

**INFLUENCIA DE LA INOCULACIÓN DE HONGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES Y *Azospirillum* sp EN
EL CRECIMIENTO, RENDIMIENTO Y CONTENIDO
NUTRICIONAL DE TOMATILLO (*Physalis ixocarpa* Brot.)**

MARI CARMEN LÓPEZ PÉREZ

TESIS

**Presenta como requisito parcial para
obtener el grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN HORTICULTURA**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
AGRARIA
ANTONIO NARRO**

**Saltillo, Coahuila, México
Junio de 2014**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

Influencia de la inoculación de Hongos Micorrízicos Arbusculares y
Azospirillum sp en el crecimiento, rendimiento y contenido nutricional de
tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.)

Por
Mari Carmen López Pérez

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada
como requisito parcial para optar al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
EN HORTICULTURA

COMITÉ PARTICULAR

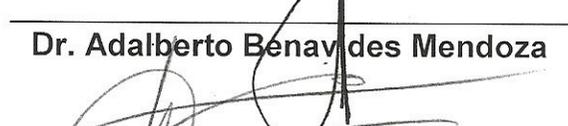
Asesor principal:


Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal

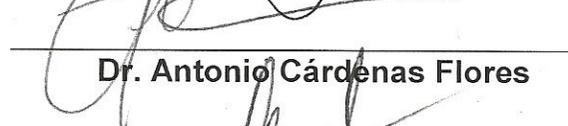
Asesor:


Dr. Valentín Robledo Torres

Asesor:


Dr. Adalberto Benavides Mendoza

Asesor:


Dr. Antonio Cárdenas Flores


Dr. Fernando Ruiz Zárate
Subdirector de Postgrado

Saltillo, Coahuila, México, Junio de 2014

DEDICATORIAS

Con todo cariño y amor para las personas importantes en mi vida, que siempre estuvieron listas para brindarme toda su ayuda y motivarme a obtener este logro, a ustedes por siempre mi corazón y agradecimiento:

A mis padres Francisco y Mari

A mi hermano Tony

A mi tía Coqui y sobrinos Uriel y Areli

A mi abuelita Angelita

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por los conocimientos aportados para mi formación como profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al programa de la Maestría en Ciencias en Horticultura.

A la Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal por su asesoría, tiempo y apoyo durante la realización de esta investigación.

Al Dr. Valentín Robledo Torres por su asesoría y apoyo para la realización de este trabajo.

Al Dr. Adalberto Benavides Mendoza por su asesoría y apoyo para la realización de este trabajo.

Al Dr. Antonio Cárdenas Flores por su asesoría y apoyo para la realización de este trabajo.

Al Dr. Antonio Juárez por su apoyo y asesoría en el área estadística.

A la T.A. Martina De la Cruz y la T.A. Laura María Duron por su amistad y apoyo en la finalización de este trabajo.

A la Biol. Silvia Guerrero y Lic. Ma. Del Socorro Mireles por las facilidades prestadas para análisis de laboratorio.

A Fabián Labrada por su apoyo brindado.

COMPENDIO

**INFLUENCIA DE LA INOCULACIÓN DE HONGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES Y *Azospirillum* sp EN EL CRECIMIENTO,
RENDIMIENTO Y CONTENIDO NUTRICIONAL DE TOMATILLO
(*Physalis ixocarpa* Brot.)**

Por

MARI CARMEN LÓPEZ PÉREZ

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

Saltillo, Coahuila, México, Junio de 2014.

Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal –Asesor–

Palabras clave: Tetraploide, UFC, colonización micorrízica, solución Steiner, minerales.

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la inoculación de *Azospirillum* sp y *Rhizophagus intraradices* sobre las características de crecimiento, rendimiento y contenido nutricional de tomatillo tetraploide (*Physalis ixocarpa* Brot.), asimismo al final del ciclo de cultivo se cuantificaron la concentración de UFC mL⁻¹ (Unidades Formadoras de Colonias) de

Azospirillum, el porcentaje de colonización micorrízica y número de esporas de *R. intraradices*.

El experimento consistió en la inoculación individual y en conjunto de *Azospirillum* sp y *Rhizophagus intraradices*; en cada planta de tomatillo se aplicó 10^8 UFC mL⁻¹ y 0.1 g de producto ENDOVIT (LIDAG) (40 esporas), respectivamente. En el tratamiento del hongo micorrízico se emplearon formulaciones comerciales cuyo contenido se indicaba como *Glomus intraradices*, cabe aclarar que la taxonomía actual cambió de *G. intraradices* a *Rhizophagus intraradices*; es por ello que en este trabajo se dirige a éste como *R. intraradices*.

El diseño experimental utilizado fue factorial 4*2 con un arreglo completamente al azar. Considerándolo como primer factor a *R. intraradices*, *Azospirillum* sp, *R. intraradices* + *Azospirillum* sp, y un tratamiento testigo sin la adición de estos dos microorganismos. En el segundo factor los tratamientos fueron solución Steiner completa y solución Steiner incompleta (50% de N y P). También se evaluaron las interacciones generadas por todos los tratamientos.

El efecto de la inoculación de *R. intraradices* y *Azospirillum* sp en tomatillo fue que *R. intraradices**100% de N y P aumentó los frutos cosechados, además *R. intraradices**50% de N y P incrementó el P en follaje. La interacción de ambos microorganismos promovió respuestas favorables en tomatillo; *R. intraradices* + *Azospirillum* sp + solución completa incrementaron el K en raíz, el contenido de vitamina C también fue favorecido por los dos microorganismos comparado con el testigo. *Azospirillum* alcanzó 2.2×10^{13} de UFC mL⁻¹ y *R.*

intraradices colonizó un 47% de de la raíz. El uso de *R. intraradices* y *Azospirillum* sp bajo fertilización completa modifican las características de crecimiento, rendimiento y bioquímicas del fruto de tomatillo tetraploide.

ABSTRACT

INFLUENCE OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI AND *AZOSPIRILLUM* INOCULATION ON THE GROWTH, YIELD AND NUTRITIONAL CONTENT OF TOMATILLO (*Physalis ixocarpa* Brot.)

By

MARI CARMEN LÓPEZ PÉREZ

MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Saltillo, Coahuila, Mexico, June 2014.

Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal –Adviser–

Keywords: Tetraploid, CFU, mycorrhizal colonization, Steiner solution, minerals.

The aim of this study was to determine the effect of inoculation of *Azospirillum* sp and *Rhizophagus intraradices* on growth characteristics, yield and nutrient content of tetraploid tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.), also at the end of the crop cycle were quantified the UFC mL⁻¹ (units colony forming) of *Azospirillum*, the mycorrhizal colonization percentage and spore numbers of *R. intraradices*.

The experiment consisted in independent and the mixture inoculation of *Azospirillum* sp and *Rhizophagus intraradices*; on each tomatillo plant was applied 10^8 UFC mL⁻¹ and 0.1 g of ENDOVIT (LIDAG) product (40 spores), respectively. In the treatment of mycorrhizal fungi were employed commercial formulations whose content is indicated as *Glomus intraradices*, clarifying that the current taxonomy changed of *G. intraradices* to *Rhizophagus intraradices*; is why in this paper is addressed to it as *R. intraradices*.

The experimental design was a 4*2 factorial arrangement with completely random. Whereas as the first factor was applied to *R. intraradices*, *Azospirillum* sp, also *R. intraradices* + *Azospirillum* sp, and control treatment without the addition of these two microorganisms. In the second factor the treatments were complete solution of Steiner and incomplete solution of Steiner (50% of N and P).

The effect of inoculation of *R. intraradices* and *Azospirillum* sp in tomatillo was as follows; *R. intraradices**100% of N, P increased the harvested fruits, besides *R. intraradices**50% of N, P increased the P in foliage. The interaction of both microorganisms promoted favorable responses in tomatillo; *R. intraradices* + *Azospirillum* sp + complete solution increased K in root, the content of vitamin C was also enhanced by the two microorganisms. Induced *Azospirillum* 2.2×10^{13} CFU mL⁻¹ and *R. intraradices* promoted 47% of mycorrhizal colonization. Using *R. intraradices* and *Azospirillum* sp under complete fertilization is modified growth characteristics, yield and biochemical of tetraploid tomatillo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
Objetivo general	4
Objetivos específicos	4
Hipótesis.....	5
II. REVISIÓN DE LITERATURA	6
2.1. Aspectos generales e importancia del cultivo de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.)	6
2.2. Hongos micorrízicos arbusculares	7
2.3. Mecanismo de colonización en raíces.....	8
2.4. Función de <i>Rhizophagus</i> en la planta	9
2.5. Uso de <i>Rhizophagus</i> en la agricultura.....	10
2.6. <i>Azospirillum</i>	11
2.7. Mecanismo de colonización en raíces.....	12
2.8. <i>Azospirillum</i> como bacteria promotora de crecimiento vegetal.....	12
2.9. Uso de <i>Azospirillum</i> en la agricultura	14
2.10. Interacción entre <i>Rhizophagus</i> y <i>Azospirillum</i>	14
III. ARTÍCULO.....	17
INFLUENCIA DE <i>Azospirillum</i> sp y <i>Rhizophagus intraradices</i> SOBRE LOS CARACTERES MORFOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DE TOMATILLO (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.).....	17
IV. CONCLUSIONES.....	48
V. LITERATURA CITADA	49

ÍNDICE DE TABLAS ARTÍCULO

	Pág.
Tabla 1. Variables agronómicas medidas en las plantas de tomatillo inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp y <i>Rhizophagus intraradices</i>	27
Tabla 2. Variables evaluadas en las plantas de tomatillo para determinar la productividad.....	29
Tabla 3. Contenido de minerales en los diferentes órganos de las plantas de tomatillo inoculadas con <i>Azospirillum</i> sp y <i>Rhizophagus intraradices</i>	31
Tabla 4. Contenido de vitamina C en los frutos de tomatillo, y comportamiento de <i>Rhizophagus intraradices</i> y <i>Azospirillum</i> sp en raíces y/o sustrato.....	34

I. INTRODUCCIÓN

El tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) es considerado como una de las hortalizas de mayor importancia en México (Robledo-Torres *et al.*, 2011). Este cultivo demanda una gran cantidad de fertilizantes, mismos que tienden a volatilizarse o lixiviarse (Castellano y David, 2014), además de éste problema esta especie presenta baja productividad por el uso de genotipos criollos (Ponce *et al.*, 2011) así como la poca disponibilidad del agua de riego (López *et al.*, 2009). Ante esta situación es necesario considerar nuevas alternativas de producción, como el uso de microorganismos benéficos tales como hongos micorrízicos arbusculares y rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas que favorezcan su rendimiento.

En ese sentido las micorrizas son asociaciones simbióticas de hongos con la raíz de las plantas (Peña *et al.*, 2007) que forman simbiosis con el 80% de las plantas terrestres. De estos simbioses de la raíz los hongos denominados micorrizas arbusculares (HMA) pertenecientes al Phylum Glomeromycota, son las asociaciones más comunes que se establecen con la mayoría de especies de plantas el orden Glomales con el género *Rhizophagus* (Kloppholz *et al.*, 2011). Dichas hongos micorrízicos tienen el potencial, en ciertas condiciones, de contribuir en la toma de nutrientes como fósforo y nitrógeno (Fitter *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2013) y en menor medida Ca, Mg, K,

Na, Fe, Mn, B, Zn y Cu (Hart y Forsythe, 2012). Además inducen mayor actividad antioxidante en plantas bajo estrés salino (Abdel-Latef y Chaoxing, 2011), mejoran el balance hídrico así como el ajuste osmótico de la planta (Guadarrama *et al.*, 2004; Wu y Xia, 2006) e inducen tolerancia a metales pesados como el Cu, Cd y Pb (Miransari, 2011; Hu *et al.*, 2013).

Referente a las rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR por sus siglas en inglés REF), el género *Azospirillum* agrupa bacterias edáficas benéficas de vida libre o asociadas a raíces de las plantas, consideradas de gran versatilidad metabólica, presentan la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (Barassi *et al.*, 2007), además de sintetizar fitorreguladores como ácido indol-3-acético, auxinas, óxido nítrico, ácido abscísico y carotenoides (Perrig *et al.*, 2007). Estas bacterias inducen células tipo quistes en la raíz, además de incrementar la absorción del agua (Holguín *et al.*, 2003), induciendo a su vez la elongación radical así como la producción de sideróforos que incrementan la disponibilidad del Fe (Bashan *et al.*, 2004; Carcaño *et al.*, 2006).

La aplicación simultánea de estos microorganismos a cultivos agrícolas es reportado por Panneerselvam y Thamizhiniyan (2011) quienes encontraron un aumento en la longitud de la raíz, número de hojas, peso fresco y seco de *Vigna radiata* al aplicar *G. fasciculatum* y *Azospirillum* sp. Mientras que en cebolla se apreció un aumento en la longitud de planta, diámetro ecuatorial y polar así como en el rendimiento de bulbo de cebolla como respuesta a la aplicación conjunta de *G. mosseae* y *A. brasilense* (Sridevi y Ramakrishnan,

2010). Así mismo un incremento del contenido de licopeno, actividad antioxidante y contenido de K en fruto de tomate, aplicando *A. lipoferum*, *G. intaradics*, *G. mossea* y *G. etanicatum* (Ordookhani *et al.*, 2010).

Considerando que ambos microorganismos mejoran significativamente el crecimiento, desarrollo y rendimiento de numerosas especies vegetales de interés agrícola, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la co-inoculación de *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum* sp sobre las características de crecimiento, rendimiento y contenido nutricional de tomatillo tetraploide desarrollado bajo condiciones de invernadero.

Objetivo general

Determinar la influencia de la inoculación de *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum* sp sobre las características de crecimiento, rendimiento y contenido nutricional de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.).

Objetivos específicos

- Evaluar los efectos de la aplicación independiente y en conjunto de *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum* sp sobre plantas de tomatillo, fertirrigadas con solución Steiner modificada.
- Determinar el porcentaje de colonización micorrízica de *Rhizophagus intraradices* y estimar la concentración de *Azospirillum* en raíces de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.).
- Evaluar los caracteres agronómicos y contenido nutricional de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.).

Hipótesis

La inoculación de *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum* sp influyen en las características de crecimiento, rendimiento y contenido nutricional de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Aspectos generales e importancia del cultivo de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.)

El tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) es una especie alógama obligada, de la familia de las solanáceas, de número cromosómico diploide $2n=2x=24$ (Grimaldo, 1999). En México se considera un cultivo de gran importancia por su superficie cultivada y demanda de las hortalizas, teniendo una producción nacional de alrededor de 700 mil toneladas (SIAP-SAGARPA, 2014), con una media de producción de $12 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, sin embargo en trabajos experimentales su potencial productivo ha alcanzado desde 40 hasta $80 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Peña, 2001).

Algunos de los problemas que limitan el incremento en la producción del tomatillo son la poca disponibilidad y alto costo del agua de riego (López *et al.*, 2009), al uso de genotipos criollos (Ponce *et al.*, 2011), y la demanda de nutrientes (Pérez y Granados, 2001) cuya eficiencia de uso es baja (Ramos *et al.*, 2002).

Dada su importancia económica y social, se deben mejorar los factores que intervienen en su proceso productivo, como el buen manejo de la fertilización (Pérez y Granados, 2001), el mejoramiento genético como la

multiplicación del número cromosómico, por ejemplo la generación de tetraploides (Robledo *et al.*, 2011), además del uso de microorganismos benéficos como bacterias promotoras de crecimiento y HMA (Velasco, 2001).

2.2. Hongos micorrízicos arbusculares

Las micorrizas arbusculares son relaciones simbióticas mutualistas que se establecen entre un selecto grupo de hongos (Glomeromycota) y la gran mayoría de las plantas (Gaur y Kaushik, 2012).

Los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) se caracterizan por presentar un crecimiento intra e intercelular en la corteza de la raíz y por formar dos tipos de estructuras, arbusculos y vesículas (Quilambo, 2003).

Los HMA son capaces de colonizar las células corticales y epidérmicas de las raíces pero no de atravesar el sistema vascular de estas. Las hifas se ramifican y penetran las paredes de las células corticales diferenciándose y formando estructuras conocidas como arbusculos. A pesar de atravesar las paredes celulares, los arbusculos no afectan la membrana plasmática, se invaginan y desarrollan alrededor de ella formando un nuevo compartimento apoplástico (Giovannetti *et al.*, 2004). Los arbusculos presentan periodos de vida cortos. Algunos HMA también pueden presentar vesículas, que son estructuras de almacenamiento de compuestos de carbono que se forman en la parte terminal de las hifas. Las hifas intraradicales y las esporas son estructuras de propagación (Harrison, 2005).

En dicha simbiosis hay una transferencia de nutrimentos minerales del hongo a la planta, principalmente fosfato, mientras que la planta hospedante proporciona fotoasimilados necesarios para el crecimiento y reproducción de los hongos (Barrer, 2009).

2.3. Mecanismo de colonización en raíces

El desarrollo de la simbiosis comienza antes del contacto físico entre las raíces de la planta y el HMA cuando las esporas en el suelo germinan y reconocen las señales liberadas por las raíces, induciendo crecimiento de las hifas y ramificación (factores de ramificación), seguido por la diferenciación de las estructuras de adhesión de hongos (Parniske, 2008). A su vez, la planta responde a señales fúngicas (factores Myc) con las modificaciones en la expresión génica (Ramírez y Rodríguez, 2010).

Las hifas intercelulares penetran en la pared celular de las células de la raíz y a continuación se ramifican en la membrana plasmática del huésped, la cual invagina, formando una membrana periarbuscular (Ramos *et al.*, 2011). El intenso flujo de iones, azúcares y aminoácidos se lleva a cabo en los arbusculos y muy probablemente en otras interfaces de célula-célula, donde las bombas, transportadores secundarios y canales de plantas y hongos están funcionando (Schüßler *et al.*, 2006).

Cruz *et al.* (2007) demostró que el N es absorbido por el micelio en la forma de nitrato o de amonio, e incorporado en compuestos orgánicos por la

glutamina sintetasa. La glutamina producida se introduce al ciclo de la urea, que conduce a la síntesis de arginina, que se carga en vescículas, ésta se transporta a lo largo de las hifas dentro de la raíz, donde la arginina se mueve fuera de la vescícula y se carga en el brazo anabólico del ciclo de la urea con el fin de ser degradados, que conduce a un aumento de la concentración de urea. En la presencia de ureasa activa, la urea se puede transformar en amonio y dióxido de carbono. Finalmente, el nitrógeno se transfiere a la raíz en forma de amonio.

Tanto la H⁺-ATPasa de la membrana plasmática de HMA y planta extruden protones en la interfaz y fuera de la célula fúngica creando un gradiente electroquímico a través de las membranas que energiza el transporte secundario de fosfato inorgánico, amonio, nitrato, potasio, sacarosa, glucosa y fructosa. La sacarosa hidrolizada (probablemente por invertasas) y azúcares son transportados a las células fúngicas a través de transportadores de monosacáridos. Las oscilaciones en el flujo de Ca²⁺ y cambios de pH inducen la despolarización de la membrana durante la absorción de iones, lo que resulta en firmas específicas de Ca²⁺ y H⁺ para la etapa de la interacción de micorrizas (Ramos *et al.*, 2011).

2.4. Función de *Rhizophagus* en la planta

En la simbiosis de *Rhizophagus* con las raíces de las plantas los beneficios son múltiples, los HMA proveen a la planta de fósforo poco soluble (Velasco *et al.*, 2001), también se han encontrado efectos favorables sobre la

captación de otros elementos poco móviles en el suelo como Zn, Cu y NH_4^+ aunque éste si es móvil (Gianinazzi y Azcón, 1991), mejoran el balance hídrico de las plantas (Guadarrama *et al.*, 2004), protegen contra la herbivoría (Kula *et al.*, 2005) y patógenos, aportan tolerancia a elementos tóxicos (González, 2004) y al parecer la capacidad de producir hormonas como ácido abscísico, giberelinas, auxinas y citocininas (Hetrick, 1991).

Existen muchos estudios sobre el efecto de la inoculación de hongos micorrízicos en plantas. Chacón y Cuenca (1998) encontraron que la absorción de nitrógeno y fósforo fue considerablemente aumentada por la presencia de las micorrizas. Estudios en invernadero demostraron que la asociación de los HMA con las plantas produce diversos cambios y/o modificaciones a nivel fisiológico, como incrementos en actividad fotosintética, por efecto de la mayor capacidad de fijación de CO_2 y, por consiguiente, el incremento de las tasas de crecimiento y biomasa producidas (Olalde, 1997), además de cambios en la morfología de la raíz por la producción de hormonas (Hetrick, 1991).

2.5. Uso de *Rhizophagus* en la agricultura

Diversos estudios arrojan resultados interesantes acerca de la interacción de *Rhizophagus* y cultivos agrícolas. Se ha demostrado la eficiencia de *G. intraradices* para incrementar la altura de tallo de maíz (Banni y Faituri, 2013a), *G. clarum* aumentó la altura y diámetro de tallo en chile (Olawuyi, *et al.* 2014) y *G. fasciculatum* el peso seco de maíz (Banni y Faituri, 2013b).

También se ha evaluado a *G. intraradices* en plantas de chile, y *G. deserticola* en tomate donde encontraron un mayor rendimiento (Selvakumar y Thamizhiniyan, 2011; Wahb-Allah *et al.*, 2014).

La calidad nutricional también ha sido modificada por la aplicación de dicho HMA, Abdel-Latef (2013) demostró que la absorción de P en follaje de chile se estimuló por la inoculación *G. mosseae*. Baslam *et al.* (2013) reportan que las plantas de lechuga fertilizadas con un nivel bajo de P y N, casi todos los macro y micro nutrientes (P, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn, Zn y S) se incrementaron por la colonización de la HMA. De igual manera Nzanza *et al.* (2011) obtuvieron que la inoculación con *G. mossea* afectó el contenido de N y P en plántulas de tomate, y Abdel-Fattah y Asrar (2012) en trigo. Nedorost y Pokluda (2012) obtuvieron mayor contenido de vitamina C en frutos de tomate al aplicar *G. intraradices* con la dosis media de fertilizante.

2.6. *Azospirillum*

Azospirillum es un género de bacterias edáficas benéficas de vida libre o asociadas a raíces de las plantas. Esta bacteria pertenece a la subclase alfa de las proteobacterias, presenta forma vibroide, pleomorfismo y movilidad en espiral (Döbereiner, 1992). Es denominada como una asociación de gran importancia, debido a su gran versatilidad metabólica y otras funciones importantes (Bashan *et al.*, 1996), además de beneficiar numerosas plantas, permitiéndole ser un competidor eficaz en la rizósfera, pese a la abrumadora

microflora nativa con la capacidad de colonizar la rizósfera (Bashan *et al.*, 1996).

2.7. Mecanismo de colonización en raíces

El proceso por el cual *Azospirillum* se mueve hacia la raíz y la colonizan es debido a diferentes mecanismos. *Azospirillum* presenta flagelos polares o laterales que le permite moverse en medios líquidos para colonizar la parte externa de la raíz, donde tienden a formar pequeños agregados (Loredo-Osti *et al.*, 2004).

El movimiento de esta bacteria también es debido a la mayor disponibilidad de carbono y condiciones favorables de humedad; *Azospirillum* puede recorrer una distancia de 40 a 60 mm hacia la raíz de trigo en 96 h, en un suelo arenoso con 16% de humedad, no obstante, cuando la humedad es de 10%, su desplazamiento se reduce a 20 mm (Loredo-Osti *et al.*, 2004).

Otros factores de movimiento del microorganismo es la quimiotaxis; referente al movimiento hacia la raíz en respuesta a un gradiente de concentración de nutrimentos, o de otros estímulos producidos por las plantas (exudados radicales) como malato, succinato y fructosa (Alexandre y Zhulin, 2001) y aerotaxis; que es la respuesta a un gradiente de oxígeno, *Azospirillum* por ejemplo, se mueve hacia zonas con bajo oxígeno disuelto.

2.8. *Azospirillum* como bacteria promotora de crecimiento vegetal

El modo de acción de *Azospirillum* es la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (N_2), producción de fitohormonas; como auxinas (ácido indolacético) (García *et al.*, 2007), etileno, citocininas, giberelinas, ácido abscísico (Perrig *et al.*, 2007), además de producir células tipo quistes, producción de compuestos sideróforos que incrementan la disponibilidad del Fe en la rizósfera, solubilización de fósforo mediante la producción de ácidos orgánicos (Loredo *et al.*, 2004), tiene una interacción en la resistencia sistémica a patógenos, inhibición del crecimiento de organismos antagónicos, interacción sinérgica con otros (Carcaño *et al.*, 2006), puede alterar el funcionamiento de la membrana de la raíz de la planta por medio de moléculas de comunicación celular (Bashan *et al.*, 1996), incrementan la disponibilidad de los nutrimentos del suelo y absorción del agua, las cuales brindan a esta bacteria la capacidad de resistir a diferentes tipos de estrés ambiental y de adherirse a cualquier sistema de raíces (Holguín *et al.*, 2003)

Se han realizado trabajos para determinar la eficiencia de *Azospirillum* como PGPR. La fijación biológica de nitrógeno (FBN) es la reducción enzimática de N_2 a amonio (NH_4), catalizado por el complejo enzimático nitrogenasa que consta de dos proteínas distintas llamadas dinitrogenasa y dinitrogenasa reductasa (metaloenzimas) (Madigan *et al.*, 1999). Carcaño *et al.* (2006) mencionan que la actividad nitrogenasa fue mayor a los 10 nanomoles de etileno (C_2H_2 mL⁻¹) en *Azospirillum* aislado de maíz. La secreción de ácido indolacético (AIA) en *Azospirillum* se determinó mediante la técnica

colorimétrica con el reactivo de Salkowski, obteniendo que dichas bacterias producen AIA en un rango de 3 a 45 ppm (Lara *et al.*, 2011).

2.9. Uso de *Azospirillum* en la agricultura

Debido a la importancia del modo de acción que presenta *Azospirillum*, ésta se ha evaluado en diversos trabajos agronómicos. Bashan *et al.* (1992) mencionan que algunos efectos de *Azospirillum* en las plantas son incrementos en altura, área radical y rendimiento total de la cosecha, rendimiento en sorgo (García-Olivares *et al.* 2006). Molina *et al.* (2009) inocularon *A. brasilense* a semillas de tomate Cherry logrando un aumento en la germinación y contenido de materia seca. Por su parte El-Katatny (2010) reportó que aplicaciones de *A. brasilense* incrementaron el diámetro de tallo, peso fresco y seco de tomate. De igual manera al aplicar *Azospirillum* se indujo un mayor crecimiento en arroz (Puente *et al.*, 2013). Así mismo Askary *et al.* (2009) reportaron que *A. brasilense* incrementó el contenido de N, P y K en trigo harinero. Baniaghil *et al.* (2013) obtuvieron un incremento en las enzimas antioxidantes al aplicar *Azospirillum* sp en canola.

2.10. Interacción entre *Rhizophagus* y *Azospirillum*

Los trabajos realizados con *Rhizophagus* y *Azospirillum* en cultivos agrícolas han arrojado buenos resultados, sin embargo, algunos de estos efectos pueden mejorarse cuando *Azospirillum* es co-inoculado con HMA originando una interacción sinergista, obteniéndose un mayor desarrollo, rendimiento y contenido de fósforo y nitrógeno de las plantas.

La posible explicación del sinergismo de dichos simbioses es porque *Azospirillum* actúa como coadyuvante de HMA (Frey-Klett *et al.*, 2007), implicando la promoción de la germinación de los propágulos fúngicos, estimulación del crecimiento micelial o cambios en la arquitectura de la raíz a través de la producción de factores de crecimiento (Ruíz-Sánchez *et al.*, 2011 y Riera y Medina, 2005).

Otro factor es que las bacterias son activadas por exudados de especies específicas de hongos (Artursson, 2006). Además se ha encontrado ocurrir una nutrición de P y micronutrientes mejorada por parte del HMA, la actividad nitrogenasa llevada a cabo por *Azospirillum* puede estimularse, ya que el gasto en P de la nitrogenasa para reducir el nitrógeno del aire es elevado por las grandes cantidades de ATP que requiere (Valdez, 2004 y Awasthi *et al.*, 2011). Por otra parte las raíces de las plantas, *Rhizophagus* y *Azospirillum*, poseen por separado fosfatasas ácidas, al existir compatibilidad entre los tres organismos pueden inducir una máxima actividad en la fosfatasa debido al efecto acumulativo de las enzimas (Geneva *et al.*, 2006).

Aunque el sinergismo de los simbioses con las plantas se ha reportado ampliamente, algunos autores no han encontrado resultados favorables, Linderman (1992) menciona que el sinergismo de *A. brasilense* y endomicorriza arbuscular incrementa crecimiento y desarrollo de grano, pero hay un decremento en la fijación de N, posiblemente por la competencia de C entre el hongo y la bacteria.

Los beneficios que se generan al emplear ambos microorganismos en un cultivo agrícola se reportan en diversos trabajos. Velasco *et al.* 2001 encontraron que la inoculación de *A. brasilense* a la raíz de tomate tuvo un efecto positivo con la inoculación del HMA. Linderman (1992) menciona que el sinergismo de *A. brasilense* y endomicorriza arbuscular incrementa la biomasa de la planta, producción de grano y aumento de la colonización micorrízica. Sridevi y Ramakrishnan (2010) observaron un aumento en la longitud de planta, diámetro y rendimiento en cebolla al inocular *G. mosseae* + *A. brasilense*. Así mismo Ordookhani *et al.* (2010) encontraron un aumento en la actividad antioxidante en tomate aplicando *Azospirillum* + *Glomus* sp.

III. ARTÍCULO

**INFLUENCIA DE *Azospirillum* sp y *Rhizophagus intraradices* SOBRE LOS
CARACTERES MORFOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DE TOMATILLO
(*Physalis ixocarpa* Brot.)**

**INFLUENCIA DE *Azospirillum* sp y *Rhizophagus intraradices* SOBRE LOS
CARACTERES MORFOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DE TOMATILLO
(*Physalis ixocarpa* Brot.)**

**[INFLUENCE OF *Azospirillum* sp AND *Rhizophagus intraradices* ON
MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERS OF TOMATILLO
(*Physalis ixocarpa* Brot.)]**

**Mari Carmen López-Pérez¹, Rosalinda Mendoza-Villarreal^{1*}, Antonio Cárdenas-
Flores², Valentín Robledo-Torres¹, Adalberto Benavides-Mendoza¹, Antonio
Juárez-Maldonado¹**

¹*Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Horticultura.
Calzada Antonio Narro 1923, Saltillo, Coah., México, C.P. 25315.
Email: rosalindamendoza@hotmail.com*

²*Centro de Investigación de Química Aplicada. Blvd. Enrique Reyna No. 140, Col. San
José de los Cerritos, 25294 Saltillo, Coah., México, C.P. 25294.*

** Corresponding author*

RESUMEN

Los hongos micorrízicos y rizobacterias promotoras del crecimiento mejoran significativamente el crecimiento y desarrollo de cultivos de interés agrícola. El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la inoculación de *Azospirillum* sp y *Rhizophagus intraradices* sobre el crecimiento, desarrollo y características bioquímicas de tomatillo. El experimento se realizó en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México. Se utilizó como sustrato una mezcla de suelo esterilizado - peat moss - perlita (10:60:30). Se usó un diseño factorial 4*2 con arreglo completamente al azar. Los tratamientos del primer factor fueron *Rhizophagus intraradices*, *Azospirillum* sp, *R. intraradices* + *Azospirillum* sp, y un testigo sin aplicación de los dos simbiontes. Los tratamientos del segundo factor fueron solución Steiner completa e incompleta. Los resultados mostraron que *R. intraradices* + solución completa incrementó los frutos cosechados. *R. intraradices* + solución incompleta incrementó el P en la parte aérea. El contenido de vitamina C y K en raíz fue favorecida por los dos microorganismos. *R. intraradices* indujo un 47% de colonización micorrízica. El uso de *R. intraradices* y *Azospirillum* con fertilización completa modificaron las características morfológicas y bioquímicas del tomatillo.

Palabras clave: Vitamina C, *Azospirillum*, colonización micorrízica, solución Steiner, minerales.

SUMMARY

The use of mycorrhizal fungi and growth promoting rhizobacteria significantly improves the growth and development of agricultural crops of interest. The aim of this work was to determine the effect of inoculation of *Azospirillum* sp and *Rhizophagus intraradices* on growth, development and biochemical characteristics of tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.). The experiment was conducted at the University Autonoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, Mexico. As substrate was used a mixture of sterilized soil - peat moss - perlite (10:60:30). The experimental design was completely randomized with factorial arrangement 4*2. The treatments were *Rhizophagus intraradices*, *Azospirillum*, *R. intraradices* + *Azospirillum* and treatment control without application of two the symbionts for first factor. The second factor consisted of applying complete and incomplete solution. The results show that *R. intraradices* + complete solution increased the harvested fruit. *R. intraradices* + incomplete solution increased the P in aerial part. The content of vitamin C and K was favored by the two microorganisms in root. *R. intraradices* induced 47% of mycorrhizal colonization. The use of *R. intraradices* and *Azospirillum* with complete fertilization modified the morphological and biochemical characteristics of tomatillo.

Keywords: Vitamin C, *Azospirillum*, mycorrhizal colonization, Steiner solution, minerals.

INTRODUCCIÓN

La producción de cultivos hortícolas en México demanda una gran cantidad de fertilizantes, mismos que tienden a volatilizarse o lixiviarse (Perego *et al.*, 2012; Castellano y David, 2014). Este problema también se presenta en el tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.), considerado una de las hortalizas de mayor importancia en México (SIAP-SAGARPA, 2014). Para esto, deben considerarse nuevas alternativas de producción, tales como el uso de microorganismos benéficos que favorezcan su rendimiento.

En ese sentido, las micorrizas son asociaciones simbióticas entre hongos y raíces de las plantas (Peña *et al.*, 2007) siendo las del tipo arbusculares (HMA) las que establecen un 80% la simbiosis entre las raíces y los hongos del Phylum Glomeromycota del orden Glomales, destacando el género *Rhizophagus* (Redecker *et al.*, 2013). Dichas hongos tienen el potencial de coadyuvar en la toma de nutrientes como fósforo y nitrógeno (Hodge *et al.*, 2010; Fitter *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2013) y en menor medida Ca, Mg, K, Na, Fe, Mn, B, Zn y Cu (Hart y Forsythe, 2012). Además, inducen mayor actividad antioxidante en plantas bajo estrés salino (Abdel-Latef y Chaoxing, 2011), mejoran el balance hídrico así como el ajuste osmótico de la planta (Guadarrama *et al.*, 2004; Wu y Xia, 2006), y tienen la capacidad de inducir tolerancia a metales pesados como el Cd y Pb (Miransari, 2011; Hu *et al.*, 2013).

Por su parte, las rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR por sus siglas en inglés REF), principalmente el género *Azospirillum* presenta la

capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (Barassi *et al.*, 2007), además de sintetizar fitorreguladores como ácido indol-3-acético (auxinas), óxido nítrico, ácido abscísico y carotenoides (Perrig *et al.*, 2007, Fibach-Paldi *et al.*, 2012). Estas incrementan la absorción del agua (Holguín *et al.*, 2003), induciendo a su vez la elongación radical así como la producción de compuestos sideróforos incrementando la disponibilidad del Fe (Bashan *et al.*, 2004; Carcaño *et al.*, 2006).

Con el uso de estos microorganismos se aumentó la longitud de la raíz, número de hojas, peso fresco y seco de *Vigna radiata* al aplicar *G. fasciculatum* y *Azospirillum* sp. (Panneerselvam y Thamizhiniyan, 2011). En cebolla se generó un aumento en la longitud de planta, diámetro ecuatorial y polar así como en el rendimiento de bulbo como respuesta a la aplicación conjunta de *G. mosseae* y *A. brasilense* (Sridevi y Ramakrishnan, 2010). Se ha observado también un incremento del contenido de licopeno, actividad antioxidante y contenido de K en fruta de planta de tomate, aplicando *Azospirillum lipoferum*, *G. intaradices*, *G. mosseae* y *G. etanicatum* (Ordookhani *et al.*, 2010).

Considerando que ambos microorganismos pueden mejorar significativamente el crecimiento, desarrollo y rendimiento de numerosas especies vegetales de interés agrícola, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la inoculación de *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum* sp. sobre el crecimiento, desarrollo y las características bioquímicas de tomatillo desarrollado bajo condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo del experimento se llevó a cabo en un invernadero tipo capilla con cubierta de policarbonato y control automático de temperatura ubicado en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Saltillo, Coahuila. Se utilizó tomatillo tetraploide (*Physalis ixocarpa* Brot.) denominado Tetra-16 (Robledo-Torres *et al.*, 2011). Así mismo se usó un producto comercial a base de *R. intraradices*, y una cepa de *Azospirillum* sp aislada de trigo por Mendoza *et al.* (2009).

La plántula fue desarrollada en charolas de poliestireno durante 30 días. El trasplante se realizó en bolsas de polietileno color negro de 17 litros usando como sustrato una mezcla de suelo-peat moss-perlita en proporción 10:60:30. El suelo usado fue previamente cribado y esterilizado por tres ciclos de autoclave a 15 PSI. La nutrición del cultivo se basó en una solución fertilizante Steiner (Steiner, 1961) aplicada mediante riego localizado. El cultivo se manejó a un tallo, y se le aplicaron las labores culturales tradicionales.

Se realizaron dos aplicaciones tanto de micorrizas (0.1 g de producto planta⁻¹ con 40 esporas aproximadamente) como de bacterias (10⁸ UFC mL⁻¹), la primera al momento del trasplante sobre el cepellón y la segunda 15 días después del trasplante sobre la base del tallo.

Dentro de las variables agronómicas, a los 90 días después del trasplante (ddt) se cuantificó el diámetro de tallo y altura de planta, además el peso fresco y seco de planta,

número de frutos amarrados y frutos cosechados, peso fresco y seco de frutos amarrados y cosechados de planta de tomatillo.

En cuanto a la parte bioquímica se determinó el contenido de N, P y K en raíz, parte aérea y fruto, así como el contenido de vitamina C en fruto. El N total (%) se determinó por el método de micro-Kjeldahl (Muller, 1961), el P (%) por el método colorimétrico (Olsen *et al.*, 1954), el K (%) por espectrometría de absorción atómica (Chapman y Pratt, 1976), y el contenido de vitamina C por el método de titulación con 2,6 diclorofenolindofenol (Padayatt *et al.*, 2001).

Adicionalmente, se estimaron la concentración de *Azospirillum* (UFC mL⁻¹) aislado del rizoplasma de tomatillo. Para ello se colectaron raíces, las que fueron desinfectadas con alcohol al 70% e hipoclorito de sodio 2% durante 1 y 2 minutos, respectivamente, y colocadas en NaCl al 0.85%, manteniéndose en incubadora a 29 °C durante siete días. Después se tomó 1 ml de la solución y se colocó en medio de cultivo semisólido NFb (medio selectivo de nitrógeno) utilizando malato como fuente de carbono por 48 hrs de tiempo en incubadora a 29 °C. Para el recuento de colonias se hicieron diluciones seriadas de 10¹ a 10¹³. El total de unidades formadoras de colonias se obtuvo con las diluciones de 10⁸ a 10¹³ UFC mL⁻¹. Para esto se usó el método dilución en placa en medio NFb (Döbereiner *et al.*, 1976).

También se cuantificó la colonización micorrízica fúngica (hifas, arbuscúlos, vesículas y esporas) en la raíz, esto en base a la técnica de clarificación-tinción de raíces (Walker, 2005) en conjunto con la técnica propuesta por McGonigle *et al.* (1990). Además a los 90 ddt se determinó el número de esporas de *Rhizophagus intraradices* en 100 g de sustrato por el método de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y

Nicolson., 1963), y por centrifugación en gradiente de sacarosa (Furlan *et al.*, 1980; Horn *et al.*, 1992).

El diseño experimental utilizado fue factorial 4*2 con un arreglo completamente al azar, con ocho tratamientos y cinco repeticiones. Los tratamientos del primer factor fueron: 1) *Rhizophagus intraradices*, 2) *Azospirillum* sp, 3) *Rhizophagus intraradices* + *Azospirillum* sp, y 4) un testigo sin la aplicación de estos microorganismos. Los tratamientos del segundo factor fueron: 1) solución Steiner completa, y 2) solución Steiner incompleta (50% de fósforo y 50% de nitrógeno).

Para determinar la existencia de diferencias estadísticas entre tratamientos se realizó un ANOVA, así como una prueba de comparación de medias según Tukey ($p \leq 0.05$). Para todos los análisis estadísticos se usó el programa SAS (SAS, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables agronómicas

Los resultados de las variables altura de planta, diámetro de tallo, peso fresco y seco de la planta de tomatillo, se presentan en la tabla 1. Se observa que en el factor solución Steiner no se encontraron diferencias significativas para la variable altura y peso fresco de planta. En cambio, las variables diámetro de tallo y peso seco de planta presentaron diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$), siendo la fertilización con 100% de N y P la que generó los mejores resultados. Para el factor microorganismo no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las variables. Sin embargo, se observó que la aplicación de *Azospirillum* sp. presentó mayores valores en el diámetro de tallo, peso fresco y seco de las plantas de tomatillo en comparación con el resto de los tratamientos (Tabla 1). Aunque existen reportes de que aplicaciones de *A. brasilense* y *A. lipoferum* incrementan el peso fresco y seco de la planta de canola (Baniaghil *et al.*, 2013), en este trabajo no fue claro el efecto de *Azospirillum* sp. Dicho resultado podría deberse a que la concentración de *Azospirillum* (10^8 CFU mL⁻¹) no fue la adecuada, ya que se han encontrado mejores resultados al utilizar concentraciones más altas, como El-Katatny (2010) quien observó que al aplicar 5×10^{14} CFU mL⁻¹ de *A. brasilense* se incrementaron el diámetro de tallo, peso fresco y seco de plantas de tomate. Por esta razón, es recomendable realizar trabajos con diferentes concentraciones de *Azospirillum* sp. en tomatillo, abarcando un margen más amplio de concentraciones de CFU.

Tabla 1. Variables agronómicas medidas en las plantas de tomatillo inoculadas con *Azospirillum* sp y *R. intraradices*.

Factor	Tratamientos	Altura planta (cm)	Diámetro tallo (mm)	Peso fresco planta (g)	Peso seco planta (g)
Solución Steiner	100%	174.42 a ^{&}	10.09 a	453.97 a	62.88 a
	50%	156.79 a	8.58 b	362.90 a	43.35 b
Microorganismo	Testigo	175.25 a	9.46 a	440.36 a	54.67 a
	<i>Azospirillum</i> sp	159.08 a	9.65 a	453.16 a	58.75 a
	<i>R. intraradices</i>	166.17 a	8.82 a	376.12 a	47.78 a
	<i>R. intraradices</i> + <i>Azospirillum</i> sp	161.92 a	9.41 a	364.11 a	51.27 a
	A*100%	167.17 a	10.20 a	436.16 a	62.81 a
Interacciones	T*100%	192.83 a	10.43 a	532.21 a	67.81 a
	A+R*100%	160.00 a	10.21 a	407.76 a	64.63 a
	R*100%	177.67 a	9.54 a	439.74 a	56.26 a
	A*50%	151.00 a	9.10 a	470.16 a	54.68 a
	T*50%	157.67 a	8.50 a	348.50 a	41.52 a
	A+R*50%	163.83 a	8.60 a	320.45 a	37.92 a
	R*50%	154.67 a	8.11 a	312.51 a	39.29 a

[&] Letras diferentes por columna indican diferencias estadísticas según Tukey ($p \leq 0.05$). R: *R. intraradices*. A: *Azospirillum* sp. A+R: *R. intraradices* + *Azospirillum* sp. T: Testigo.

En las interacciones entre los tratamientos de ambos factores no se observaron diferencias significativas en ninguna de las variables evaluadas, aunque sistemáticamente los mejores resultados se presentaron con la aplicación de solución Steiner completa. Los resultados anteriores difieren a lo reportado por Nzanza *et al.* (2011) quienes encontraron una mayor altura de planta al inocular *G. mossae* en tomate. De igual manera al aplicar *Azospirillum* se indujo un mayor crecimiento en arroz (Puente *et al.*, 2013). Estos resultados pueden ser debido a que tanto *R. intraradices* y *Azospirillum* usaron gran cantidad de energía para su metabolismo disminuyendo así la

energía disponible para la generación de biomasa. Ya que se sabe, que la aplicación de estos dos simbiontes requieren un alto gasto de energía (16 moles de ATP) para fijar un mol de N (Urzúa, 2005), mientras que al aplicar solo fertilizante dicho gasto metabólico no es requerido, por lo que la energía producida se utiliza para la elaboración de biomasa (Salinas-Ramírez *et al.*, 2011).

En la Tabla 2 se presentan los resultados de las variables N° de frutos cosechados, N° de frutos amarrados y sus respectivos pesos frescos y secos. Las variables número de frutos cosechados, peso fresco y seco de frutos amarrados presentaron diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p \leq 0.05$) respecto al factor solución Steiner, siendo la fertilización completa la que indujo los mayores valores en las variables mencionadas. En el factor microorganismo no se observaron diferencias significativas para ninguna de las variables evaluadas, sin embargo, se observó sistemáticamente que el testigo presentó los valores más altos (Tabla 2). De igual manera Díaz *et al.* (2013) no encontraron una respuesta favorable al aplicar cepas micorrízicas y *Pseudomonas* spp ya que el mayor rendimiento de maíz se observó en el testigo (fertilización). En cambio al aplicar *G. intraradices* en plantas de chile, y *Glomus* sp. y *G. deserticola* en tomate se encontró un mayor rendimiento en dichos cultivos (Selvakumar y Thamizhiniyan, 2011; Hadad *et al.*, 2012; Wahb-Allah *et al.*, 2014).

En cuanto a las interacciones entre factores, se encontró que *R. intraradices* más la aplicación de solución Steiner completa incrementó estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$) el número de frutos cosechados (Tabla 2). Además, aunque no hubo diferencias estadísticas en las variables peso fresco y seco de frutos cosechados, se observó que la interacción mencionada también presentó los mayores valores. Salinas-Ramírez *et al.*

(2011) observaron una tenencia similar en el incremento del rendimiento de ejotes, al combinar *Rhizobium etli* + *G. intraradices* + dosis alta de N. Los mismos autores sugieren que *R. intraradices* incrementa la superficie de absorción radicular, mientras que la aplicación de la solución nutritiva favorece el crecimiento de la parte aérea, dando como resultado un aumento en la elaboración de fotosintatos que se translocan al fruto.

Tabla 2. Variables evaluadas en las plantas de tomatillo para determinar la productividad.

Factor	Tratamientos	Nº Fruto cosechado	PFF cosechado (g)	PSF cosechado (g)	Nº Fruto amarrado	PFF amarrado (g)	PSF amarrado (g)
Solución Steiner	100%	52.50 a ^{&}	789.70 a	43.26 a	51.65 a	234.68 a	16.85 a
	50%	33.75 b	639.20 a	37.68 a	36.65 a	127.41 b	9.66 b
Microorganismo	Testigo	50.90 a	728.20 a	43.85 a	59.27 a	205.57 a	14.73 a
	<i>Azospirillum</i> sp	44.00 a	761.10 a	39.84 a	49.89 a	170.34 a	12.30 a
	<i>R. intraradices</i>	43.60 a	781.90 a	43.39 a	39.10 a	164.96 a	12.71 a
	<i>R. intraradices</i> + <i>Azospirillum</i> sp	34.00 a	586.60 a	34.80 a	27.40 a	179.79 a	13.05 a
	A*100%	56.40 ab	886.40 a	48.95 a	50.20 a	214.08 ab	15.40 ab
Interacciones	A*50%	31.60 ab	635.80 a	30.73 a	48.00 a	114.61 b	8.34 b
	R*100%	65.00 a	1008.20 a	52.53 a	39.20 a	184.73 ab	13.11 ab
	R*50%	22.20 b	555.70 a	34.25 a	33.80 a	166.95 ab	13.88 ab
	A+R*100%	39.60 ab	606.90 a	34.15 a	34.00 a	195.42 ab	14.53 ab
	A+R*50%	28.40 b	566.30 a	35.45 a	20.80 a	143.06 ab	10.02 ab
	T*100%	49.00 ab	657.30 a	37.40 a	83.20 a	344.49 a	24.38 a
	T*50%	52.80 ab	799.00 a	50.31 a	44.00 a	85.02 b	6.41 b

[&] Letras diferentes por columna indican diferencias estadísticas según Tukey ($p \leq 0.05$).

R: *R. intraradices*. A: *Azospirillum* sp. A+R: *R. intraradices* + *Azospirillum* sp. T: Testigo. PFF: Peso fresco de fruto. PSF: Peso seco de fruto.

Cabe remarcar que la interacción *R. intraradices**50% y *Azospirillum* sp + *R. intraradices* con 50% en el fruto cosechado, y *Azospirillum**50% y testigo*50% de N y P, presentaron los valores más bajos (Tabla 2). Estos resultados contrastan con Sridevi y Ramakrishnan (2010) quienes observaron mayor rendimiento en cebolla al inocular *G. Mosseae* + *A. brasilense*.

La aplicación de la solución Steiner completa sin inoculación de los microorganismos presentó mayor peso fresco y peso seco de frutos amarrados estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$), seguido de *Azospirillum* sp*100% de N y P. Dichos resultados son similares a lo reportado por Singh (2013) al aplicar *Azospirillum* + 100% de N en cilantro. En contraste Thankamani *et al.* (2011), quienes observaron un mayor rendimiento en pimienta negra al aplicar *Azospirillum* sp + 50% de N recomendado. Los menores resultados se obtuvieron con la solución Steiner incompleta sin inoculación de microorganismos seguida por la aplicación de *Azospirillum* sp más fertilización incompleta (Tabla 2). Estos resultados se pueden atribuir a que los efectos dependen de la cepa bacteriana, la estructura del suelo, genotipo de la planta y de las condiciones ambientales (Barassi *et al.*, 2007).

Contenido de minerales y vitamina C en tomatillo

En la Tabla 3 se presentan los resultados obtenidos respecto al contenido de minerales de tomatillo. En el factor solución Steiner se encontraron diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$) tanto en el contenido de N en follaje como en el contenido de P en fruto, presentando los valores más altos la fertilización completa de N y P. En el resto de las variables no se encontraron diferencias estadísticas significativas.

Se observó además, que la fertilización completa indujo un mayor porcentaje de N y P en los diferentes órganos de las plantas evaluadas, mientras que en K (follaje y fruto) la fertilización incompleta indujo los porcentajes más altos. Los valores encontrados de N y K en fruto de tomatillo son superiores a lo reportado por Ramírez *et al.* (2010) quienes trabajaron con la var. Rendidora. La respuesta poco favorable inducida por los microorganismos en cuanto al contenido N, P, y K en la planta de tomatillo pudiera deberse a la fisiología propia de este cultivo tetraploide (Ramírez-Godina *et al.*, 2013).

Tabla 3. Contenido de minerales en los diferentes órganos de las plantas de tomatillo inoculadas con *Azospirillum sp R. intraradices*.

Factor	Tratamientos	N (% [†])			P (%)			K (%)		
		Follaje	Fruto	Raíz	Follaje	Fruto	Raíz	Follaje	Fruto	Raíz
Solución Steiner	100%	2.852 & a	2.464 a	2.328 a	0.127 a	0.724 a	0.405 a	0.798 a	0.442 a	0.752 a
	50%	2.189 b	2.283 a	2.195 a	0.121 a	0.494 b	0.259 a	0.971 a	0.545 a	0.655 a
Microorganismo	Testigo	2.792 a	2.296 a	2.459 a	0.122 ab	0.623 a	0.290 a	1.066 a	0.472 a	0.467 b
	<i>Azospirillum sp</i>	2.293 a	2.427 a	2.081 a	0.126 ab	0.643 a	0.322 a	0.606 a	0.499 a	0.711 ab
	<i>R. intraradices</i>	2.713 a	2.329 a	2.266 a	0.155 a	0.561 a	0.382 a	1.010 a	0.537 a	0.597 ab
	<i>R. intraradices</i> + <i>Azospirillum sp</i>	2.286 a	2.442 a	2.239 a	0.094 b	0.609 a	0.334 a	0.855 a	0.466 a	1.040 a
Interacciones	A*100%	2.483 a	2.570 a	2.329 a	0.122 ab	0.672 abc	0.314 a	0.645 a	0.578 a	0.498 b
	T*100%	3.171 a	2.644 a	2.385 a	0.197 a	0.796 a	0.219 a	1.290 a	0.481 a	0.351 b
	A+R*100%	2.705 a	2.374 a	2.404 a	0.106 ab	0.715 ab	0.492 a	0.384 a	0.358 a	1.471 a
	R*100%	3.051 a	2.269 a	2.193 a	0.113 ab	0.714 ab	0.595 a	0.872 a	0.350 a	0.690 ab
	A*50%	2.104 a	2.284 a	1.833 a	0.130 ab	0.614 bcd	0.330 a	0.568 a	0.420 a	0.924 ab
	T*50%	2.413 a	1.948 a	2.534 a	0.077 b	0.449 de	0.361 a	0.842 a	0.463 a	0.584 ab
	A+R*50%	1.866 a	2.509 a	2.074 a	0.081 b	0.503 cde	0.176 a	1.326 a	0.574 a	0.609 ab
	R*50%	2.374 a	2.389 a	2.338 a	0.197 a	0.409 e	0.169 a	1.148 a	0.723 a	0.504 b

[†] Los porcentajes son expresados en base a materia seca.

& Letras diferentes por columna indican diferencias estadísticas según Tukey ($p \leq 0.05$).

R: *R. intraradices*. A: *Azospirillum* sp. A+R: *R. intraradices* + *Azospirillum* sp. T: Testigo.

Con respecto al factor microorganismo no se observaron diferencias significativas en la mayoría de las variables, sólo la concentración de P en el follaje y K en la raíz presentaron diferencias estadísticas (Tukey, $p \leq 0.05$), donde *R. intraradices* y *R. intraradices* + *Azospirillum* sp. produjeron los mejores valores para estas variables, respectivamente (Tabla 3). Estos resultados son similares a lo encontrado por Abdel-Latef (2013), quien demostró que la absorción de P en follaje en Chile se vio estimulada por la inoculación con *G. mosseae*. Por su parte, Ordookhani *et al.* (2010), encontraron que con la aplicación de *Pseudomonas putida*, *Azotobacter chroococcum*, *A. lipoferum*, *G. intraradices*, *G. mossea* y *G. etunicatum* se incrementó el contenido de K en la raíz y fruto de tomate, mostrando un efecto sinérgico positivo de los simbiontes. De igual manera Domínguez *et al.* (2012), reportaron que la inoculación con *A. brasilense* aumentó la concentración de N.

Por otra parte, se observó que el testigo presentó los valores más altos de N en follaje y raíz. Resultados similares encontraron Díaz *et al.* (2013), quienes reportaron que la fertilización química indujo los valores más altos de N en hoja de maíz. En el resto de las variables no se presenta una tendencia clara para determinar algún efecto por los tratamientos (Tabla 3).

En cuanto a las interacciones solo se observaron diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$) en el contenido de P en follaje y fruto, así como en la concentración de K en raíz. De acuerdo con la comparación de medias (Tukey, $p \leq 0.05$), la interacción *R. intraradices* más la fertilización al 50% indujo una mayor concentración de P en el

follaje, resultados similares a Beltrano *et al.* (2013) quienes reportan mayor cantidad de P en tallo de pimiento con fertilización baja + *R. intraradices*. En el fruto el valor más alto se presentó con la fertilización al 100%, seguido por A*R 100% y R*100%. En cuanto a la concentración de K en la raíz el mayor valor se presentó con la interacción *R. intraradices* + *Azospirillum* más el 100% de N y P. La respuesta es similar a lo reportado por Arango *et al.* (2012) al aplicar *Glomus* sp con un nivel alto de P en menta.

En cuanto al contenido de vitamina C, éste sólo presentó diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$) en el factor Microorganismo, siendo *R. intraradices* + *Azospirillum* sp el tratamiento que generó los mejores resultados, seguido por *Azospirillum* sp (Tabla 4). Los valores de vitamina C encontrados en este trabajo son ligeramente más bajos a los reportados por Ramírez-Godina *et al.* (2013), quienes evaluaron diversos genotipos autotetraploides, y por Jiménez-Santana *et al.* (2012) quienes reportan valores promedio de 8.69 mg 100 g⁻¹ en tomatillos tetraploides. Aunque no se ha evaluado el efecto de las bacterias y micorrizas en la vitamina C, si en la actividad antioxidante (por análisis de radicales libres), donde los resultados obtenidos en este trabajo son similares a lo reportado por Ordookhani *et al.* (2010) al encontrar un aumento en la actividad antioxidante aplicando *Pseudomonas* + *Azotobacter* + *Azospirillum* solo o combinado con *Glomus* sp. Así mismo Baniaghil *et al.* (2013), obtuvieron un incremento en las enzimas antioxidantes al aplicar *Azospirillum* sp en canola. Se observó que la aplicación de *R. intraradices* + *Azospirillum* sp con solución Steiner completa o incompleta presentó una tendencia de aumento en la concentración de vitamina C en fruto de tomatillo (Tabla 4). De igual manera que los resultados aquí obtenidos, Albrechtova *et al.* (2012), encontraron que la vitamina C no fue afectada por

la inoculación de *Glomus* sp. en cebolla. Ambos microorganismos al favorecer a la planta en la asimilación de nutrientes (N, P), incrementan la eficiencia del metabolismo de la planta. Por lo que el mecanismo de *R. intraradices* y *Azospirillum* sp colaboran con la planta para la producción de fotoasimilados que implica a su vez un aumento de antioxidantes (Arrigoni y De Tullio, 2002). Aunado a que en el tomatillo tetraploide se presenten genes duplicados que inducen modificaciones metabólicas (Jiménez-Santana *et al.*, 2012) las que pueden afectar de manera positiva la producción de antioxidantes.

Tabla 4. Contenido de vitamina C en los frutos de tomatillo, y comportamiento de *R. intraradices* y *Azospirillum* sp en raíces y/o sustrato.

Factor	Tratamientos	Vitamina C (mg 100 g ⁻¹)	Concentración de <i>Azospirillum</i> (UFC mL ⁻¹)	Colonización micorrízica (%)	Nº Esporas (100 g ⁻¹ sustrato)
Solución Steiner	100%	5.01 a ^{&}	1.08 x 10 ⁹ a	14.2 b	2218 a
	50%	5.27 a	4.91 x 10 ⁸ a	20.0 a	2261 a
Microorganismo	Testigo	4.75 b	8.23 x 10 ⁵ c	2.6 b	419 b
	<i>Azospirillum</i> sp	5.15 ab	1.06 x 10 ¹¹ b	1.8 b	295 b
	<i>R. intraradices</i>	4.55 b	1.18 x 10 ⁶ c	35.0 a	4328 a
	<i>R. intraradices</i> + <i>Azospirillum</i> sp	6.09 a	2.76 x 10 ¹² a	29.0 a	3916 a
	R*50%	4.71 a	6.25 x 10 ⁶ c	46.8 a	4016 a
Interacciones	A+R*100%	6.29 a	2.20 x 10 ¹³ a	29.6 b	3539 a
	A+R*50%	5.90 a	3.46 x 10 ¹¹ ab	28.4 b	4292 a
	R*100%	4.40 a	2.22 x 10 ⁵ c	23.2 b	4640 a
	T*50%	5.15 a	2.14 x 10 ⁶ c	3.2 c	435 b
	A*100%	4.97 a	8.88 x 10 ¹¹ ab	2.0 c	290 b
	T*100%	4.36 a	3.17 x 10 ⁵ c	2.0 c	404 b
	A*50%	5.33 a	1.26 x 10 ¹⁰ b	1.6 c	300 b

[&] Letras diferentes por columna indican diferencias estadísticas según Tukey ($p \leq 0.05$).
R: *R. intraradices*. A: *Azospirillum* sp. A+R: *R. intraradices* + *Azospirillum* sp. T: Testigo.

Comportamiento de microorganismos en la planta y sustrato

En cuanto a la concentración de *Azospirillum* no hubo diferencias significativas en el factor solución Steiner pero sí en el factor microorganismo así como en las interacciones (Tukey, $p \leq 0.05$) (Tabla 4). El tratamiento *R. intraradices* + *Azospirillum* sp. generó el valor más alto de concentración de la UFC mL⁻¹ de la bacteria seguido por *Azospirillum* sp (Tabla 4). La misma tendencia se observa en las interacciones, en donde *R. intraradices* + *Azospirillum* más la aplicación de fertilización al 100% de P y N generó la máxima cantidad de UFC, seguido de *R. intraradices* + *Azospirillum* con 50% y *Azospirillum* con 100% de N y P (Tukey, $p \leq 0.05$) (Tabla 4). Thankamani *et al.* (2011) observaron la misma tendencia en el aumento de la población de *Azospirillum* sp, aumentando de 10^8 a $10^6 \times 10^5$ UFC g⁻¹ en el suelo) con el 50% recomendado de N. Así mismo Cappellari *et al.* (2013) encontraron que la población de *A. brasilense* co-inoculado con *Pseudomonas fluorescens* aumentó de 10^5 a 10^6 UFC mL⁻¹ a los 7 días después de la inoculación en *Tagetes minuta*. Sin embargo contrastan con lo reportado por García-Olivares *et al.* (2012), quienes no encontraron un aumento en maíz. Estos resultados indican que aparentemente la concentración de bacteria (UFC mL⁻¹) se vio incrementada por la mezcla de ambos simbiontes debido a un sinergismo entre ambos, ya que se sabe que las bacterias son activadas por exudados de especies concretas de hongos (Artursson, 2006). Además, se sabe que la nutrición fosforada mejorada por *R. intraradices* puede estimular la actividad nitrogenasa de la bacteria, al proporcionarle el ATP requerido para reducir el nitrógeno atmosférico (Valdez, 2004).

En cuanto a la variable colonización micorrízica se encontraron diferencias significativas en ambos factores así como en las interacciones (Tukey, $p \leq 0.05$) (Tabla 4). La fertilización fue determinante, ya que el mayor porcentaje de colonización en las plantas de tomatillo se obtuvo con la menor concentración de P y N (Tukey, $p \leq 0.05$). De igual manera Nedorost y Pokluda (2012), obtuvieron una mayor colonización en plantas de tomate con la dosis más baja de fertilizante. El alto nivel de P y N pudieran afectar la colonización (Miranda *et al.*, 2011), ya que al existir una disponibilidad adecuada para la planta ésta no favorece la simbiosis con los HMA. En el factor microorganismo, *R. intraradices* + *Azospirillum* sp y *R. intraradices* mostraron el mayor porcentaje de colonización siendo diferentes al resto de los tratamientos (Tukey, $p \leq 0.05$) (Tabla 4). Ruíz-Sánchez *et al.* (2011), obtuvieron resultados similares al aplicar *Azospirillum* + *R. intraradices* en arroz logrando un aumento considerable en el porcentaje de colonización. Así mismo Awasthi *et al.* (2011), encontraron que *Bacillus subtilis* aumentó la micorrización de *G. mosseae*.

En las interacciones entre los factores de estudio, también se observaron diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$). Los resultados mostraron que todas las interacciones que incluyeron a *R. intraradices* generaron mayores valores de colonización que el resto de los tratamientos (Tukey, $p \leq 0.05$). Sin embargo, se observó que la interacción de *R. intraradices* más fertilización incompleta generó el mayor porcentaje de colonización (46.8%), siendo superior al resto de los tratamientos (Tukey, $p \leq 0.05$) (Tabla 4). De manera similar *R. intraradices* colonizó el 66% de plantas de chile, así como *Glomus spp* 60% y *G. fasciculatum* 55% en maíz (Selvakumar y Thamizhiniyan, 2011; Banni y Faituri, 2013).

Estos resultados indican que la colonización de las plantas de tomatillo por *R. intraradices* es afectada si se combina con *Azospirillum* sp. o si se emplea una solución Steiner completa, al igual que lo observado por Miranda *et al.* (2011), donde encontraron bajos niveles de colonización (29.7%) en *Physalis peruviana* al fertilizar con niveles altos de P. La disminución de la colonización observada por la combinación de *R. intraradices* con *Azospirillum* sp. pudo ser debido a que el P absorbido por los HMA fue usado por la nitrogenasa de las bacterias disminuyendo así su capacidad de reproducción por el costo energético que representa (Valdéz, 2004), o inclusive por la competencia de carbono y nutrientes (Sarabia *et al.*, 2010). El porcentaje de colonización en respuesta a la interacción entre A*R puede deberse a que las bacterias ayudan a la micorrización, suavizando las paredes y la laminilla media de las células radicales de la corteza mediante la producción de ciertas enzimas y por lo tanto aumentan la susceptibilidad del tejido de la planta a la penetración de hongos (Garbaye, 1994).

En cuanto al número de esporas en el suelo, solamente se presentaron diferencias estadísticas en el factor microorganismo así como en las interacciones entre factores (Tukey, $p \leq 0.05$) (Tabla 4). Los tratamientos *R. intraradices* y *R. intraradices* + *Azospirillum* produjeron un mayor número de esporas siendo diferentes al resto de los tratamientos (Tukey, $p \leq 0.05$). Un beneficio de la interacción es que las bacterias asociadas con los hongos AM posiblemente se alimentan de la capa hialina exterior de la espora del hongo AM facilitando su maduración y germinación (Roesti *et al.*, 2005).

Con relación a las interacciones se observa que *R. intraradices* solo o combinado con *Azospirillum* sp., y ya sea con la fertilización al 100 o 50% de N y P, promovieron el

mayor número de esporas en el suelo (Tukey, $p \leq 0.05$) (Tabla 4). En algunos trabajos también se ha cuantificado el número de esporas, se reporta el incremento de *Glomus hoi*-like de 80 a 108 esporas g^{-1} de sustrato (arcilla) en *Brachiaria decumbens* (Del Llano *et al.*, 2011). De igual manera Awasthi *et al.* (2011), encontraron que *Bacillus subtilis* indujo un incremento de 50% en el número de esporas de *G. mosseae* en *Artemisia annua*. Estos resultados parecen indicar que la capacidad de reproducción de esporas en el suelo no es afectada con la concentración de N y P, ni con la combinación de *R. intraradices* con *Azospirillum* sp, ya que aunque en el tratamiento R*50% es donde se generó la mayor colonización, el número de esporas en el suelo fue el mismo en los cuatro tratamientos en que se incluyó *R. intraradices* (Tukey, $p \leq 0.05$) (Tabla 4). De acuerdo a lo reportado por Khakpour y Khara (2012), el número de esporas presentes en la rizosfera depende en gran medida de la especie vegetal en estudio, el sustrato utilizado, y específicamente en el caso de la familia Solanaceae dichos autores reportan 10 esporas en 10 g^{-1} de suelo, cuyo valor contrasta a lo encontrado en este estudio al encontrar un máximo de 4640 en 100 g^{-1} suelo (Tabla 4), al utilizar una cepa de *Rhizophagus*.

CONCLUSIONES

La aplicación de *Rhizophagus intraradices* favoreció el aumento del contenido de P en follaje cuando se usó la fertilización incompleta.

Rhizophagus intraradices + *Azospirillum* sp. incrementó el contenido de K en raíz, y favoreció la concentración de vitamina C en los frutos de tomatillo.

La interacción de *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum* sp con la solución Steiner completa generó mejores resultados en la mayoría de las variables evaluadas, que cuando se combinó con la solución Steiner incompleta, independientemente si estos se aplicaron juntos o por separado.

La aplicación de esporas de *Rhizophagus intraradices* incrementa la concentración de *Azospirillum* sp. Mientras que la colonización micorrízica por *Rhizophagus intraradices* se incrementó con la aplicación de la solución nutritiva Steiner incompleta.

REFERENCIAS

- Abdel-Latef, A.A. 2013. Growth and some physiological activities of pepper (*Capsicum annuum* L.) in response to cadmium stress and mycorrhizal symbiosis. *Journal of Agricultural Science Technology*. 15:1437-1448.
- Abdel-Latef, A.A.H., Chaoxing, H. 2011. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. *Scientia Horticulturae*. 127:28-233.
- Albrechtova, J., Latr, A., Nedorost, L., Pokluda, R., Posta, K., Vosatka, M. 2012. Dual inoculation with mycorrhizal and saprotrophic fungi applicable in sustainable cultivation improves the yield and nutritive value of onion. *The Scientific World Journal*. doi:10.1100/2012/374091.
- Arango, M.C., Ruscitti, M.F., Ronco, M.G., Beltrano, J. 2012. Mycorrhizal fungi inoculation and phosphorus fertilizer on growth, essential oil production and nutrient uptake in peppermint (*Mentha piperita* L.). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 14:692-699.
- Arrigoni, O., De Tullio, M.C. 2002. Ascorbic acid: much more than just an antioxidant. *Biochim Biophys Acta*. 1569:1-9.
- Artursson, V., Finlay, R.D., Jansson, J.K. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology*. 8:1-10.
- Awasthi, A., Bharti, N., Nair, P. Singh, R., Shukla, A.K., Gupta, M.M., Darokar M.P., Kalra, D.A. 2011. Synergistic effect of *Glomus mosseae* and nitrogen fixing *Bacillus subtilis* strain Daz26 on artemisinin content in *Artemisia annua* L. *Applied Soil Ecology*. 49:125-130.
- Baniaghil, N., Arzanesh, M.H., Ghorbanli, M., Shahbazi, M. 2013. The effect of plant growth promoting rhizobacteria on growth parameters, antioxidant enzymes and microelements of canola under salt stress. *Journal of Applied Environmental and Biological Science*. 3:17-27.

- Banni, A.S., Faituri, M.Y. 2013. The role of arbuscular mycorrhizae *Glomus* spp (mixed) and *Glomus fasciculatum* in growth and copper uptake of maize grown in soil contaminated with copper. Middle-East Journal of Scientific Research. 17:77-83.
- Barassi, C.A. Sueldo, R.J., Creus, C.M., Carrozzi, L.E., Casanovas, E.M., Pereyra, M.A. 2007. *Azospirillum* spp., a dynamic soil bacterium favourable to vegetable crop production. Dynamic Soil, Dynamic Plant. 1:68-82.
- Bashan, Y., Holguin, G., de-Bashan, L.E. 2004. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). Canadian Journal of Microbiology. 50:521-577.
- Beltrano, J., Ruscitti, M., Arango, M.C., Ronco, M. 2013. Effects of arbuscular mycorrhiza inoculation on plant growth, biological and physiological parameters and mineral nutrition in pepper grown under different salinity and p levels. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 13:123-141.
- Cappellari, L. R., Santoro, M.V., Nievas, F., Giordano, W., Banchio, E. 2013. Increase of secondary metabolite content in marigold by inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. Applied Soil Ecology. 70:16-22.
- Carcaño, M.M.G., Ferrera, C.R., Pérez, M.J., Molina, G.J.D., Bashan, Y. 2006. Actividad nitrogenasa, producción de fitohormonas, sideróforos y antibiosis en cepas de *Azospirillum* y *Klebsiella* aisladas de maíz y teocintle. Terra Latinoamericana. 24:493-502.
- Castellano, M.J., David, M.B. 2014. Long-term fate of nitrate fertilizer in agricultural soils is not necessarily related to nitrate leaching from agricultural soils. Proceedings of the National Academy of Sciences. 111:E766.
- Chapman, H.D., Pratt. 1976. Métodos de análisis para suelos, plantas y aguas. Ed. Trillas, México.
- Del Llano, B. V., Espinosa, R.R., Suárez, K.F. 2011. Comportamiento de la variabilidad longitudinal del número de esporas de *Glomus hoi*-like inoculado en *Brachiaria decumbens* en dos periodos diferentes. Cultivos Tropicales. 32:5-10.
- Díaz, F.A., Ortiz, C.F.E., Lozano, C.M.G., Aguado, S.G.A., Grageda, C.O.A. 2013. Growth, mineral absorption and yield of maize inoculated with microbe strains. African Journal of Agricultural Research. 8:3764-3769.

- Döbereiner, J., Marriel, I.E., Nery, M. 1976. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. Canadian Journal of Microbiology. 22:1464-1473.
- Dominguez-Nuñez, J.A., Muñoz, D., Planelles, R., Grau, J.M., Artero, F., Anriquez A., Albanesi, A. 2012. Inoculation with *Azospirillum brasilense* enhances the quality of mesquite *Prosopis juliflora* seedlings. Forest Systems. 21:364-372.
- El-Katatny, M.H. 2010. Enzyme production and nitrogen fixation by free, immobilized and coimmobilized inoculants of *Trichoderma harzianum* and *Azospirillum brasilense* and their possible role in growth promotion of tomato. Food Technology & Biotechnology. 48:161-174.
- Fibach-Paldi, S., Burdman, S., Okon Y. 2012. Key physiological properties contributing to rhizosphere adaptation and plant growth promotion abilities of *Azospirillum brasilense*. FEMS Microbiol Lett. 326: 99-108.
- Fitter, A.H., Helgason, T., Hodge, A. 2011. Nutritional exchanges in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: Implications for sustainable agriculture. Fungal Biology reviews. 25:68-72.
- Furlan, V., Bärtschi, H., Fortin, J.A. 1980. Media for density gradient extraction of endomycorrhizal spores. Transactions British Mycological Society. 75:336-338.
- Garbaye, J. 1994. Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. New Phytologist. 128:197-210.
- García-Olivares, J.G., Mendoza-Herrera, A., Mayek-Pérez, N. 2012. Efecto de *Azospirillum brasilense* en el rendimiento del maíz en el norte de Tamaulipas, México. Universidad y Ciencia. 28:79-84.
- Gerdemann, J.W., Nicolson, T.H. 1963. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. Transaction British Mycological Society. 46:235-244.
- Guadarrama, Ch.P., Sánchez, G.I., Álvarez, S.J., Zapata, J.R. 2004. Hongos y plantas, beneficiosos a diferentes escalas en micorrizas arbusculares. Ciencias. 73:38-45.
- Hadad, M.A., Al-Hashmi, H.S., Mirghani, S.M. 2012. Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) growth in response to salinity and inoculation with native and introduced strains of mycorrhizal fungi. International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science. 2:228-233.

- Hart, M. M., Forsythe, J. A. 2012. Using arbuscular mycorrhizal fungi to improve the nutrient quality of crops; nutritional benefits in addition to phosphorus. *Scientia Horticulturae*. 148:206-214.
- Hodge, A., Helgason, T., Fitter A.H. 2010. Nutritional ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal Ecology*. 3:267-273.
- Holguin, G., Bashan, Y., Puente, E., Carrillo, A., Bethlenfalvay, G., Rojas, A., Vazquez, P., Toledo, G., Jimenez, M., Glick, B., Gonzalez, L., Lebsky, V., Moreno, M., Hernandez, J. 2003. Promoción del crecimiento en plantas por bacterias de la rizosfera. *Agricultura Técnica en México*. 29:01-211.
- Horn, K., Hahn, A., Pausch, P., Hock, B. 1992. Isolation of pure spore and hyphal fractions from vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Plant Physiology*. 141:28-32.
- Hu, J., Chan, P.T., Wu, F., Wu, S., Zhang, J., Lin, X., Wong, M.H. 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi induce differential Cd and P acquisition by Alfred stonecrop (*Sedum alfredii* Hance) and upland kangkong (*Ipomoea aquatica* Forsk.) in an intercropping system. *Applied Soil Ecology*. 63:29-35.
- Jiménez-Santana, E., Robledo-Torres, V., Benavides-Mendoza, A., Ramírez-Godina, F., Ramírez-Rodríguez, H., de la Cruz-Lázaro, E. 2012. Calidad de fruto de genotipos tetraploides de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Universidad y Ciencia*. 28:153-161.
- Khakpour, O., Khara, J. 2012. Spore density and root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi in some species in the northwest of Iran. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*. 3:977-982.
- McGonigle, T.P., Miller, M.H., Evans, D.G, Fairchild, G.L., Swan, J.A. 1990. A new method that gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytology*. 115:495-501.
- Mendoza, R., Martínez, F., Rodríguez, V., Benavidez, A. 2009. Biofertilización con *Azospirillum* en trigo. En: Artículos en extenso. Avances en la ciencia del suelo. XXXIV Congreso Nacional de la ciencia del suelo. Edición de la Sociedad Mexicana de la Ciencia del suelo, A.C. (2009). P. 16-614.

- Miranda, D., Fischer, G., Ulrichs, C. 2011. The influence of arbuscular mycorrhizal colonization on the growth parameters of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) plants grown in a saline soil. *Journal Soil Science & Plant Nutrition*. 11:18-30.
- Miransari, M. 2011. Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. *Biotechnology Advances*. 29:645-653.
- Muller, L. 1961. Un aparato micro-Kjeldahl simple para análisis rutinarios de materiales vegetales. *Turrialba*. 11:17-25.
- Nedorost, L., Pokluda, R. 2012. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on tomato yield and nutrient uptake under different fertilization levels. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. 60:181-186.
- Nzanza, B., Marais, D., Soundy, P. 2011. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedling growth and development as influenced by *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi. *African Journal of Microbiology Research*. 5:425-431.
- Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S., Dean, L.A. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate”, Circular 939 ted States Department of Agriculture, Washington, D.C., USA.
- Ordookhani, K., Khavazi, K., Moezzi, A., Rejali, F. 2010. Influence of PGPR and AMF on antioxidant activity, lycopene and potassium contents in tomato. *African Journal of Agricultural Research*. 5:1108-1116.
- Padayatt, S.J., Daruwala, R., Wang, Y., Eck, P.K., Song, J., Koh, W.S., Levine, M. 2001. Vitamin C: from molecular actions to optimum intake. *In: Handbook of Antioxidants*. Cadenas, E.; Packer, L. (eds) 2nd edition. CRC Press. Washington DC, EE.UU. pp. 117-145.
- Panneerselvam, M., Thamizhiniyan, P. 2011. Response to AM fungi and *Azospirillum* in growth of *Vigna radiata* L. Hub. *Recent Research in Science and Technology*. 3:145-147.
- Peña, V.C., Cardona, G.I., Arguelles, J.H., Arcos, A.L. 2007. Micorrizas arbusculares del sur de la amazonia colombiana y su relación con algunos factores fisicoquímicos y biológicos del suelo. *Acta Amazonica*. 37:327-326.

- Perego, A., Basile, A., Bonfante, A., De Mascellis, R., Terribile, F., Brenna S., Acutis, M. 2012. Nitrate leaching under maize cropping systems in Po Valley (Italy). *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 147:57-65.
- Perrig, D., Boiero, L., Masciarelli, O., Penna, C., Cassán, F., Luna, V. 2007. Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 75:1143-1150.
- Puente, M.L., García, J.E., Maroniche, G.A., Arguissain, G.G., Pirchi, H.J., Peticari, A. 2013. Plant-growth promotion of Argentinean isolates of *Azospirillum brasilense* on rice (*Oryza sativa* L.) under controlled and field conditions. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*. 13:1361-1369.
- Ramírez, H., Rivera-Cruz, C.E., Benavides-Mendoza, A., Robledo-Torres, V., Reyna-Sustaita, G. 2010. Prohexadiona-Ca, una alternativa en la producción de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 16:139-146.
- Ramírez-Godina, F., Robledo-Torres, V., Foroughbakhch-Pournabav, R., Benavides-Mendoza, A., Hernández-Piñero, J. L., Reyes-Valdes, M. H., Alvarado-Vázquez M. A. 2013. Yield and fruit quality evaluation in husk tomato autotetraploids (*Physalis ixocarpa*) and diploids. *Australian Journal of Crop Science*. 7:33-940.
- Redecker, D., Schüßler, A., Stockinger, H., Stürmer, S. L., Morton, J.B., Walker, C. 2013. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza*. 23:515-531.
- Robledo-Torres, V., Ramírez-Godina, F., Foroughbakhch-Pournabav, R., Benavides-Mendoza, A., Hernández-Guzmán, G., Reyes-Valdés, M.H. 2011. Development of tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) autotetraploids and their chromosome and phenotypic characterization. *Breeding Science*. 61:288-293.
- Roesti, D., Ineichen, K., Braissant, O., Redecker, D., Wiemken, A., Aragno, M. 2005. Bacteria associated with spores of arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus geosporum* and *Glomus constrictum*. *Applied and Environmental Microbiology*. 71:6673-6679.
- Ruíz-Sánchez, M., Armada, E., Muñoz, Y., García de Salamone, I.E., Aroca, R., Ruíz-Lozano, J.M., Azcón, R. 2011. *Azospirillum* and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. *Journal of Plant Physiology*. 168:1031-1037.

- Salinas-Ramirez, N., Escalente-Estrada, J., Rodríguez-González, M., Sosa-Montes, E. 2011. Yield and nutritional quality of snap bean in terms of biofertilization. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 13:347-355.
- Santos, E.A. Ferreira, L.R., Costa, M.D., Silva, M.C.S., Reis, M.R., França, A.C. 2013. Occurrence of symbiotic fungi and rhizospheric phosphate solubilization in weeds. *Acta Scientiarum Agronomy Maringá*. 35:49-55.
- Sarabia O.M., Madrigal P.R., Martínez T.M., Carreón A.Y. 2010. Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones. *Biológicas*. 12:65-71.
- Selvakumar, G., Thamizhiniyan, P. 2011. The effect of the arbuscular mycorrhizal (AM) fungus *Glomus intraradices* on the growth and yield of chilli (*Capsicum annuum* L.) under salinity stress. *World Applied Sciences Journal*. 14:1209-1214.
- SIAP-SAGARPA. 2014. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>. Página consultada el 17 de Marzo del 2014.
- Singh, S.P. 2013. Effect of bio-fertilizer *Azospirillum* on growth and yield parameters of coriander (*Coriandrum sativum* L.) cv. Pant haritima. *Vegetable Science*. 40:77-79.
- Sridevi, S., Ramakrishnan, K. 2010. Effects of combined inoculation of am fungi and *Azospirillum* on the growth and yield of onion (*Allium cepa* L.). *Journal of Phytology*. 2:8-90.
- Statistical Analysis System (SAS Institute) (2002) “PROC users manual, version 9.0.0. 380”, SAS
- Steiner, A.A. 1961. “A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition”, *Plant and Soil*. 15:134-154.
- Thankamani, C.K., Srinivasan, V., Krishnamurthy, K.S., Kandiannan, K. 2011. Effect of *Azospirillum* sp. and nutrients on yield of black pepper (*Piper nigrum* L.). *Journal of Spices and Aromatic Crops*. 20:09-13.
- Urzúa, H. 2005. Beneficios de la fijación simbiótica de nitrógeno en Chile. *Ciencia e Investigación Agraria*. 32:133-150.

- Valdés, M., Cayetano, R.A., Leyva, M.A., Camacho, A.D. 2004. Promoción del crecimiento en vivero de casuarina equisetifolia (L.) por microorganismos simbioses. *Terra Latinoamericana*. 22:207-215.
- Wahb-Allah, M., Abdel-Razzak, H., Alsadon, A., Ibrahim, A. 2014. Growth, yield, fruit quality and water use efficiency of tomato under arbuscular mycorrhizal inoculation and irrigation level treatments. *Life Science Journal*. 11:109-117.
- Walker, C. 2005. A simple blue staining technique for arbuscular mycorrhizal and other root-inhabiting fungi. *Inoculum*. 56:68-69.
- Wu, Q. S., Xia, R. X. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. *Journal of Plant Physiology*. 163:417-425.

IV. CONCLUSIONES

La aplicación individual de *Rhizophagus intraradices* indujo un aumento en el contenido de P en follaje cuando se usó la fertilización incompleta.

La co-inoculación de *Rhizophagus intraradices* + *Azospirillum* sp favorecieron la calidad de frutos en relación a la vitamina C en los frutos de tomatillo y el contenido de K en raíz de plantas de tomatillo.

La interacción de *Rhizophagus intraradices* y *Azospirillum* sp con la solución Steiner completa generó mejores resultados en la mayoría de las variables evaluadas, que cuando se combinó con la solución Steiner incompleta, independientemente de la aplicación combinada o individual.

La aplicación de esporas de *Rhizophagus intraradices* incrementa la concentración de *Azospirillum* sp mientras que la colonización micorrízica por *Rhizophagus intraradices* se incrementó con la aplicación de la solución nutritiva Steiner incompleta.

V. LITERATURA CITADA

- Abdel-Fattah, G.M. and Asrar, A.W.A. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungal application to improve growth and tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants grown in saline soil. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34(1): 267-277.
- Abdel-Latef, A. A. 2013. Growth and some physiological activities of pepper (*Capsicum annuum* L.) in response to cadmium stress and mycorrhizal symbiosis. *Journal of Agricultural Science Technology*. 15: 1437-1448.
- Abdel-Latef, A.A.H. and Chaoxing, H. 2011. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. *Scientia Horticulturae*, 127(3): 228-233.
- Alexandre, G. & Zhulin, I. B. 2001. More than one way to sense chemicals. *J. Bacteriol* 183: 4681-4686.
- Arthur Schüßler, A., Holger, M., Cohen, M., Fitz, M., Wipf, D. 2006. Characterization of a carbohydrate transporter from symbiotic glomeromycotan fungi. *NATURE*. 444:933-936. QUILAMBO, Orlando. The vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *African Journal Biotechnology*. 2(12): 539-546. 2003.

- Artursson, V., Finlay, R. D., Jansson, J.K. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environmental Microbiology*. 8: 1-10.
- Askary, M., Mostajeran, A., Amooaghaei, R. and Mostajeran, M. 2009. Influence of the Co-inoculation *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium meliloti* plus 2,4-D on Grain Yield and N, P, K Content of *Triticum aestivum* (Cv. Baccros and Mahdavi). *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*. 5(3):296-307.
- Awasthi, A., Bharti, N., Nair, P., Singh, R., Shukla, A.K., Gupta, M.M., Darokar, M.P. and Kalra, A. 2011. Synergistic effect of *Glomus mosseae* and nitrogen fixing *Bacillus subtilis* strain Daz26 on artemisinin content in *Artemisia annua* L. *Applied Soil Ecology*. 49(1):125-130.
- Baniaghil, N., Arzanesh, M.H., Ghorbanli, M. and Shahbazi, M. 2013. The Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Growth Parameters, Antioxidant Enzymes and Microelements of Canola under Salt Stress. *J. Applied Environmental and Biological Science*. 3(1): 17-27.
- Banni, A. S. and Faituri, M.Y. 2013a. Effect of *Glomus intraradiaces* and *Glomus macrocarpium* on growth and copper uptake by maize grown in soil experimentally contaminated with copper. *World Applied Sciences Journal*. 25(2): 281-287.
- Banni, A.S., Faituri, M. Y. 2013b. The Role of Arbuscular Mycorrhizae *Glomus* Spp (mixed) and *Glomus fasciculatum* in Growth and Copper Uptake of Maize Grown in Soil Contaminated with Copper. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 17(1): 77-83.

- Barassi, C.A., Sueldo, R.J., Creus, C.M., Carrozzi, L.E., Casanovas, E.M. and Pereyra M.A. 2007. *Azospirillum* spp., a Dynamic Soil Bacterium Favourable to Vegetable Crop Production. *Dynamic Soil, Dynamic Plant*, 1(2): 68-82.
- Barrer, S. E. 2009. El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*. 7 (1): 123-132.
- Bashan, Y., Alcaraz, M. L. and Toledo, G. 1992. Responses of Soybean and Cowpea Root Membranes to Inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Symbiosis* 13: 217-228.
- Bashan, Y., Holguín G. y Ferrera, C. R. 1996. Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. I. *Azospirillum*. *Terra*. 14: 159-194.
- Bashan, Y., Holguin, G. and de-Bashan, L.E. 2004. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Canadian J. Microbiology*, 50(1): 521-577.
- Baslam, M., Garmendia, I. and Goicoechea, N. 2013. Enhanced Accumulation of Vitamins, Nutraceuticals and Minerals in Lettuces Associated with Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF): A Question of Interest for Both Vegetables and Humans. *Agriculture*. 3(1): 188-209.
- Carcaño, M.M.G., Ferrera, C.R., Pérez, M.J., Molina, G.J.D. y Bashan, Y. 2006. Actividad nitrogenasa, producción de fitohormonas, sideróforos y antibiosis en cepas de *Azospirillum* y *Klebsiella* aisladas de maíz y teocintle. *Terra Latinoamericana*. 24(4): 493-502.
- Castellano, M.J. and David, M.B. 2014. Long-term fate of nitrate fertilizer in agricultural soils is not necessarily related to nitrate

leaching from agricultural soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(8): E766.

Chacón, A. y Cuenca, G. 1998. Efecto de las micorrizas arbusculares y de la fertilización con fósforo, sobre el crecimiento de la guayaba en condiciones de vivero. *Agronomía tropical*. 48(4):425-440.

Cruz, C., Egsgaard, H., Trujillo, C., Ambus, P., Requena, N., Martins-Loução, M.A. and Jakobsen, I. 2007. Enzymatic evidence for the key role of arginine in nitrogen translocation by arbuscular mycorrhiza fungi. *Plant Physiol*. 144: 782-792.

Del Llano, B. V., Espinosa, R.R., Suárez, K.F. 2011. Comportamiento de la variabilidad longitudinal del número de esporas de *Glomus hoi*-like inoculado en *Brachiaria decumbens* en dos periodos diferentes. *Cultivos Tropicales*. 32(39): 5-10.

Döbereiner J. 1992. The genero *Azospirillum* and *Herbaspirillum*, En A. Balows, H. G.Trüper, M. Dworkin, W. Harder and K.-H. Schleifer (ed.), The prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications. Springer-Verlag. New York. p. 2236-2253.

El-Katatny, M. H. 2010. Enzyme Production and Nitrogen Fixation by Free, Immobilized and Coimmobilized Inoculants of *Trichoderma harzianum* and *Azospirillum brasilense* and Their Possible Role in Growth Promotion of Tomato. *Food Technology & Biotechnology*. 48(2): 161-174.

Fitter, A.H.; Helgason, T. and Hodge, A. 2011. Nutritional exchanges in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: Implications for sustainable agriculture. *Fungal Biology reviews*. 25(1): 68-72.

- Frey-Klett, P., Garbaye, J., Tarkka, M. 2007. The mycorrhizal helper bacteria revisited. *New Phytol.* 176: 22-36.
- García, O. J., Moreno, M. V., Rodríguez, L. I., Mendoza, H. A. y Mayek, P. N. 2007. Effect of *Azospirillum brasilense* strains on maize growth and grain yield. *Rev. Fitotec. Mex.* 30(3):305-310. (En español).
- García-Olivares, J.G., Moreno-Medina V.R., Rodríguez-Luna, I.C., Mendoza-Herrera, A. y Mayek-Pérez, N. 2006. Biofertilización con *Azospirillum brasilense* en sorgo, en el norte de México. *Agric. Téc. Méx.* 32(2): 135-141.
- Gaur, S., Kaushik, P. 2012. Effect of Seasonal Variation on Mycorrhizal Fungi Associated with Medicinal Plants in Central Himalayan Region of India. *American Journal of Plant Sciences.* 3, 618-626.
- Geneva, M., Zehirov, G., Djonova, E., Kaloyanova, N., Georgiev, G. and Stancheva, I. 2006. The effect of inoculation of pea plants with mycorrhizal fungi and *Rhizobium* on nitrogen and phosphorous assimilation. *Plant Soil Environ.* 52(1): 435-440.
- Gianinazzi, P. V. y Azcon, A. C. 1991. Fisiología de las micorrizas vesículo-arbusculares. In: Fijación y Movilización Biológica de Nutrientes (J. Olivares y J. M. Barea, Eds.). pp. 175-202. CSIC, España.
- Giovannetti, M., C. Sbrana, L. Avio, y P. Strani 2004. patterns of below-ground plant interconnection established by means of arbuscular mycorrhizal network. *New Phytologist.* 164: 175-181.
- González, C. M. 2004. Tolerancia a arsénico en hongos micorrízicos y sus implicaciones ecológicas. pp 96-105 In: Frías, H. J. Olalde, P. V. y Ferrera, C. R. (eds). Avance en el conocimiento de la biología de las micorrizas, Universidad de Guanajuato.

- Grimaldo, J. O. García, V. A. y Peña, L. A. 1999. Morfología cromosómica y comportamiento meiótico en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 5(1): 31-35.
- Guadarrama, Ch.P., Sánchez, G.I., Álvarez, S.J. y Zapata, J.R. 2004. Hongos y platas, beneficiosos a diferentes escalas en micorrizas arbusculares. *Ciencias*. 73(1): 38-45.
- Harrison, M. J. 2005. Singnaling in the arbuscular mycorrhizal simbiosis. *Annual Review of Microbiology*. 59:19-42.
- Hart, M.M. and Forsythe, J.A. 2012. Using arbuscular mycorrhizal fungi to improve the nutrient quality of crops; nutritional benefits in addition to phosphorus. *Scientia Horticulturae*. 148(1): 206-214.
- Hetrick, B. A. D. 1991. Mycorrhizas and root architecture. *Experientia*. 47: 355-362.
- Holguin, G., Bashan, Y., Puente, E., Carrillo, A., Bethlenfalvay, G. Rojas, A., Vazquez, P., Toledo, G., Jimenez, M., Glick, B., Gonzalez, L., Lebsky, V., Moreno, M. y Hernandez, J. 2003. Promoción del crecimiento en plantas por bacterias de la rizosfera. *Agricultura Técnica en México*. 29(2): 201-211.
- Hu, J., Chan, P.T., Wu, F., Wu, S., Zhang, J., Lin, X. and Wong, M.H. 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi induce differential Cd and P acquisition by Alfred stonecrop (*Sedum alfredii* Hance) and upland kangkong (*Ipomoea aquatica* Forsk.) in an intercropping system. *Applied Soil Ecology*. 63(1): 29-35.
- Klopfolz, S., Kuhn, H. and Requena, N. 2011. A Secreted Fungal Effector of *Glomus intraradices* Promotes Symbiotic Biotrophy. *Current Biology*. 21(14): 1204-1209.

- Kula, A. A. R., Hartnett, D. C. y Gail, W. T. W. 2005. Effects of mycorrhizal symbiosis on tallgrass prairie plant-herbivore interactions. *Ecology Letters*. 8: 61-69.
- Lara, M.C., Oviedo, Z.L.E. y Betancur, H.C.A. 2011. Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indolacético para mejorar los pastos. *Revista Zootecnia Tropical*. 29: 187-194.
- Linderman, R. G. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. Pp. 45-70. *In*: Bethlenfalvay G.J. and Linderman R. G. (eds.). *Micorrhizae in sustainable agriculture*. Special Publication 54. *American society of agronomy*. Madison. WI.
- Linderman, R. G. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. Pp. 45-70. *In*: Bethlenfalvay G.J. and Linderman R. G. (eds.). *Micorrhizae in sustainable agriculture*. Special Publication 54. *American society of agronomy*. Madison, WI.
- López, L.R., Arteaga, R.R., Vázquez, P. M.A., López, C.I.L., Sánchez, C. I. 2009. Producción de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) basado en láminas de riego y acolchado plástico. *Rev. Chapingo Serie Horticultura*. 15(1): 83-89.
- Loredo, O. C., L. López, R. y Espinosa, V. D. 2004. Plant Growth-Promoting Bacteria in Association with Graminaceous Species: A Review. *Terra Latinoamericana* 22 (2): 225-239.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko y J. Parker. 1999. *Brock*. Biología de los microorganismos. 8ª Edición revisada. Prentice Hall. Madrid, España.
- Miransari, M. 2011. Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. *Biotechnology Advances*. 29(6): 645-653.

- Molina, S., Mendoza, R., Torres, A., Sifuentes, D. y Rojas, B. 2009. Germinación de semillas de tomate cherry (*Lycopersicum pimpinellifolium*) inoculadas con diferentes cepas de *Azospirillum* sp. XIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas A.C. Torreón, Coahuila, México. Pag. 49.
- Nedorost, L., Pokluda, R. 2012. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on tomato yield and nutrient uptake under different fertilization levels. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. 60(8): 181-186.
- Nzanza, B., Marais, D., Soundy, P. 2011. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedling growth and development as influenced by *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi. *African Journal of Microbiology Research*. 5(4):425-431.
- Olalde, P. V. 1997. Fisiología de plantas micorrizadas. P. 51. *In: Memorias del VI congreso Nacional de Micología/ IX Jornadas Científicas*. Tapachula, Chiapas).
- Olawuyi, O.J., Jonathan, S.G., Babatunde, F.E., Babalola, B.J., Simon-Yaya, O.O., Agbolade, J.O., Aina, D.A. and Egun, C.J. 2014. Accession × Treatment Interaction, Variability and Correlation Studies of Pepper (*Capsicum* spp.) under the Influence of Arbuscular Mycorrhiza Fungus (*Glomus clarum*) and Cow Dung. *American Journal of Plant Sciences*. 5(1): 683-690.
- Ordookhani, K., Khavazi, K., Moezzi, A. and Rejali, F. 2010. Influence of PGPR and AMF on antioxidant activity, lycopene and potassium contents in tomato. *African J. Agricultural Research*. 5(10): 1108-1116.

- Panneerselvam, M. and Thamizhiniyan, P. 2011. Response to AM fungi and *Azospirillum* in growth of *Vigna radiata* L. Hub. *Recent Research in Science and Technology*. 3(2): 145-147.
- Parniske, M. 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Rev. Microbiol.* 6:763-775.
- Peña, V. C., Cardona, G. I., Arguelles, J. H. y Arcos, A. L. 2007. Micorrizas Arbusculares del sur de la amazonia colombiana y su relación con algunos factores fisicoquímicos y biológicos del suelo. *Acta amazónica*. 37(3): 327- 326.
- Peña, V.C., Cardona, G.I., Arguelles, J.H. y Arcos, A.L. 2007. Micorrizas Arbusculares del sur de la amazonia colombiana y su relación con algunos factores fisicoquímicos y biológicos del suelo. *Acta amazonica*. 37(3): 327-326.
- Pérez, M. L. y Granados, A. J. 2001. Fertilización nitro-fosfórica en tomate de cáscara *Physalis ixocarpa* Brot. de riego, en Irapuato, Gto., México. *Acta Universitaria*. 11: 19-25.
- Perrig, D., Boiero, L., Masciarelli, O., Penna, C., Cassán, F. and Luna, V. 2007. Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 75(1): 1143-1150.
- Ponce, V.J.J., Peña, L.A., Sánchez, C.F., Rodríguez, P.J.E., Mora, A.R., Castro, B.R., Magaña, L.N. 2011. Evaluación de podas en dos variedades de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.) cultivado en campo. *Rev. Chapingo Serie Horticultura*. 17(3): 151-160.

- Puente, M. L., García, J. E., Maroniche, G. A., Arguissain, G. G., Pirchi, H. J., Peticari, A. 2013. Plant-Growth Promotion of Argentinean Isolates of *Azospirillum brasilense* on Rice (*Oryza sativa* L.) Under Controlled and Field Conditions. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.* 13(10): 1361-1369.
- Ramírez, G.M. y Rodríguez, V.A. 2010. Señales de reconocimiento entre plantas y hongos formadores de micorrizas arbusculares. *Corpoica Cienc. Technol. Agropecu.* 11(1):, 53-60
- Ramos, C.A., Façanha, R.A., Palma, M.L., Okorokov, A.L., Cruz, M. Z., Silva, G. A., Siqueira, F.A., Bertolazi, A.A., Canton, G.C., Melo, J., Santos, W.O., Schimitberger, V.M.B. and Okorokova-Façanha, A.L. 2011. An outlook on ion signaling and ionome of mycorrhizal symbiosis. *Braz. J. Plant Physiol.* 23(1): 79-89.
- Ramos, L.C., Alcántar, G.G., Galvis, S.A., Peña, L.A., Martínez, G.A. 2002. Eficiencia de uso del nitrógeno en tomate de cascara en fertirriego. *Terra Latinoamericana.* 20(4): 465-469.
- Riera, M. y Medina, N. 2005. Influencia de las micorrizas sobre las poblaciones bacterianas y su efecto sobre los rendimientos en secuencias de cultivos. *Cultivos Tropicales.* 26 (4): 21-27.
- Robledo-Torres, V., Ramírez-Godina, F., Foroughbakhch-Pournavab, R., Benavides-Mendoza, A., Hernández-Guzmán, G., Reyes-Valdés, M.H. 2011. Development of tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) autotetraploids and their chromosome and phenotypic characterization. *Breeding Science.* 61:288-293.
- Robledo-Torres, V., Ramírez-Godina, F., Foroughbakhch-Pournavab, R.; Benavides-Mendoza, A., Hernández-Guzmán, G. and Reyes-Valdés, M.H. 2011. Development of tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.)

autotetraploids and their chromosome and phenotypic characterization. *Breeding Science*. 61(1): 288-293.

Ruíz-Sánchez, M., Armada, E., Muñoz, Y., García de Salamone, I.E.; Aroca, R.; Ruíz-Lozano, J.M. and Azcón, R. 2011. *Azospirillum* and arbuscular mycorrhizal colonization enhance rice growth and physiological traits under well-watered and drought conditions. *Journal of Plant Physiology*. 168(1): 1031-1037.

Santos, E.A., Ferreira, L.R., Costa, M.D., Silva, M.C.S., Reis, M.R. and França, A.C. 2013. Occurrence of symbiotic fungi and rhizospheric phosphate solubilization in weeds. *Acta Scientiarum. Agronomy Maringá*. 35(1): 49-55.

Selvakumar, G. and Thamizhiniyan, P. 2011. The Effect of the Arbuscular Mycorrhizal (AM) Fungus *Glomus intraradices* on the Growth and Yield of Chilli (*Capsicum annuum* L.) Under Salinity Stress. *World Applied Sciences J*. 14(8): 1209-1214.

SIAP-SAGARPA. 2014. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>. Página consultada el 17 de Marzo del 2014.

Sridevi, S. and Ramakrishnan, K. 2010. Effects of combined inoculation of am fungi and *azospirillum* on the growth and yield of onion (*Allium cepa* L.). *J. Phytology*. 2(1): 88-90.

Valdés, M., Cayetano R. A., Leyva, M. A., Camacho A. D. 2004. Promoción del crecimiento en vivero de casuarina equisetifolia (L.) por microorganismos simbioses. *Terra Latinoamericana*. 22 (2): 207-215.

Wahb-Allah, M., Abdel-Razzak, H., Alsadon, A. and Ibrahim, A. 2014. Growth, Yield, Fruit Quality and Water Use Efficiency of Tomato under Arbuscular

Mycorrhizal Inoculation and Irrigation Level Treatments. *Life Science Journal*. 11(2): 109-117.

Wu, Q.S. and Xia, R.X. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. *J. Plant Physiology*. 163(4): 417-425.