó la tasa de crecimiento relativo (TCR), tasa de asimilación neta (TAN),

relación de área foliar (RAF) y relación de peso foliar (RPF). La concentración de *A. brasilense* empleada no tuvo efectos o inhibió el crecimiento y rendimiento del cultivo, manifestado en reducción del área y espesor foliar, aumentando la fragilidad de la planta por los valores más altos en área foliar específica (AFE); así como baja producción de biomasa, provocando reducción del tamaño y peso del fruto. Comparada con *A. brasilense*, la fertilización química produjo mejores resultados en calidad y rendimiento del fruto, siendo el mejor momento de respuesta para  $N_h$ , producción de biomasa,  $N_f$  y AF a los 35, 100, 145 y 35 dde, respectivamente. No hubo diferencias significativas en AL, LR,  $N_{fr}$ , TCR, TAN, RAF y RPF en fase alguna del crecimiento.

---

## Introducción

El empleo de microorganismos que viven en intercambio con las plantas es una de las áreas de estudio que más ha impactado la agricultura en las dos últimas décadas, debido a que son una alternativa emergente a los productos químicos, para incrementar la fertilidad y producción de cultivos en agroecosistemas sustentables (Franco-Correa, 2009; Rueda *et al.*, 2009). En la agricultura actual, las nuevas variedades de alto rendimiento exigen mejores condiciones de cultivo y altos niveles de fertilización, lo

que ocasiona mayores índices de salinización cada año, asociado a inhibición del crecimiento de cultivos y contaminación del agua subterránea, resultando en un serio peligro para la salud de las personas; además de que el proceso de elaboración de fertilizantes es costoso (Rueda *et al.*, 2009). Por lo tanto, el costo de mantener las tecnologías que demanda el esquema de alto rendimiento de la agricultura moderna resulta en un deterioro ambiental que puede sobrepasar el beneficio económico, social y ambiental (Adesemoye y Kloepper, 2009; Bünemann

*et al.*, 2009). De ahí la importancia de entender los efectos o mecanismos de los microorganismos que viven en asociación con las plantas.

Los microorganismos (biofertilizante) ejercen un efecto benéfico sobre la germinación, desarrollo y control de otros microorganismos patógenos (biocontrolador) (Franco-Correa, 2009; Rueda *et al.*, 2009). Han sido clasificados en: 1) microorganismos fijadores de nitrógeno, 2) hongos micorrízicos, y 3) bacterias promotoras del crecimiento de plantas (PGPB, por sus siglas en inglés) (Kloepper *et al.*, 1989). El

género *Azospirillum*, considerado como PGPB, es el más estudiado respecto a las bacterias asociadas a las plantas (Caballero, 2008). Los efectos ocasionados por *Azospirillum* están directamente relacionados con la concentración del inóculo y métodos de aplicación (Bashan y Levany, 1990). Los mejores resultados en rendimiento se han obtenido en suspensión de turba, debido a que *Azospirillum* requiere un acarreador y de no realizarse la inoculación de una manera adecuada resulta en una colonización parcial de la raíz y variabilidad de la respuesta en la planta (Bashan,

---

## PALABRAS CLAVE / Área foliar / Biomasa / *Fragaria x ananassa* / Índices de Crecimiento /

Recibido: 25/01/2013. Modificado: 12/11/2013. Aceptado: 25/11/2013

**María Claudia Castañeda-Saucedo.** Ingeniero Agrónomo, Universidad Autónoma Chapingo (UACH), México. Maestría y Doctorado en Producción de Semillas, Colegio de Postgraduados, (COLPOS), México. Profesor-Investigador, Universidad de Guadalajara (UdeG), México. Dirección: Centro Universitario del Sur (CUSUR), UdeG. Av. Enrique Arreola Silva 883, Ciudad Guzmán, Jalisco CP. 49000, México. e-mail:

claudia.saucedo@cusur.udg.mx  
**Guillermo Gómez-González.** Estudiante de Licenciatura de Agronegocios, CUSUR-UdG, México. e-mail: guille\_arsnl@hotmail.com  
**Ernesto Tapia-Campos.** Ingeniero Agrónomo en Fitotecnia, UACH, México. Maestro en Ciencias y Doctor en Fruticultura, COLPOS, México. Investigador, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ),

México. e-mail:etapia@ciatej.net.mx

**Octavio Núñez Maciel.** Ingeniero Agrónomo en Fitotecnia, UACH, México, Maestría en Administración, UdeG, México. Profesor, CUSUR-UdG, México. e-mail: octavion@cusur.udg.mx

**Juan Saúl Barajas Pérez.** Ingeniero Agrónomo, UACH, México. Maestro en Ciencias, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional, México. Profesor-In-

vestigador CUSUR, UdeG, México y Profesor, Instituto Tecnológico Superior de Tamazula de Gordiano, México. e-mail: juan.barajas@cusur.udg.mx

**Martha Leticia Rujano Silva.** Licenciatura en Matemáticas, UdeG, México. Maestría en Administración, CUSUR-UdG, México. Doctora en Ciencia y Tecnología. UdeG, México. Profesor-Investigador CUSUR, UdeG, México. e-mail: mlrujan@cusur.udg.mx

## EFFECT OF *Azospirillum brasilense* AND CHEMICAL FERTILIZATION ON THE GROWTH, DEVELOPMENT, YIELD AND FRUIT QUALITY OF STRAWBERRY (*Fragaria x ananassa* Duch)

Ma. Claudia Castañeda-Saucedo, Guillermo Gómez-González, Ernesto Tapia-Campos, Octavio Nuñez Maciel, Juan Saúl Barajas Pérez and Martha Leticia Rujano Silva

### SUMMARY

The effect of chemical fertilization and *Azospirillum brasilense* on strawberry growth, development, yield and fruit quality was evaluated. Three treatments were applied: T1: application of *A. brasilense* at a concentration of  $\log 9$  colony forming units (CFU) / plant; T2: *A. brasilense* at a concentration of  $\log 9$  CFU/plant + chemical fertilization; T3: chemical fertilization; and T4: control. The variables evaluated were: number of leaves ( $N_h$ ), of flowers ( $N_f$ ) and fruits ( $N_{fr}$ ), leaf area (AF), plant dry weight (PS), root length (LR) plant height (AL), yield per plant (RP) and fruit size (TF). Relative growth rate (RGR), net assimilation rate (NAR), leaf area ratio (RAF) and leaf weight

ratio (RPF) were calculated from the dry weight. Results show that the concentration of *A. brasilense* used caused null effects or inhibited growth and yield; manifested in leaf area reduction, leaf thickness and plant fragility increase, from the higher values of AFE; it also led to less production of biomass, producing reduction of the fruit size and weight. The chemical fertilization in general terms had positive effects on the quality and yield of the fruit, resulting the best treatment in  $N_h$ , biomass production,  $N_{fr}$ , and AF variables at 35, 100, 145 and 35 dde, respectively. No significant differences were found in AP, LR, NFR, TCR, TAN, RAF and RPF in any stage of growth.

## EFEITO DE *Azospirillum brasilense* E FERTILIZAÇÃO QUÍMICA SOBRE O CRESCIMENTO, DESENVOLVIMENTO, RENDIMENTO E QUALIDADE DA FRUTA DE MORANGO (*Fragaria x ananassa* Duch)

Ma. Claudia Castañeda-Saucedo, Guillermo Gómez-González, Ernesto Tapia-Campos, Octavio Nuñez Maciel, Juan Saúl Barajas Pérez e Martha Leticia Rujano Silva

### RESUMO

Avaliou-se o efeito de fertilização química e *Azospirillum brasilense* sobre crescimento, desenvolvimento, rendimento e qualidade da fruta de morango (*Fragaria x ananassa*). Aplicaram-se três tratamentos: T1: aplicação de *A. brasilense* a uma dose de  $\log 10^9$  unidades formadoras de colônias (UFC) /planta; T2: *A. brasilense* a uma dose de  $\log 10^9$  UFC/planta + fertilização química; T3: fertilização química; e T4: testemunha. As variáveis avaliadas foram: número de folhas ( $N_f$ ), flores ( $N_f$ ) e frutos ( $N_{fr}$ ); área foliar (AF), peso seco de planta (PS), longitude da raiz (LR) altura da planta (AL), rendimento por planta (RP), tamanho da fruta (TF) e peso da fruta; a partir do peso seco se calculou a taxa de crescimento relativo (TCR), taxa de assimilação neta (TAN), relação de área foliar (RAF) e rela-

ção de peso foliar (RPF). A concentração de *A. brasilense* empregada não teve efeitos ou inibiu o crescimento e rendimento do cultivo, manifestado em redução da área e espessura foliar, aumentando a fragilidade da planta pelos valores mais altos na área foliar específica (AFE); assim como baixa produção de biomassa, provocando redução do tamanho e peso da fruta. Comparada com *A. brasilense*, a fertilização química produziu melhores resultados na qualidade e rendimento da fruta, sendo o melhor momento de resposta para  $N_h$ , produção de biomassa,  $N_{fr}$  e AF aos 35, 100, 145 e 35 dde, respectivamente. Não houve diferenças significativas em AL, LR,  $N_{fr}$ , TCR, TAN, RAF e RPF em fase alguma do crescimento.

1998a; Rueda *et al.*, 2009). El nivel óptimo de inoculación para semillas o plántulas de muchos cereales, vegetales y cultivos industriales es de  $\log 5$  a  $\log 6$  UFC (unidades formadoras de colonias) /ml, para maíz es de  $\log 7$  UFC/ml y para tomate *in vitro* es  $>\log 8$  UFC/ml. Excesos pueden causar reacciones inhibitorias, mientras que bajas concentraciones no presentan ningún efecto (Bashan y Levanony, 1990).

Los resultados que han sido reportados con la asociación *Azospirillum*-planta son: a) incrementos en porcentaje y tasa

de germinación; b) aumentos en la altura, peso fresco total, longitud radicular, mayor número de pelos y raíces adventicias y secundarias; c) incrementos en área foliar, repercutiendo en mayores índices de fotosíntesis y consiguiente mayor producción; d) incrementos en floración, espigamiento y amarre de fruto; y e) aumento en niveles de nitrógeno, expresados en proteína en el follaje y grano (Rueda *et al.*, 2009) y producción de auxinas en la raíz (Star *et al.*, 2012). También se han reportado efectos negativos del empleo de *Azospirillum* en algunas especies (Hol-

guin y Bashan, 1996). No obstante, la mayoría de los efectos negativos encontrados en estudios de campo realizados en su mayoría por casas comerciales no están documentados en la bibliografía científica (Bashan y Holguín, 1997), por lo que efectos patógenos pueden aun ser extraños a la comunidad científica debido a que sus efectos negativos son rutinariamente descartados y raramente reportados (Bashan, 1998b).

La mayoría de los estudios sobre la asociación *Azospirillum*-planta se han llevado a cabo en cereales, pastos, hortalizas y árboles (Rueda *et al.*,

2009). El mecanismo de acción por medio del cual *Azospirillum* promueve el crecimiento vegetal no ha sido completamente entendido; el efecto se atribuye a varios mecanismos que participan en la asociación microorganismo-planta que resultan en los cambios observados en el crecimiento de las plantas (Walker *et al.*, 2012). Un mejor entendimiento de la interacción de *A. brasilense* y los indicadores críticos del éxito de la inoculación (asociación bacteria-planta, momento, dosis y tecnología de la aplicación) pueden ayudar a mejorar la eficiencia de los inóculos de *A.*

*brasiliense* y así estimular su aplicación a gran escala en la producción agrícola (Bashan y Holguin, 1997).

El fruto de fresa es consumido y apreciado en el mundo por su aroma y sabor que lo distinguen como una fruta exquisita para degustar. México ocupa el cuarto lugar en volumen de producción de fresa, superado por EEUU, España y Turquía. México produjo en 2008 el 6% de la producción mundial (207.485ton) con un valor de más de USD 1.000.482 (SIAP, 2011). Los principales estados mexicanos productores son Michoacán, Guanajuato y Baja California (SIAP, 2011), en lo que existen problemas debido a la utilización de grandes cantidades de agroquímicos y se requiere de estrategias que contribuyan a reducir los insumos agrícolas y que al mismo tiempo aseguren la calidad y rendimiento del fruto, por lo que se considera a *Azospirillum* como una alternativa para reducir la fertilización nitrogenada (Caballero, 2008); sin embargo, existen escasos estudios sobre el efecto de *Azospirillum* en fresa.

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de fertilización química y *A. brasiliense* sobre el crecimiento, desarrollo, rendimiento y calidad de fruto de fresa.

## Materiales y Métodos

Se establecieron 72 plántulas de fresa cv. Albión en macetas de 10kg en condiciones de cielo abierto, en Ciudad Guzmán, Jalisco. Las plántulas tenían de 0,8-1,1cm de diámetro de corona, se podaron las raíces dejando una longitud de ~8cm y posteriormente se sumergieron durante 30min en una solución desinfectante compuesta por 0,5g de Cupravit®; 0,5g de Captan®; 0,01ml de Previs-tin®; y 0,3ml de Ruter AA® por litro de agua. Como sustrato se manejó suelo agrícola y arena de río en proporción de 1:1. Se aplicaron tres tratamientos y el testigo, a saber, T1: aplicación de *A. brasiliense* a dosis de log 9 UFC/planta, T2: *A. brasiliense* a dosis de

log 9 UFC/planta más fertilización química; T3: fertilización química; y T4: testigo o control, al cual no se le aplicó fertilización química ni inoculación con *Azospirillum*. El diseño experimental fue en bloques completamente al azar con tres repeticiones y la unidad experimental para cada repetición fueron seis macetas con una planta por maceta.

La inoculación de *A. brasiliense* se realizó a los 19 días de establecida (dde) con una cepa aislada y reproducida por una entidad comercial; a dosis de log 9 UFC/planta, en turba como medio de cultivo de la bacteria y 450ml de una solución de melaza a 10ml·l<sup>-1</sup> de agua, utilizada como fuente de carbono. La fertilización química total consistió en una mezcla de 0,47; 1,9; 1,6 y 1,6 g/planta de urea, sulfato de magnesio, nitrato de potasio y nitrato de calcio, respectivamente, y 1,9ml de ácido fosfórico, la cual se aplicó en el riego cada tercer día a partir de los 21 dde y hasta los 176 dde.

Las variables evaluadas fueron número de hojas (N<sub>h</sub>), de flores (N<sub>fl</sub>) y de frutos (N<sub>fr</sub>), evaluadas cada 10 días a partir de los 35 dde; se midió a los 60, 100, 140 y 180 dde: área foliar (AF), peso seco total de planta (PST) y peso seco de raíz (PSra), de tallo (PStal), de hoja (PSho), de flor (PSfl) y de fruto (PSfr), longitud de la raíz (LR) y altura de la planta (AL). El peso seco de planta y de cada órgano se determinó en un horno de secado serie FD a 65°C durante 72h. La longitud de raíz (cm) se midió desde la base de la corona hasta el ápice de la raíz más larga. La altura de la planta (cm) se estimó desde la base de la corona hasta el ápice de la hoja más alta. El área foliar (cm<sup>2</sup>) se calculó mediante la relación entre área y peso; es decir, el peso de la área conocida de una hoja regular de papel bond y su relación con el peso correspondiente a la superficie que ocupa el área foliar delineada en la hoja de papel AF=(ac/pac)(pAF), donde AF: área foliar, pac: peso área conocida,

TABLA I  
LONGITUD DE RAÍZ Y ALTURA DE PLANTA EN FRESA  
BAJO CUATRO TRATAMIENTOS DE FERTILIZACIÓN

| dde              | Tratamientos |         |         |         |       |
|------------------|--------------|---------|---------|---------|-------|
|                  | T1           | T2      | T3      | T4      | Media |
| Longitud de raíz |              |         |         |         |       |
| 60               | 23,66 a      | 18,00 a | 19,66 a | 23,66 a | 21,25 |
| 100              | 25,66 a      | 28,66 a | 29,33 a | 32,00 a | 28,92 |
| 140              | 35,00 a      | 30,00 a | 36,33 a | 31,66 a | 33,25 |
| 180              | 36,66 a      | 36,66 a | 36,00 a | 31,33 a | 35,17 |
| Altura de planta |              |         |         |         |       |
| 60               | 10,66 a      | 11,50 a | 11,83 a | 13,33 a | 11,83 |
| 100              | 13,00 a      | 12,83 a | 17,16 a | 13,16 a | 14,04 |
| 140              | 13,33 a      | 16,50 a | 17,50 a | 13,33 a | 15,17 |
| 180              | 13,83 a      | 15,50 a | 16,66 a | 13,33 a | 14,83 |

Letras iguales en cada fila indican diferencias no significativas (Tukey, P<0,05).

ac: área conocida, y pAF: peso área foliar. Se emplearon tres plantas por tratamiento y se realizaron cuatro muestreos: a los 60, 100, 140 y 180 dde.

Mediante los datos de peso seco se calcularon los índices de crecimiento: tasa de crecimiento relativo (TCR; g·g<sup>-1</sup>/día/planta) calculada de acuerdo a Sedano *et al.* (2005) y tasa de asimilación neta (TAN; g·cm<sup>-1</sup>/día/planta) calculada de acuerdo a Aguilar *et al.* (2005). La relación de área foliar (RAF; cm<sup>2</sup>·g<sup>-1</sup>/día/planta) se calculó como la relación entre el área foliar total y peso seco total de la planta; la relación de peso foliar (RPF; g·g<sup>-1</sup>) se determinó como el cociente del peso seco del área foliar entre el peso seco de la planta; el área foliar específica (AFE; cm<sup>2</sup>·g<sup>-1</sup>/día/planta) se refiere al área foliar por unidad de peso foliar. Además se calcularon los índices de desarrollo: coeficientes de partición de biomasa de hoja (CPB<sub>h</sub>), raíz (CPB<sub>r</sub>), tallo (CPB<sub>t</sub>), flor (CPB<sub>fl</sub>) y fruto (CPB<sub>fr</sub>) mediante las siguientes fórmulas: CPB<sub>h</sub>= PSho/PST; CPB<sub>r</sub>= PSra/PST; CPB<sub>t</sub>= PStal/PST; CPB<sub>fl</sub>= PSfl/PST; y CPB<sub>fr</sub>= PSfr/PST. Para evaluar la calidad de fruto se calcularon los sólidos solubles totales (SST) y pH a partir del jugo del fruto obtenido de nueve muestreos por tratamiento durante los 90 a los 160 dde, según los métodos 932.12 y 981.12 de la AOAC (1990); además se evaluó el tamaño (TPF) y peso (PPF) de cada

fruto para calcular el rendimiento por planta (RP).

A todas las variables se les realizó un análisis de varianza y a las que fueron diferentes estadísticamente se le aplicó una comparación de medias Tukey con  $\alpha=0,05$  empleando el programa Statistical Analysis System® (SAS) versión 9.1.

## Resultados y Discusión

### Altura de la planta y longitud de raíz

No se encontraron diferencias significativas ( $P \geq 0,05$ ) tanto en altura de la planta como en la longitud de la raíz, entre tratamientos en cualquiera de las fases del crecimiento del cultivo. No obstante, se encontraron diferencias numéricas (Tabla I) en la longitud de raíz: 36,7cm para los tratamientos que se inocularon con *Azospirillum* (T1 y T2); 36,3cm para el tratamiento con fertilización química (T3) y de 32cm en el testigo (T4). Resultados similares reportan Naiman *et al.* (2009), quienes no encontraron efectos significativos al utilizar la PGPB en trigo. En contraste Pedraza *et al.* (2010) muestran un aumento de tamaño y de longitud en los pelos radiculares por efecto de *Azospirillum* en fresa. De igual forma, Ribauda *et al.* (2006) reportan incremento en la longitud de los pelos radiculares y en el peso fresco de la raíz de jitomate. Otros estudios indican que ocurre una disminución en

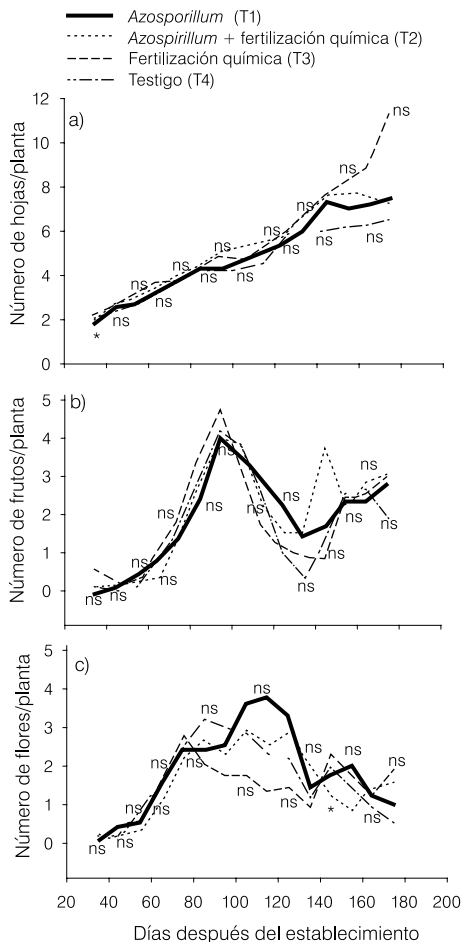


Figura 1. a: número de hojas, b: número de flores, y c: número de frutos en fresa, en tres tratamientos de fertilización y testigo. ns: diferencias no significativas, \*: diferencias significativas (Tukey, P<0,05).

la longitud radicular, masa y volumen, pese a que se observa un incremento en parámetros de crecimiento de los brotes (Murty y Ladha, 1988). Bashan (1990) encontró que niveles de concentración de inóculo >log 8 - log 10 UFC/ml usualmente inhiben el desarrollo de la raíz.

A pesar de que no se encontraron diferencias significativas ( $p \geq 0,05$ ) en la altura de la planta de fresa, en el tratamiento con fertilización química ésta fue mayor a lo largo de todo el ciclo excepto en los 60 dde, donde el testigo registró la mayor altura y T1 mostró valores inferiores con respecto al testigo T4 a los 60, 100 y 140 dde y superiores a los 180 dde. La altura final (Tabla I) a los 180 dde fue mayor en T3 (16,66cm); seguido por T2 (15,5); T1 (13,83); y T4

log 5 a log 6 UFC/ml, mientras que Fallik *et al.* (1988) para maíz de log 7 UFC/ml y para tomate *in vitro* >log 8 UFC/ml. El número de inoculaciones también es un factor desconocido; por razones prácticas la mayoría de los estudios utilizan una sola aplicación de bacteria (Kloepper, 1989), mientras que en otros estudios se realizan dos aplicaciones (Albrecht *et al.*, 1981) o incluso tres (Millet *et al.*, 1984); aunque Bashan (1986) señala que múltiples inoculaciones no tienen efecto en el nivel bacteriano de la raíz, e incluso producen efectos marginales en crecimiento de planta.

#### Número de hojas, flores y frutos

Solamente en el primer muestreo (35 dde) se detecta-

(13,33cm). Estos resultados coinciden con Kapulnik *et al.* (1987), quienes no detectaron diferencias significativas en la altura de la planta de trigo por efecto de *Azospirillum*. En contraste, varios autores reportan aumentos significativos en la altura de la planta en trigo, mijo (*Stearia itálica* L) y algodón (*Gossypium hirsutum* L.) al ser inoculadas con cepas de *A. brasilense* (Fayez y Daw, 1987) y en algunas etapas de crecimiento (40 y 75 dde) en arroz (Gunarto *et al.*, 1999).

Existe la posibilidad de que no se obtuviera un efecto significativo positivo debido a la dosis utilizada (log 9 UFC/planta), la cual está por arriba de lo que se ha reportado para semillas o plántulas de muchos cereales, vegetales y cultivos industriales. Bashan (1986) reporta como ideal de

ron diferencias significativas (Tukey,  $P < 0,05$ ) entre tratamientos; T3 registró el mayor número de hojas y el resto de los tratamientos fueron estadísticamente inferiores. A partir del muestreo inicial y hasta finalizar el experimento, los cuatro tratamientos mostraron un comportamiento estadísticamente igual en producción de hojas (Figura 1a). A los 175 dde (último muestreo) el número promedio de hojas por planta fue de 11,3; 7,5; 7,3

y 6,5 para T3, T1, T2 y T4, respectivamente. Estos resultados coinciden con lo encontrado por Díaz e Iglesias (2003), quienes no reportaron efectos significativos respecto a número de hojas en tomate (*Lycopersicon esculentum*) por efecto de inoculación con *Azospirillum*, mientras que Rotela *et al.* (2001) hallaron diferencias significativas en algodón (*Gossypium hirsutum*).

En lo que respecta al número de flores, solamente existieron diferencias significativas en el conteo realizado a los 145 dde, resultando estadísticamente superior T3, aunque T1 y T4 resultaron estadísticamente iguales y T2 fue el tratamiento con el menor número de flores (Figura 1c), lo cual indica que la producción de flores es una variable que no experimentó efectos positivos por la inoculación de *A. brasilense* y causó una reducción por la combinación de *Azospirillum* + fertilización química (T2) respecto al tratamiento químico (T3). Por su parte, la producción de frutos por planta no mostró diferencias significativas en ninguno de los tratamientos (Figura 1b). Estos resultados son contradictorios con los de Díaz e

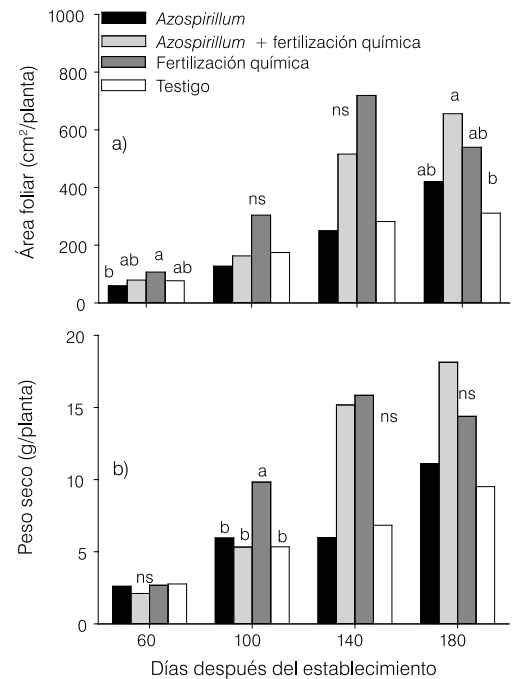


Figura 2. a: área foliar, y b: peso seco en fresa, en tres tratamientos de fertilización y testigo. Letras distintas en cada grupo de barras indican diferencias significativas (Tukey, P<0,05).

Iglesias (2003), quienes demostraron que esta bacteria influyó positivamente en estas variables en el cultivo de tomate.

#### Área foliar, producción de biomasa y peso seco de cada órgano

Solamente a los 60 y 180 dde se detectaron diferencias significativas en el área foliar para los tratamientos. A los 60 dde, el tratamiento T3 presentó mayor área foliar (106,97cm²) seguido por T2 y T4 con áreas de 79,36 y 76,57cm², respectivamente; T1 fue estadísticamente inferior a los demás tratamientos, con 60,04cm² (Figura 2a). A los 180 dde el tratamiento T2 registró la mayor área foliar (656,1cm²) seguido por T3 (539,7), T1 (420,8) y T4 (311,1cm²). Estos resultados indican que la aplicación de *A. brasilense* por sí sola no favorece el desarrollo de área foliar en los tratamientos ensayados; sólo a los 180 dde, en forma combinada con fertilización química, produce un efecto positivo en el área foliar. En producción de biomasa, a los 100 dde se encontraron diferencias estadísticas, el tratamiento T3 superó con una pro-

TABLA II  
PESOS SECOS DE ÓRGANOS DE FRESA EN TRES  
TRATAMIENTOS DE FERTILIZACIÓN Y TESTIGO

| dde                | <i>Azospirillum</i> (T1) | <i>Azospirillum</i> + Fert. química (T2) | Fertilización química (T3) | Testigo (T4) | Media  |
|--------------------|--------------------------|--|----------------------------|--------------|--------|
| Peso seco de raíz  |                          |  |                            |              |        |
| 60                 | 0,788 a                  | 0,6610 a                                 | 0,7677 a                   | 0,971 a      | 0,7968 |
| 100                | 1,332 a                  | 0,8642 a                                 | 1,1655 a                   | 1,246 a      | 1,152  |
| 140                | 1,468 a                  | 3,7810 a                                 | 4,7310 a                   | 1,604 a      | 2,8959 |
| 180                | 2,073 a                  | 3,5551 a                                 | 3,2050 a                   | 2,057 a      | 2,7225 |
| Peso seco de hoja  |                          |  |                            |              |        |
| 60                 | 0,5063 a                 | 0,5647 a                                 | 0,723 a                    | 0,5323 a     | 0,5816 |
| 100                | 0,9230 b                 | 1,253 ab                                 | 2,3476 a                   | 1,286 ab     | 1,4525 |
| 140                | 1,8990 a                 | 4,7150 a                                 | 6,953 a                    | 2,341 a      | 3,9768 |
| 180                | 3,8430 ab                | 6,6420 a                                 | 5,579 ab                   | 3,12 b       | 4,7960 |
| Peso seco de tallo |                          |  |                            |              |        |
| 60                 | 1,2713 a                 | 0,832 bc                                 | 0,759 c                    | 1,04 ab      | 0,9756 |
| 100                | 1,293 b                  | 1,161 b                                  | 2,094 a                    | 1,465 ab     | 1,5029 |
| 140                | 1,84 b                   | 3,629 ab                                 | 4,093 a                    | 2,046 b      | 2,9020 |
| 180                | 3,127 a                  | 4,993 a                                  | 4,108 a                    | 2,584 a      | 3,703  |
| Peso seco de flor  |                          |  |                            |              |        |
| 60                 | 0,0390 a                 | 0,0483 a                                 | 0,1927 a                   | 0,1317 a     | 0,1029 |
| 100                | 0,1208 a                 | 0,3451 a                                 | 0,049 a                    | 0,1256 a     | 0,1601 |
| 140                | 0,1078 a                 | 0,141 a                                  | 0,008 a                    | 0,1509 a     | 0,1019 |
| 180                | 0,0193 a                 | 0,1016 a                                 | 0,0702 a                   | 0,0008 a     | 0,048  |
| Peso seco de fruto |                          |  |                            |              |        |
| 60                 | 0,000 a                  | 0,000 a                                  | 0,237 a                    | 0,092 a      | 0,0822 |
| 100                | 2,285 a                  | 1,702 a                                  | 4,178 a                    | 1,218 a      | 2,3460 |
| 140                | 0,223 a                  | 0,947 a                                  | 0,015 a                    | 0,231 a      | 0,3538 |
| 180                | 2,043 a                  | 2,845 a                                  | 1,391 a                    | 1,751 a      | 2,0075 |

Letras distintas en cada fila indican diferencias significativas (Tukey,  $P < 0,05$ ).

ducción de biomasa de 85% superior al testigo T4 (Figura 2b) el cual también a los 140 dde fue el de mayor producción, solamente superado a los 180 dde por el tratamiento T2 con un 26% más que T3. De igual manera, Ribaudó *et al.* (2006) reportan mayor biomasa en tomate; por su parte, Naiman *et al.*, (2009) reportan diferencias no significativas en biomasa aérea en trigo al aplicar PGPB en trigo.

Los pesos secos de raíz, flor y fruto no fueron significativamente diferentes entre tratamientos durante los muestreos (Tabla II). En peso seco de hoja se encontraron diferencias significativas a los 100 y 180 dde; a los 100 dde el mayor peso de hoja se obtuvo en el tratamiento T3 y el menor peso de hoja se presentó en el tratamiento T1; el mayor peso de hoja a los 180 dde fue del tratamiento T2 con 6,64g, y el menor peso con 3,12g fue para el testigo. Los pesos secos de

tallo mostraron diferencias significativas durante los muestreos realizados, excepto a los 180 dde; a los 60 dde el mayor peso de tallo se obtuvo en T1 y el menor peso se presentó en T3; en contraste a los 100 y 140 dde el mayor peso de tallo se alcanzó en T3 y el menor en T1 (Tabla II). En general, el tratamiento T1 no mostró efecto positivo en cuanto a la producción total de biomasa al no registrar diferencias en cuanto a peso seco de los órganos evaluados, excepto a los 60 dde donde el peso seco de tallo mostró diferencias significativas ( $P < 0,05$ ). Estos resultados concuerdan con otros estudios en fresa (Winik *et al.*, 2009; Pedraza

*et al.*, 2010). Sin embargo, principalmente en cereales, algunos autores reportan un efecto positivo en el peso seco de la planta por efecto de la inoculación por *Azospirillum*, ya sea con suministro de nutrientes químicos o sin ellos, en ambientes controlados de laboratorio o de campo, incluso con distintas técnicas de inoculación, acarreadores, dosis y etapas de inoculación (García *et al.*, 2007; Caballero, 2008).

#### Índices de crecimiento

La tasa de crecimiento relativo (TCR), la tasa de asimilación neta (TAN), la relación de área foliar (RAF) y la relación de peso foliar (RPF) no mostraron efectos significativos por la inoculación de *Azospirillum* y fertilización química o en combinación (Figura 3a-d). A pesar que no hubo diferencias significativas, el T3 presentó valores superiores para las variables RAF y RPF durante todos los muestreos. En el caso de las variables TCR y TAN el T1 registró los valores más altos a los

160 dde, aunque no fue estadísticamente superior; al ser la TAN un estimador de la actividad fotosintética (Sedano *et al.*, 2005), *Azospirillum* promueve la acumulación de fotoasimilados. Por otro lado, en el AFE, a los 160 dde se detectaron diferencias significativas resultando el tratamiento T1 con el valor más alto y T3 experimentó los menores valores (Figura 3e), lo que indica mayor fragilidad de las hojas e incremento del riesgo de pérdidas prematuras de tejido debido a una elevada AFE (Lee y Heuvelink, 2003), traducándose en un efecto negativo con la aplicación de *Azospirillum*. Se ha reportado previamente efectos tales como producción de bacteriocina por parte de 27 cepas de *Azospirillum* que inhibe el crecimiento de varias cepas del mismo género (Tapia *et al.*, 1990), inhibición de la actividad de nitrogenasa de otras bacterias (Drozdowicz y Ferreira, 1987) y del crecimiento de otras bacterias en cultivos mixtos (Holguin y Bashan, 1996). Otros efectos negativos de

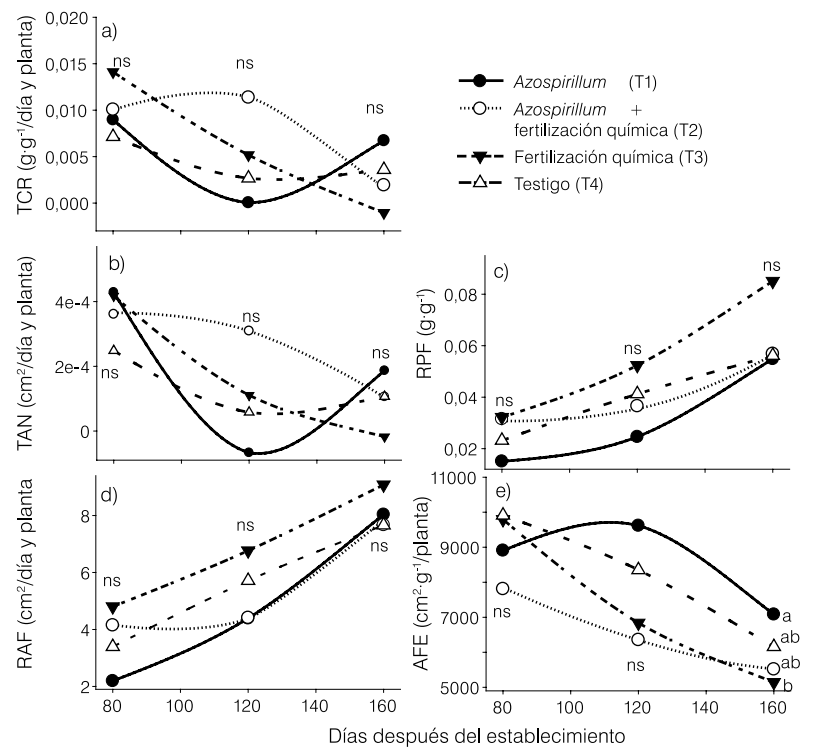


Figura 3. a: tasa de crecimiento relativa (TRC), b: tasa de asimilación neta (TAN), c: relación de peso foliar (RPF), d: relación de área foliar (RAF), e: área foliar específica (AFE) en tres tratamientos de fertilización y testigo. Letras distintas para el mismo número de dde en cada gráfica indican diferencias significativas; ns: diferencias no significativas (Tukey,  $P < 0,05$ ).

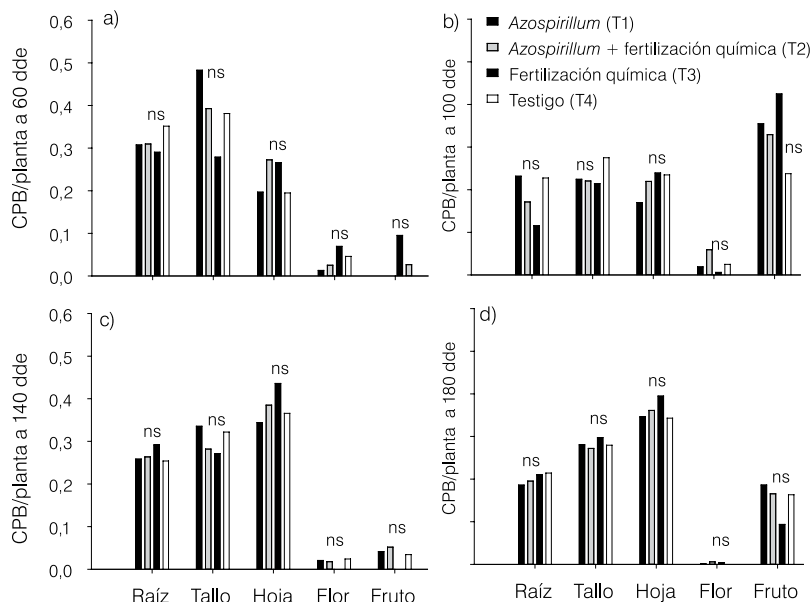


Figura 4. Coeficientes de partición de biomasa (CPB<sub>i</sub>) en diferentes órganos de plantas de fresa a los 60 (a), 100 (b), 140 (c) y 180 (d) días después del establecimiento en tres tratamientos de fertilización y testigo. ns: diferencias no significativas (Tukey, P<0,05).

*Azospirillum* y la mayor parte de los estudios comerciales en campo no están documentados en la bibliografía científica (Bashan y Holguín, 1997), particularmente los estudios hechos por entidades comerciales (Bashan, 1998b). Los resultados de cepas de GGPB que fallan en demostrar un efecto positivo o que inducen una respuesta negativa de la planta son rutinariamente descartados y sus efectos negativos raramente reportados (Nehl *et al.*, 1997).

#### Coeficientes de partición de biomasa

La distribución de biomasa entre los órganos de la planta expresada en el coeficiente de partición de biomasa no mostró diferencias significativas ( $p<0,05$ ) entre tratamientos en cada uno de los muestreos, lo que indica que ni *Azospirillum* ni la fertilización química o la combinación de ambos causó un efecto benéfico en el crecimiento de los órganos de la planta. A los 60 dde el coeficiente de partición de biomasa es mayor en el tallo de todos los tratamientos (Figura 4a), mientras que la mayor partición de biomasa es para los frutos en todos los tratamientos a los 100 dde, momento en

el cual se presenta la mayor producción de frutos durante el desarrollo del experimento (Figura 4b). A los 140 y 180 dde la mayor partición de biomasa se presenta en hojas (Figura 4c y d), lo que ha sido reportado con anterioridad por otros autores (Casierra y García, 2005). A lo largo del ciclo de crecimiento la menor partición de biomasa corresponde a las flores (Figura 4a-d).

#### Diámetro, peso y rendimiento del fruto

Los resultados mostraron diferencias significativas ( $p<0,05$ ) en diámetro ecuatorial, polar, tamaño y rendimiento del fruto. T3 sobresalió en la variable diámetro polar y ecuatorial mientras que T1 registró el menor valor. Este comportamiento fue igual para la variable peso del fruto. Los resultados de diámetro y peso de fruto obtenidos indican un menor desarrollo del fruto a causa de la inoculación de la bacteria, al mostrar valores más bajos en comparación con los otros tratamientos y, por consiguiente, un menor ren-

dimiento (Figura 5a-d). De igual forma, Castillejo *et al.* (2011) reportan que la inoculación con *A. brasilense* no ejerce efecto sobre los diámetros del fruto de fresa.

El rendimiento de los tratamientos T2 y T3 fueron estadísticamente superiores al resto con 143 y 158 g/planta, respectivamente, por lo que cabe pensar que la fertilización química promueve mayor productividad; por otro lado, T1 reportó un efecto nulo al mostrar rendimientos estadísticamente iguales al testigo (T4) con 91 y 105 g/planta, respectivamente (Figura 5d). Estos datos concuerdan con los de García *et al.* (2007) y Pecina *et al.* (2005), quienes no encontraron un efecto significativo al utilizar esta bacteria en maíz y sorgo, lo que se atribuye a la diversidad de factores ambientales en la región de evaluación (características fisicoquímicas del suelo, clima, genotipo y cepa) que produjeron respuestas inconsistentes a la biofertilización. También se han demostrado

efectos nulos o negativos en rendimiento de otros cultivos como sorgo y maíz (Pecina *et al.*, 2005; García *et al.*, 2007). Por el contrario, otros autores reportan incrementos de rendimiento al inocular con *Azospirillum* en arroz (Rahmati *et al.*, 2011), trigo (Döbbelaere *et al.*, 2002), algodón (Bashan *et al.*, 1998b), garbanzo y haba (Hamaoui *et al.*, 2001). Estos efectos se han atribuido principalmente al mejoramiento en el desarrollo de la raíz y al incremento subsecuente en la tasa de asimilación de agua y a la utilización de minerales del suelo (Döbbelaere *et al.*, 2002).

#### pH y sólidos solubles totales

El pH del fruto mostró diferencias significativas ( $p<0,05$ ) en los nueve muestreos realizados durante la etapa de fructificación (90-180 dde; Tabla III). Éste osciló entre 3,3 y 3,5 siendo menor en el testigo durante los primeros seis muestreos; sin embargo, T4 registro valores elevados en las últimas tres fechas de muestreo, por lo que los frutos producidos bajo el tratamiento T4 presentaron menor acidez al finalizar el ciclo.

Por otro lado, la cantidad de sólidos solubles totales

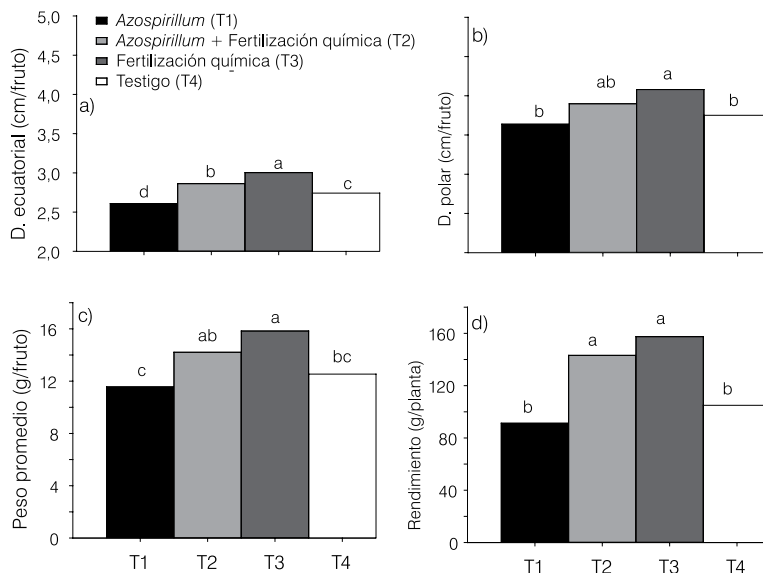


Figura 5. Diámetros ecuatorial (a) y polar (b), peso promedio de fruto (c) y rendimiento (d) en fresa, en tres tratamientos de fertilización y testigo. Letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas (Tukey, P<0,05).



TABLA III  
PH Y SÓLIDOS SOLUBLES (°BRIX) EN FRESA BAJO CUATRO TRATAMIENTOS DE FERTILIZACIÓN DURANTE ETAPA DE FRUCTIFICACIÓN (90-160 DDE)

| Muestreo | Tratamientos |        |        |        | Media |
|----------|--------------|--------|--------|--------|-------|
|          | T1           | T2     | T3     | T4     |       |
|          | pH           |        |        |        |       |
| M1       | 3,46 b       | 3,46 b | 3,49 a | 3,44 c | 3,46  |
| M2       | 3,43 b       | 3,45 a | 3,36 c | 3,31 d | 3,39  |
| M3       | 3,44 c       | 3,46 b | 3,50 a | 3,34 d | 3,44  |
| M4       | 3,44 b       | 3,53 a | 3,42 c | 3,42 c | 3,45  |
| M5       | 3,40 b       | 3,41 a | 3,39 c | 3,35 d | 3,39  |
| M6       | 3,54 b       | 3,48 c | 3,57 a | 3,44 d | 3,51  |
| M7       | 3,47 b       | 3,35 d | 3,39 c | 3,54 a | 3,44  |
| M8       | 3,52 b       | 3,50 c | 3,37 d | 3,56 a | 3,49  |
| M9       | 3,43 c       | 3,4 d  | 3,47 b | 3,53 a | 3,46  |
|          | °Brix        |        |        |        |       |
| M1       | 8,6 b        | 7,9 c  | 8,8 a  | 6,7 d  | 8,00  |
| M2       | 10,1 b       | 8,4 d  | 10,3 a | 9,1 c  | 9,48  |
| M3       | 9,1 c        | 9,4 b  | 10,3 a | 8,2 d  | 9,25  |
| M4       | 9,0 b        | 7,9 d  | 9,9 a  | 8,9 c  | 8,93  |
| M5       | 7,1 d        | 8,8 a  | 8,2 b  | 7,6 c  | 7,93  |
| M6       | 7,1 d        | 7,6 c  | 9,4 a  | 8,4 b  | 8,13  |
| M7       | 9,6 b        | 7,5 d  | 8,1 c  | 10,0 a | 8,80  |
| M8       | 8,0 c        | 8,5 b  | 9,2 a  | 7,9 d  | 8,40  |
| M9       | 7,3 c        | 7,2 d  | 10,5 a | 9,7 b  | 8,68  |

Letras distintas en cada fila indican diferencias significativas (Tukey, P<0,05).

(°Brix) registro diferencias significativas (p<0,05). El tratamiento T3 fue estadísticamente superior en °Brix al resto de los tratamientos en siete de nueve muestreos, en promedio de los siete muestreos el T3 mostró 1,3°Brix más que el testigo. Por otro lado, el T1 fue estadísticamente superior al testigo en cinco de nueve muestreos con 0,3°Brix en promedio (Tabla III). Ello indica un aumento de sólidos solubles del fruto por acción de la fertilización química por sobre todos los tratamientos, pero también se tiene un efecto positivo del *Azospirillum* respecto al testigo en cinco de los muestreos. Al respecto Casierra *et al.* (2011) exponen que una TAN superior, resulta en una mayor acumulación de sólidos solubles totales en los frutos de fresa, debido al transporte de fotoasimilados proporcional a la cantidad de fotosintatos producidos; resultados que concuerdan con los valores de T1 respecto a T4, donde el tratamiento con *A. brasilense* experimentó mayores valores en TAN; pero discrepan en los

tratamientos con fertilización química (T2 respecto a T3).

### Conclusiones

La concentración de *A. brasilense* empleada causó efectos nulos o inhibitorios sobre el crecimiento y rendimiento del cultivo; manifestado en reducción del área y espesor foliar, aumentando la fragilidad de la planta por los valores más altos obtenidos en AFE. Al mismo tiempo, lleva a una producción de biomasa inferior, provocando reducción del tamaño y peso del fruto. Por tal motivo se sugiere emplear dosis inferiores en futuras investigaciones. De manera general, se puede mencionar que la fertilización química produce efectos positivos en la calidad y rendimiento del fruto, siendo el mejor momento de respuesta para las variables  $N_h$ , producción de biomasa,  $N_{fr}$  y AF a los 35, 100, 145 y 35 dde, respectivamente. En AP, LR,  $N_{fr}$ , TCR, TAN, RAF y RPF no se detectaron diferencias significativas en ninguna fase del crecimiento del cultivo.

### REFERENCIAS

- Adesemoye AO, Kloepper WJ (2009) Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85: 1-12.
- Aguilar GL, Escalante EJA, Fucikovskiy ZL, Tijerina CHL, Engleman EM (2005) Área foliar, tasa de asimilación neta, rendimiento y densidad de población en girasol. *Terra Latinoam.* 23: 303-310.
- Albretch SL, Okon Y, Lonnquist J, Burris RH (1981) Nitrogen fixation by corn-*Azospirillum* associations in a temperate climate. *Crop Sci.* 21: 301-306.
- AOAC (1990) *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VI, EEUU. pp.1000-1050.
- Bashan Y (1986) Enhancement of wheat roots colonization and plant development by *Azospirillum brasilense* Cd. following temporary depression of the rhizosphere microflora. *Appl. Env. Microbiol.* 51: 1067-1071.
- Bashan Y (1990) Short exposure to *Azospirillum brasilense* Cd inoculation enhanced proton efflux of intact wheat roots. *Can. J. Microbiol.* 36: 419-425.
- Bashan Y (1998a) *Azospirillum* plant growth-promoting strains are nonpathogenic on tomato, pepper, cotton, and wheat. *Can. J. Microbiol.* 44: 168-174.
- Bashan Y (1998b) *Azospirillum* plant growth-promoting strains are nonpathogenic on tomato, pepper, cotton, and wheat. *Can. J. Microbiol.* 44: 168-174.
- Bashan Y, Holguin G (1997) *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *Can. J. Microbiol.* 43: 103-121.
- Bashan Y, Levanony H (1990) Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge for agriculture. *Can. J. Microbiol.* 36: 591-608.
- Bünemann EK, Schwenke GD, Van Zwieten L (2009) Impact of agricultural inputs on soil organisms. A review. *Soil Res.* 44: 379-406.
- Caballero MJ (2008) *El Género Azospirillum*. Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno, Universidad Nacional Autónoma de México. 565 pp.
- Casierra PF, Peña OJ, Vargas MA (2011) Propiedades fisicoquímicas de fresas (*Fragaria* sp.) cultivadas bajo filtros fotoselectivos. *Rev. Fac. Nac. Agr.* 64: 6221-6228.
- Casierra PF, García N (2005) Crecimiento y distribución de materia seca en cultivares de fresa (*Fragaria* sp.) bajo estrés salino. *Agron. Col.* 23: 83-89
- Castillejo LE, Mena HG, Angoa MV, Vázquez G, Venegas J, Oyoque G (2011) Determinación del efecto de *Azospirillum* sobre el crecimiento y el rendimiento de fresa cultivada en invernadero. *1er. Congr. Nac. de Investigación en Ciencia y Tecnología en Ingeniería Bioquímica*. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. CIIDIR-IPN. Michoacán, México.
- Díaz I, Iglesias MC (2003) Inoculación con *Azospirillum* sp. en cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* vr. Coloso), bajo invernáculo. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.
- Döbbelaere S, Croonenborghs A, Thys A, Ptacek D, Okon Y, Vanderleyden J (2002) Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. *Biol. Fertil. Soils.* 36: 284-297.
- Drozdowicz A, Ferreira GM (1987) Nitrogenase activity in mixed cultures of *Azospirillum* with other bacteria. *Zentralbl. Mikrobiol.* 142: 487-493.
- Fayez M, Daw ZY (1987) Effect of inoculation with different strains of *Azospirillum brasilense* on cotton (*Gossypium barbadense*). *Biol. Fertil. Soils.* 4: 91-95.
- Fallik E, Okon Y, Fischer M (1988) Growth response of maize roots to *Azospirillum* inoculation: effect of soil organic matter content, number of rhizosphere bacteria and timing of inoculation. *Soil Biol. Biochem.* 20: 45-49.
- Franco-Correa M (2009) Utilización de los actinomicetos en procesos de biofertilización. *Rev. Per. Biol.* 16: 239-242.
- García OJ, Moreno MV, Rodríguez LI, Mendoza HA, Mayek PN (2007) Efecto de cepas de *Azospirillum brasilense* en el crecimiento y rendimiento del grano de maíz. *Rev. Fitotec. Mex* 30: 305-310.
- Gunarto I, Adachi K, Senboku T (1999) Isolation and selection of indigenous *Azospirillum* spp. from a subtropical island and effect of inoculation on growth of lowland rice under several levels of N application. *Biol. Fertil. Soils* 28: 129-135.
- Hamaoui B, Abbadi JM, Burdman S, Rashid A, Sarig S, Okon Y (2001) Effects of inoculation with *Azospirillum brasilense* on chickpeas (*Cicer arietinum*) and faba beans (*Vicia faba*) under different growth conditions. *Agronomie* 21: 553-560.

- Holguin G, Bashan Y (1996) Nitrogen-fixation by *Azospirillum brasilense* Cd is promoted when co-cultured with a mangrove rhizosphere bacterium (*Staphylococcus* sp.). *Soil Biol. Biochem.* 28: 1651-1660.
- Kapulnik Y, Okon Y, Henis Y (1987) Yield response of spring wheat cultivars (*Triticum aestivum* and *T. turgidum*) to inoculation with *Azospirillum brasilense* under field conditions. *Biol. Fertil. Soils.* 4: 27-35.
- Kloepper J, Lifshitz R, Schroth M (1989) Free-living bacterial inoculate for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol.* 7: 39-43.
- Lee JH, Heuvelink E (2003) Simulation of leaf area development based on dry matter partitioning and specific leaf area for cut *Crysanthemum*. *Ann Bot.* 91: 319-327.
- Millet E, Avivi Y, Feldman M. (1984) Yield response of various wheat genotypes to inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Plant and Soil* 80: 261-266.
- Murty MG, Ladha JK (1988) Influence of *Azospirillum* inoculation on the mineral uptake and growth of rice under hydroponic conditions. *Plant Soil* 108: 281-285.
- Naiman DA, Latrónico A, García DSIE (2009) Inoculation of wheat with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: Impact on the production and culturable rhizosphere microflora. *Eur. J. Soil Biol.* 45: 44-51.
- Nehl DB, Allen SJ, Brown JF (1997) Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective. *Appl. Soil Ecol.* 5: 1-20.
- Pecina QV, Díaz FA, Williams AH, Rosales RE, Garza CI (2005) Influencia de fecha de siembra y biofertilizantes en sorgo. *Rev. Fitotec. Méx.* 28: 389-392.
- Pedraza RO, Motok J, Salazar SM, Ragout AL, Mentel MI, Tortora ML, Guerrero MM, Winik BC, Díaz-Ricci JC (2010) Growth-promotion of strawberry plants inoculated with *Azospirillum brasilense*. *World J Microbiol Biotechnol.* 26: 265-272.
- Rahmati YK, Reza AM, Reza RM, Khavazi K, Zargari K (2011) Response of yield and yield components of rice (*Oryza sativa* L.) to *Pseudomonas fluorescens* and *Azospirillum lipoferum* under different nitrogen levels. *Am-Euras. J. Agric. Env. Sci* 10: 387-395.
- Ribaudo MC, Krumpholz M E, Cassa DF, Bottini R, Cantore LM, Cura A (2006) *Azospirillum* sp. promotes root hair development in tomato plants through a mechanism that involves ethylene. *J Plant Growth Regul.* 24: 175-185.
- Rotela DA, Iglesias MC, Díaz I, Miceli GE (2001) Inoculación y co-inoculación con *Azospirillum* sp. en Algodón (*Gossypium hirsutum*) var. Guazuncho. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.
- Rueda PE, Barrón HJ, Hallman J (2009) *Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal*. 1ª ed. Plaza y Valdés. México. 141 pp.
- Sedano CG, Gonzales H VA, Engelman EM, Villanueva V C (2005) Dinámica del crecimiento y eficiencia fisiológica de la planta de calabacita. *Rev. Chapingo Ser. Hort.* 11: 91-97.
- SIAP (2011) *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera*. Sagarpa. México. [www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx) (Cons. 09/2011).
- Star L, Matan O, Dardanelli SM, Kapulnik Y, Burdman S, Okon Y (2012) The *Vicia sativa* spp. nigra Rhizobium leguminosarum bv. viciae symbiotic interaction is improved by *Azospirillum brasilense*. *Plant Soil* 356: 165-174.
- Tapia HA, Mascarúa EMA, Caballero MJ (1990) Production of bacteriocins and siderophore-like activity by *Azospirillum brasilense*. *Microbios* 64: 73-83.
- Walker V, Coullerot O, Von FA, Bellvert F, Jansa J, Maurhofer M, Bally R, Moëne-Loco Y, Comte G (2012) Variation of secondary metabolite levels in maize seedling roots induced by inoculation with *Azospirillum*, *Pseudomonas* and *Glomus* consortium under field conditions. *Plant Soil* 356: 151-163.
- Winik BC, Guerrero MM, Raúl OP (2009) Colonization of strawberry (*Fragaria ananassa*) plant tissues by *Azospirillum brasilense*. *Acta Microsc.* 18: 675-676.