

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

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

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

Aspirante: MCs. Elein Terry Alfonso

Tutor: Dr. Angel Leyva Galán

La Habana

2005

SÍNTESIS

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

I. INTRODUCCIÓN

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- ♦ Conocer la influencia de diferentes especies de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) y de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV) en inoculaciones simples y coinoculaciones sobre el crecimiento de plántulas de tomate (var. Amalia) en la etapa de semillero.
- ♦ Estudiar la efectividad de las inoculaciones simples y coinoculaciones de HMA y RPCV como sustitutos parciales de la fertilización nitrogenada, y su influencia sobre el desarrollo, calidad y rendimiento del tomate, en la fase de plantación, en sistemas de monocultivo y cultivo asociado.
- ♦ Conocer la efectividad de la combinación de los microorganismos benéficos y productos bioactivos en su estímulo sobre el desarrollo y rendimiento del cultivo, en sistemas de monocultivo y cultivo asociado.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. La Agricultura Ecológica

2.1.1. Antecedentes.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2.1.2. Definición

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- ♦ Estructura diversificada del sistema de producción.
- ♦ Ver el conjunto del sistema productivo en forma integral e interdependiente holístico).
- ♦ Fomento de la fertilidad autosostenida del suelo.
- ♦ Aprovechamiento, lo mejor posible, de las fuentes de generación propias de la fertilidad de la finca.
- ♦ Nutrición indirecta de las plantas mediante la actividad biológica del suelo.
- ♦ Enfrentamiento de las causas y no de los síntomas en la protección vegetal, fomentando el equilibrio y la regulación ecológica.

- ♦ Conservación y labranza del suelo sobre la base del mejoramiento bioestructural y la materia orgánica.
- ♦ Selección y mejoramiento de variedades de vegetales y razas de animales en función de las condiciones naturales.
- ♦ Crianza y producción animal sanas, de acuerdo con la naturaleza y requerimientos fisiológicos de los animales.
- ♦ Producción ecológica, económicamente estable y socialmente justa.

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

- ♦ Entender y respetar las leyes de la ecología, trabajando con la naturaleza y no contra ella.
- ♦ Considerar al suelo como un organismo vivo.
- ♦ Reducir la lixiviación de los elementos minerales, en virtud del papel decisivo asignado a la materia orgánica en el suelo.
- ♦ Dar una importancia preponderante al conocimiento y al manejo de los equilibrios naturales encaminados a mantener los cultivos sanos, trabajando con las causas (y no con los síntomas) por medio de la prevención.
- ♦ Trabajar con tecnologías apropiadas aprovechando los recursos locales de manera racional.
- ♦ Proteger el suelo con los recursos renovables y disminuir el uso de los no renovables.
- ♦ Reducir y eliminar el uso y consumo de los aportes energéticos ligados a los insumos externos y, en consecuencia, la dependencia exterior de los mismos.
- ♦ Fomentar y retener la mano de obra rural ofreciendo una fuente de empleo permanente.
- ♦ Favorecer la salud de los trabajadores, los consumidores y el ambiente, al eliminar los riesgos asociados al uso de agroquímicos sintéticos.
- ♦ Que sean socialmente justas y humanas, porque trabajan con unidades culturales, estimulan la autogestión y permiten el dominio tecnológico social.

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

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

Mantener o incrementar la fertilidad del suelo a largo plazo.

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

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

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

una p
huido

2.1.4. Calidad nutricional de los productos ecológicos.

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

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

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

cadaver
hugo

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

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

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

- ♦ El desarrollo de una agricultura intensiva y centrada en el monocultivo lo cual lleva a un abuso de fertilizantes inorgánicos. El agricultor, para obtener el máximo rendimiento de sus cosechas hace un uso indiscriminado y sistemático de abonos nitrogenados de origen mineral, que al aumentar el peso de los cultivos con gran cantidad de agua, aumentan su producción, pero en detrimento de su calidad e inocuidad.
- ♦ Producción bajo condiciones de invernadero. Con este sistema para obtener productos fuera de su estación, la acumulación de nitratos en frutos y vegetales es mucho más alta.

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

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

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

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

2.2. Biofertilizantes. Importancia para la agricultura.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Los efectos reportados por la inoculación de este microorganismo parecen ser dependientes del tipo de planta hospedera, de la cepa de *Azospirillum* sp usada y de las condiciones del medio ambiente; este microorganismo produce una asociación bacteria - raíz capaz de estimular la producción de sustancias estimuladoras del crecimiento, incrementándose el número de pelos radicales y generando con ello una mayor superficie radical y mejor disponibilidad del agua y los

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

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

De igual forma, Bashan y Holguin (1997) plantean que los efectos más marcados son cambios morfológicos en el sistema radical. Estos cambios están directamente relacionados con las concentraciones del inoculo (niveles más altos que el óptimo pueden inhibir el efecto, mientras dosis bajas de bacterias pueden no afectar). La colonización de las raíces puede ser interna o externa; en la colonización externa la bacteria forma agregados pequeños y en la colonización interna las células de *Azospirillum* sp pueden colonizar las raíces penetrando dentro de los espacios intercelulares, aunque pueden colonizar enteramente el sistema radical. La colonización eficiente por las células de *Azospirillum* sp, después de la inoculación, es esencial para obtener una respuesta de las plantas a la presencia de la bacteria.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2.3.1. El Vermicompost y su influencia en las plantas.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2.3.2. Los Brasinoesteroides y sus análogos en la agricultura.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2.4.1. Generalidades

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

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

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

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

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

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

- ♦ Período temprano y Medio temprano (21 agosto al 20 octubre): se caracteriza por temperaturas altas y la ocurrencia de fuertes lluvias que disminuyen con el avance de la fecha, deben utilizarse cultivares con adaptación a las altas temperaturas y humedad en los diferentes ciclos vegetativos.
- ♦ Período normal u óptimo (21 de octubre al 20 diciembre): es el período más favorable para la mayor producción de tomate en Cuba y se caracteriza por temperaturas aún altas al principio, pero con tendencia a disminuir gradualmente con el avance de la fecha. Deben emplearse cultivares de alto potencial productivo y de diferentes ciclos.

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

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

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

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

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

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

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

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

2.4.3. Nutrición y fertilización en el cultivo del tomate.

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

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

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

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

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

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

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

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

En Cuba, resultados experimentales obtenidos en suelos Ferralíticos Rojos, con contenidos medios y altos de P_2O_5 y K_2O se han tomado como elemento básico para determinar las dosis de fertilizantes a aplicar, estableciéndose la aplicación de 150 kg/ha de N; 75 kg/ha de P_2O_5 y 100 kg/ha de K_2O (Cuba, M1NAG, 1984). De forma general, en el tomate se aplican 0.50-1.86 t/ha de la formulación 8-7.5-12 y 0.07-0.47 t/ha de 33-0-0 que proporcionan al suelo 125-144 kg/ha de N; 42-142 kg/ha de P_2O_5 y 72-232 kg/ha de K_2O (Huerres y Caraballo, 1991).

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

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

2.5. Consideraciones generales.

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

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

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

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

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

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

III. Materiales y Métodos.

3.1. Ubicación y caracterización edafoclimática del área experimental.

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

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

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

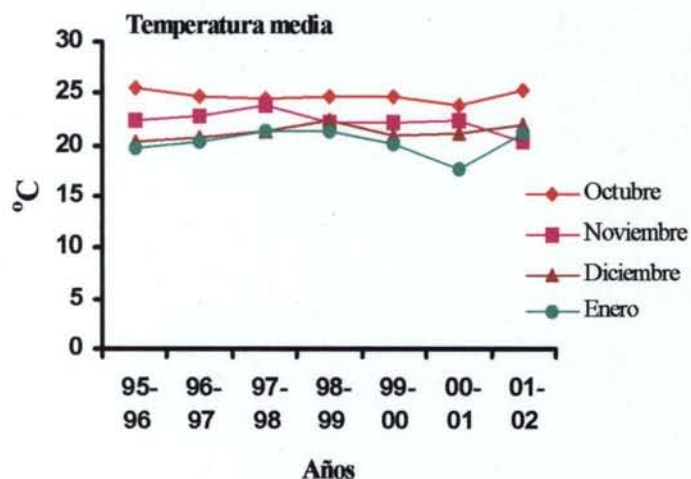
Tabla 1. Población microbiana.

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

3.2. Esquema experimental.

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

Período Óptimo



Período Temprano

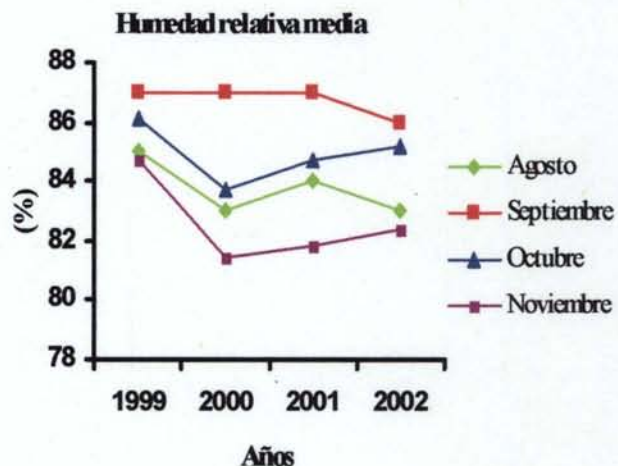
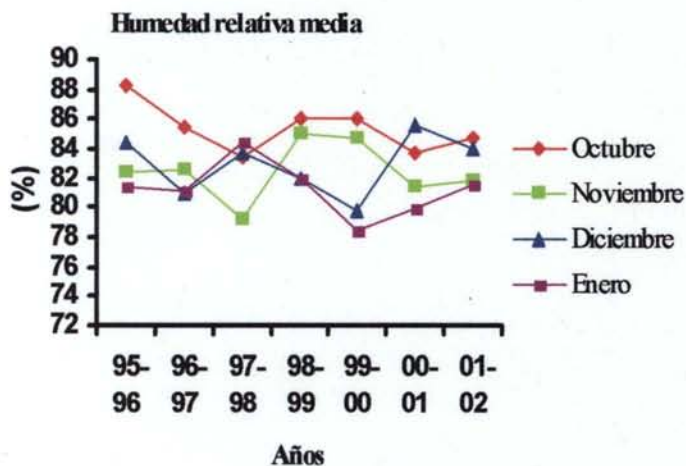
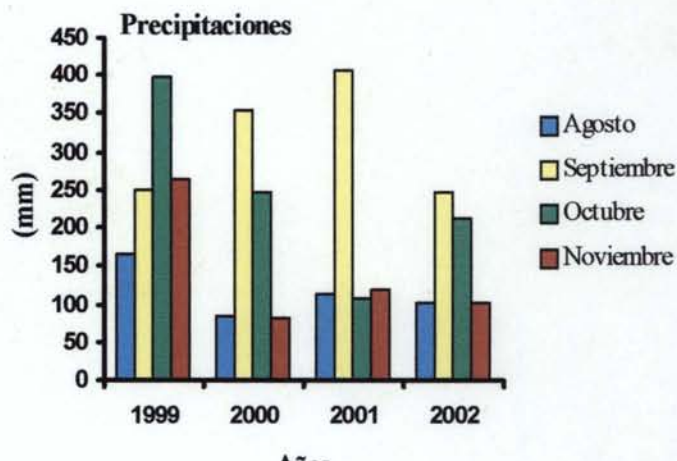
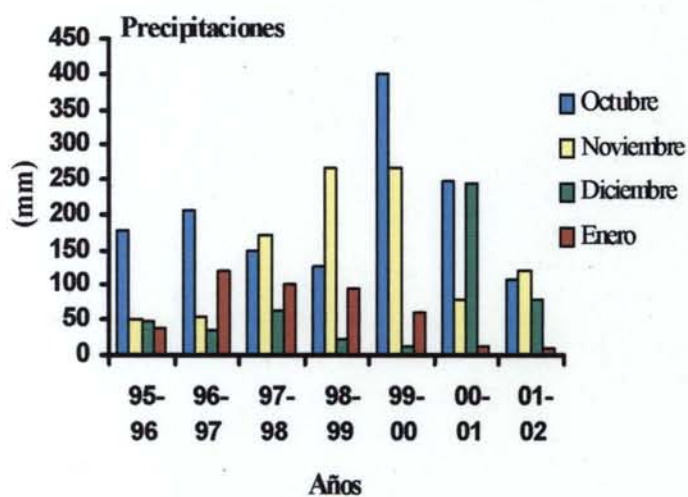
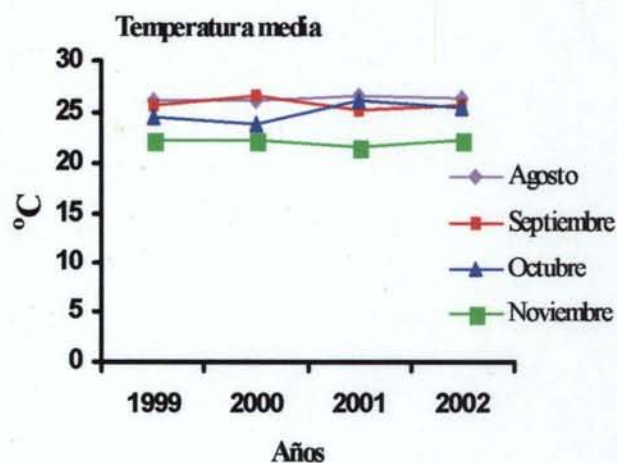
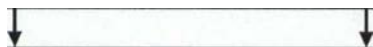


Figura 1. Algunas características climáticas predominantes en los períodos de trabajo experimental.

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

Experimentos en período óptimo



Evaluación y selección de diferentes especies de HMA

Evaluación y selección de diferentes especies de RPCV.

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

Experimentos en período temprana

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

3.3. Aspectos fitotécnicos generales.

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

momento de la siembra, en el trasplante y 30 días después. Se aplicó como fertilizante de fondo fósforo y potasio (superfosfato simple, 20% P_2O_5 ; y cloruro de potasio, 60% K_2O) en el momento del trasplante, a una dosis de $75 \text{ kg } P_2O_5 \cdot \text{ha}^{-1}$ y $100 \text{ kg } K_2O \cdot \text{ha}^{-1}$ respectivamente (Cuba, MINAGRI, 1984). En los experimentos donde se sustituyeron los fertilizantes minerales, se utilizaron sólo biofertilizantes y productos bioactivos.

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

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

En los experimentos se evaluaron dos grupos de microorganismos: Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV) y Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA), los cuales fueron inoculados a la semilla según la tecnología de recubrimiento propuesta por Gómez *et al.*, (1996) y Fernández *et al.*, (2000). Las cepas y títulos de cada inóculo fueron: *Azospirillum brasilense* (Sp7) = $3,42 \times 10^9 \text{ ufc} \cdot \text{g}^{-1}$; *Azospirillum lipoférum* (SpBr17) = $3,27 \times 10^9 \text{ ufc} \cdot \text{g}^{-1}$, ambos en soporte sólido (turba tamizada y estiércol). Los hongos MA poseían un título de 25 esporas g^{-1} .

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

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

Tabla 2. Experimentos desarrollados

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

3.4. Experimentos desarrollados.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tabla 9. Tratamientos estudiados.

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

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

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

Tabla 10. Tratamientos estudiados como alternativa nutricional ecológica.

(A). Período óptimo (Unicultivo)

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

Nota: M.O. = Materia Orgánica

(B). Período temprano (Policultivo)

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

3.5. Evaluaciones realizadas durante el desarrollo de los experimentos.

1. **Análisis químico del suelo:** Los muestreos de suelos se realizaron al inicio de los experimentos con barrena edalblógica. Las evaluaciones que a continuación se enumeran fueron realizadas siguiendo las técnicas descritas en el Manual de técnicas analíticas para el análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos (INCA, 1999)
 - ♦ Materia orgánica (%): por el método de Walkley y Black
 - ♦ pH (H₂O): por el método potenciométrico
 - ♦ P₂O₅ (ppm): mediante extracción con H₂SO₄ 0,1 N y determinación colorimétrica
 - ♦ K, Ca, y Mg intercambiables (cmol.kg⁻¹): mediante extracción con NH₄Ac 1 N a pH 7 y determinación de K por fotometría de llama y Ca y Mg por complexometría.
2. **Evaluaciones en las plantas:** se realizaron a los 30 días después de la germinación y en el trasplante en la etapa de floración - fructificación **a una** muestra de 20 plantas por tratamientos tonadas al azar, se le realizaron las siguientes evaluaciones:
 - ♦ Altura (cm): con regla graduada, se midió desde el cuello de la raíz hasta la axila de la hoja más joven. En el experimento en macetas se siguió una dinámica semanal hasta los 51 días posteriores a la germinación, realizándose el análisis por cada momento de evaluación.
 - ♦ Longitud radical (cm): con regla graduada, se midió la raíz principal del cultivo
 - ♦ Diámetro del tallo (cm): con un pie de rey, se midió a partir de dos centímetros del cuello de la raíz
 - ♦ Masa seca de las plantas (g), por pesada en balanza analítica y secado en estufa a 70 °C hasta masa constante.
 - ♦ Contenido de proteínas (mg.g⁻¹ masa fresca), según Bradford (1976)
 - ♦ Contenido de fenoles (mg.g⁻¹ masa fresca), según Morales y Pozo (1985) Se realizó en el momento del trasplante y 30 días después de este.
 - ♦ Contenidos de NPK foliar (%): por digestión húmeda con H₂SO₄ + Se, según método Kjeldahl y determinación colorimétrica con reactivo Nessler y azul de molibdeno para N y P respectivamente, y fotometría de llama para el K. Las muestras fueron tomadas en la fase de floración-fructificación del cultivo, entre el tercero y quinto par de hojas.
 - ♦ Número de flores y frutos por planta. En la etapa de floración - fructificación.
 - ♦ Fructificación: resultado de la división del número de frutos/planta entre el número de flores/planta expresada en por ciento.
 - ♦ Masa promedio de los frutos (g): resultado de dividir el peso total de los frutos entre la cantidad de frutos de la parcela.
 - ♦ Rendimiento agrícola (t.ha⁻¹): por pesada de la producción total del área de cálculo, extrapolada a 1 ha⁻¹

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

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

- ♦ Contenido de nitratos (mg.kg^{-1} de fruta fresca), por cromatografía gaseosa, según Noa *et al.*, 1990
- ♦ Contenido de sólidos solubles (Brix %), por método refractométrico
- ♦ Acidez (%), por valoración con NaOH 0,1 N, utilizando fenolftaleína como indicador.

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

- ♦ Colonización micorrízica (%): tomando muestras de raicillas de 10 plantas por tratamientos, aplicando la metodología descrita por Phyllips y Hayman (Herrera *et al.*, 1995).
- ♦ Densidad visual, por el método de Trouvelot *et al.*, (1986)
- ♦ Población bacteriana en la rizosfera del cultivo (ufc. g^{-1} suelo rizosférico): según los métodos descritos por Bashan *et al.*, (1996).

3.6. Análisis estadísticos.

Todos los resultados experimentales fueron sometidos a Análisis de Varianza según el diseño experimental empleado y, en los casos que existieron diferencias significativas entre las medias de los tratamientos, se utilizó como criterio discriminante la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan.

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

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

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

3.7. Evaluación económica

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

- ♦ Valor de la producción ($\$.ha^{-1}$): resultado del rendimiento por el precio de una tonelada de fruto.
- ♦ Costo de producción ($\$.ha^{-1}$): según los gastos incurridos en la producción de una hectárea
- ♦ Beneficio ($\$.ha^{-1}$): resultado de la diferencia entre el valor de producción y el costo
- ♦ Relación Beneficio / Costo: cociente obtenido de dividir el beneficio entre el costo de producción.

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

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

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

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

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

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

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

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

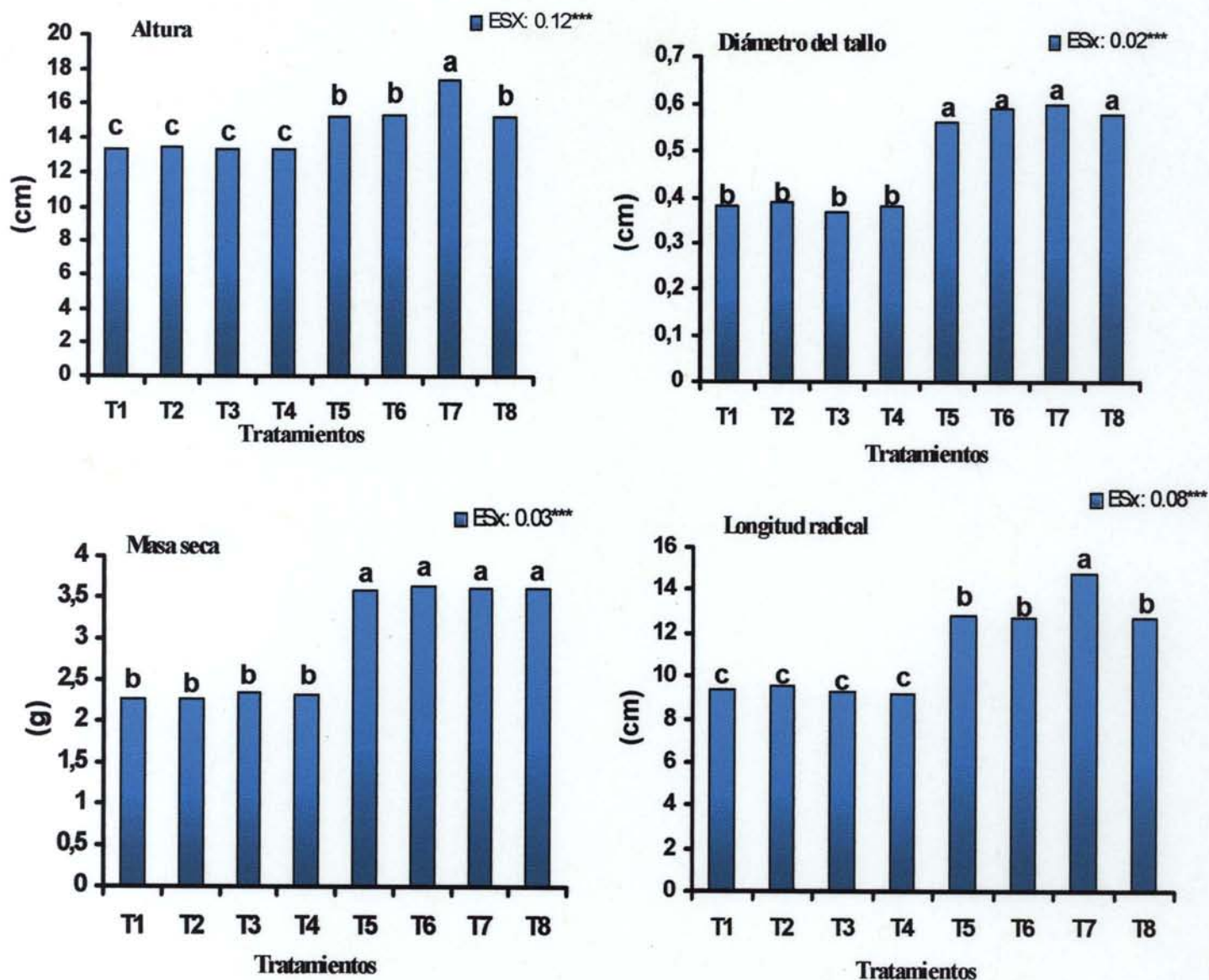
4.1.1.1. Efectos de diferentes especies de *Glomus* spp en el crecimiento de plántulas de tomate.

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

En cada una de las variables evaluadas, los tratamientos donde se realizó la inoculación de cualquiera de las especies de *Glomus* spp, complementadas con 30 kg N.ha⁻¹ en la siembra (T5-T6-T7) y donde sólo se aplicó la fertilización mineral (T8), no mostraron diferencias significativas entre ellas y presentaron valores acordes a lo establecido, dentro de los parámetros de calidad de las plántulas para ser trasplantadas (entre 15 y 18 cm de altura y longitud radical superior a 10 cm) según el Instructivo técnico del cultivo (Cuba, MINAGRI, 1984).

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

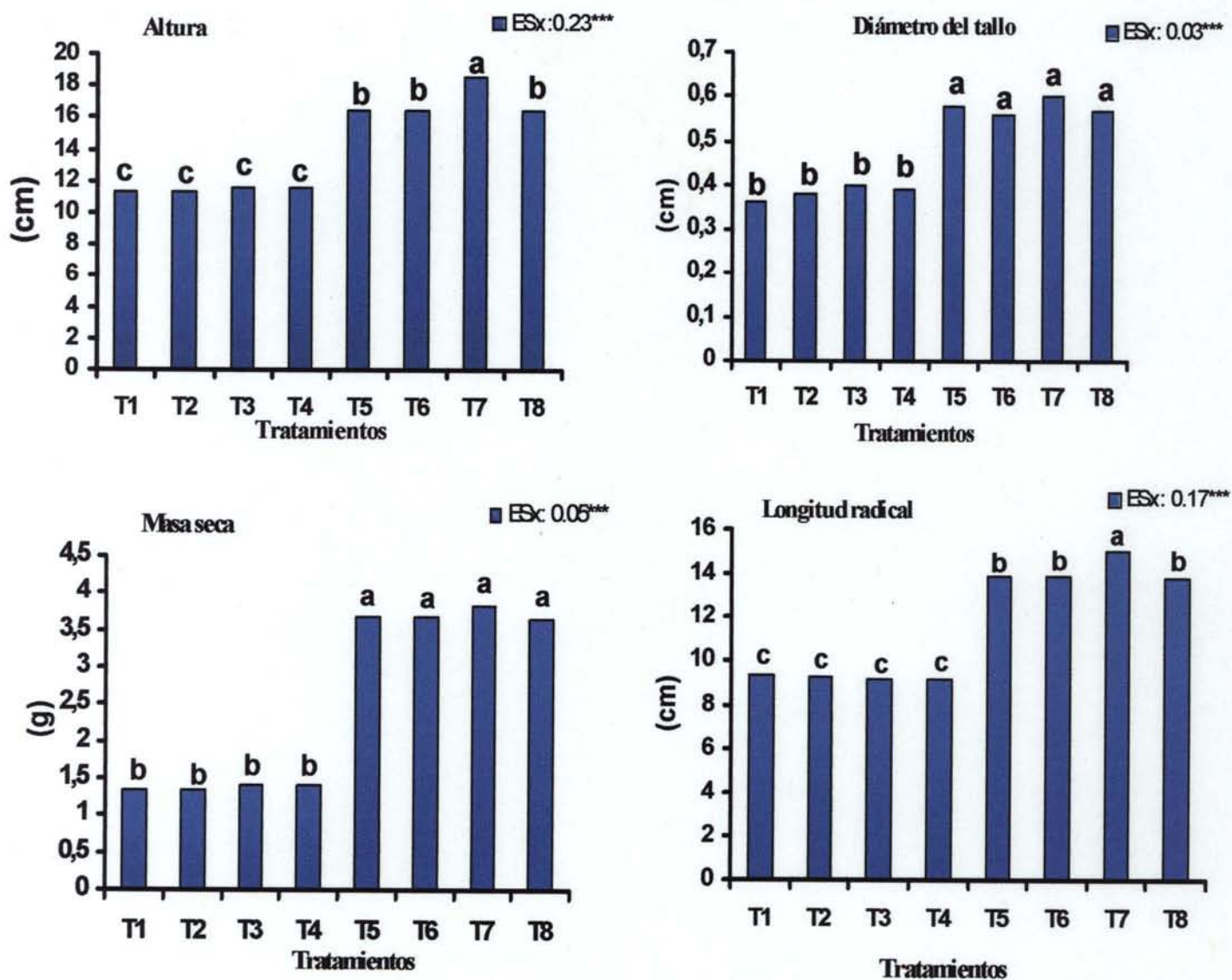
Para los restantes tratamientos, que recibieron la inoculación sin aplicación de la dosis de fertilizante mineral recomendada para esa etapa del cultivo (T2-T3-T4), no se lograron plántulas con adecuada calidad, los que a su vez tuvieron un comportamiento similar al testigo absoluto (T1); de esta forma, se evidencia como la fertilización nitrogenada se convierte en el factor limitante para la obtención de plántulas de tomate con adecuada calidad para el trasplante en el período de tiempo señalado.



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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tratamientos	Flores /planta No		Frutos /planta No.		Fructificación %.	
	1995	1996	1995	1996	1995	1996
1. Testigo Absoluto (sin fertilizar)	3.83 h	3.92 f	2.61 f	2.81 e	68	71
2. <i>G. mosseae</i> + 0 kg N.ha ⁻¹	5.39 f	5.79 de	3.52 f	3.57 e	65	62
3. <i>G. fasciculatum</i> + 0 kg N.ha ⁻¹	4.63 g	4.70 f	3.37 f	3.33 e	73	71
4. <i>G. clarum</i> + 0 kg N.ha ⁻¹	4.69 g	4.88 ef	3.54 f	3.48 e	75	71
5. <i>G. mosseae</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	11.40 d	10.56 c	7.47 d	8.50 c	65	80
6. <i>G. fasciculatum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	12.32 c	10.64 c	7.55 d	8.44 c	61	79
7. <i>G. clarum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	11.83 cd	10.75 c	9.64 c	8.60 c	81	80
8. <i>G. inosaeae</i> + 120 kg N.ha ⁻¹	13.89 b	12.42 b	12.39 b	10.62 b	89	85
9. <i>G. fasciculatum</i> + 120 kg N.ha ⁻¹	14.23 b	12.64 b	12.42 b	11.55 b	87	91
10. <i>G. clarum</i> + 120 kg N.ha ⁻¹	17.13 a	16.60 a	15.52 a	14.72 a	90	89
11. T. de Producción (150 kg N.ha ⁻¹)	17.11 a	17.31 a	15.40 a	13.57 a	90	78
12. 90 kg N.ha ⁻¹	7.42 e	6.69 d	5.47 e	5.48 d	74	81
13. 120 kg N.ha ⁻¹	11.83 cd	10.52 c	8.62 cd	8.38 c	73	80
ES x	0.24***	0.35***	0.38***	0.40***	----	----

Tratamientos	Masa Promedio/fruto		Rendimiento (t.ha ⁻¹)	
	1995	1996	1995	1996
1. Testigo Absoluto(sin fertilizar)	64.41 g	60.55 g	3.81 j	3.90 g
2. <i>G. mosseae</i> + 0 N.ha ⁻¹	68.42 e	69.38 f	5.74 i	5.73 f
3. <i>G. fasciculatum</i> + 0 N.ha ⁻¹	66.36 f	68.43 f	5.81 i	5.38 fg
4. <i>G. clarum</i> + 0 N.ha ⁻¹	68.05 e	70.44 f	5.08 j	5.22 fg
5. <i>G. mosseae</i> + 90 N.ha ⁻¹	78.56 c	75.47 e	13.32 g	14.88 d
6. <i>G. fasciculatum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	77.61 cd	78.45 d	14.52 f	15.35 d
7. <i>G. clarum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	77.63 cd	81.50 c	18.02 d	16.37 d
8. <i>G. mosseae</i> + 120 kg N.ha ⁻¹	87.44 b	90.41 a	24.65 c	22.68 c
9. <i>G. fasciculatum</i> + 120 kg N.ha ⁻¹	90.54 a	91.59 a	26.63 b	25.03 b
10. <i>G. clarum</i> + 120 kg N.ha ⁻¹	88.58 b	80.42 c	29.44 a	28.06 a
11. T. de Producción. (150 kg N.ha ⁻¹)	78.73 c	88.43 b	29.26 a	28.32 a
12. 90 kg N.ha ⁻¹	76.54 d	81.47 c	10.01 h	10.27 e
13. 120 kg N.ha ⁻¹	78.62 c	78.39 d	15.52 e	15.20 d
ES x	0.44***	0.44***	0.32***	0.50***

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

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

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

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

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

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

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

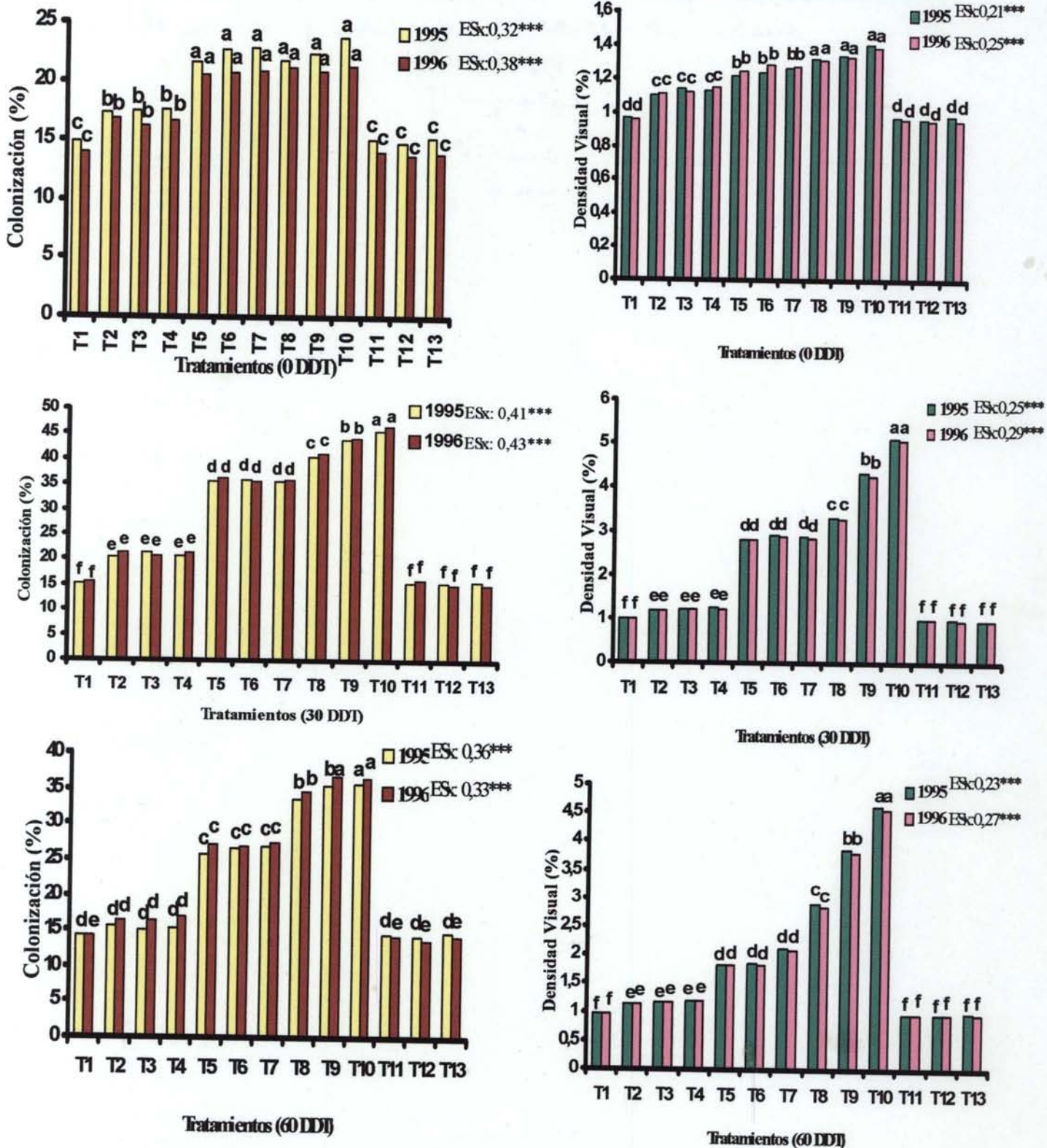
En general estos resultados concuerdan con los obtenidos por Cuevas, (1998), al inocular HMA en el cultivo del tomate (variedad "Campbell-28") en un suelo Hidromórfico Gley nodular ferruginoso, logrando disminuir la dosis del fertilizante nitrogenado, con la inoculación de la especie *G. fasciculatum*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

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

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

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

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



1. T. absuelto, 2. *G. mosseae* +0, 3. *G. fasciculatum* +0, 4. *G. clarum* +0, 5. *G. mosseae* +90, 6. *G. fasciculatum* +90, 7. *G. clarum* +90, 8. *G. mosseae* +120, 9. *G. fasciculatum* +120, 10. *G. clarum* +120, 11. T. Producción, 12. 90 kg N/ha. 13. 120 kg N/ha (DDT: Días después del trasplante). Letras comunes no difieren para $\alpha < 0.001$

Figura 3. Influencia de las especies de HMA en la colonización rizosférica en ambos años.

El porcentaje de colonización encontrado en ese momento, puede deberse a la inducción temprana de las enzimas PR2, PR3 y fenilalanina amonio liasa en raíces de tomate (var. 'Amalia'), las cuales ayudan al avance del hongo en la raíz y por tanto al establecimiento temprano de la simbiosis (Pérez et al., 2004). Los tratamientos anteriormente mencionados, difieren a la vez de los restantes (1,2,3,4,11,12,13), correspondientes a la presencia de las micorrizas nativas y a las inoculaciones en ausencia de la fertilización nitrogenada.

Sin embargo, a los 30 días después del trasplante, se obtuvieron valores superiores de colonización y sobre todo de densidad visual, lo cual refleja con mayor claridad e intensidad la presencia del miceto y de hecho la propia eficiencia simbiótica, alcanzándose la mayor colonización (45%) con la especie *G. clarum*. Esta evaluación coincide con la plena etapa de simbiosis entre el hongo y la planta, donde según Bonfante-Fassolo y Perotto (1995), hay una explosión del crecimiento y desarrollo del vegetal, debido al aumento del volumen radical y a una mayor capacidad y eficiencia en la absorción, provocado por la presencia de hifas externas del hongo en las raíces colonizadas; el establecimiento del hongo representa una traslocación de fotosintatos desde la parte aérea hasta la zona radical, estableciéndose relaciones fisiológicas positivas entre la planta hospedera y el endófito bajo condiciones ambientales adecuadas.

También, en este momento las plantas se encuentran en la plena etapa de floración - fructificación del cultivo, donde son altas sus demandas nutricionales y al coincidir con la mayor colonización del hongo, se logrará entonces una mejor relación simbiótica planta - HMA.

A los 60 días después del trasplante, se aprecia que la población del hongo en los tratamientos inoculados comienza a declinar, coincidiendo esta evaluación con la etapa de senescencia del cultivo, momento en el cual se presenta la muerte y lignificación radical, además de ser mínimos los recursos nutricionales de las plantas producto a que está finalizando su ciclo biológico. El resultado obtenido en cuanto al nivel poblacional en los tres momentos de realizada las evaluaciones fue similar en el experimento realizado al año siguiente (1996).

La baja población obtenida en los tratamientos no inoculados (TI, TI 1, T12, T13), denota la necesidad de potenciar las poblaciones nativas de estos microorganismos mediante la inoculación artificial, esta técnica, según Augé (2000), resulta factible en situaciones específicas en que se desea alterar la composición y/o abundancia de las poblaciones de estos hongos en busca de un beneficio biológico particular. Con frecuencia, las poblaciones naturales de hongos micorrizógenos son insuficientes o ineficientes para el establecimiento de una buena simbiosis; en estos casos, la eficiencia de la micorriza puede ser incrementada ya sea por un manejo cultural de los hongos nativos, o por inoculación de hongos más eficientes y competitivos (Guerrero et al., 1996).

Valores similares de colonización fúngica han sido publicados por Cuevas (1998) y Pulido (2002), como resultados de pruebas de inoculación de cepas de probada eficiencia. A pesar del costo energético que representa para la planta la asociación, ésta parece tener carácter mutualista, dado a que el hongo obtiene carbohidratos y otras fuentes de carbono para su metabolismo, además de contar con un hábitat protegido de antagonistas en los tejidos corticales de la raíz y aún en la rizosfera (Morton y Redecker, 2001 y Martínez *et al.*, 2002).

De acuerdo a los resultados que aquí se presentan, se corrobora la efectividad de la inoculación como una vía para potenciar el efecto individual de los hongos micorrizógenos estudiados, lográndose una relación causa - efecto a partir de la respuesta agrobiológica obtenida sobre el crecimiento y desarrollo, producto de un alto porcentaje de colonización.

En la campaña de 1996, los resultados fueron completamente reproducibles, corroborándose la eficiencia de la especie *G. clarum* para el cultivo del tomate (variedad 'Amalia'). La aplicación conjunta de la inoculación y la dosis de 120 kg N.ha^{-1} de fertilizante nitrogenado (que representa el 80% de la fertilización que requiere el cultivo), incrementó la eficiencia de la simbiosis con esta especie, lo cual se expresó en incrementos en la colonización micorrízica y el rendimiento (Figura 4), obteniéndose una dosis adecuada de fertilizante para lograr un exitoso funcionamiento micorrízico.

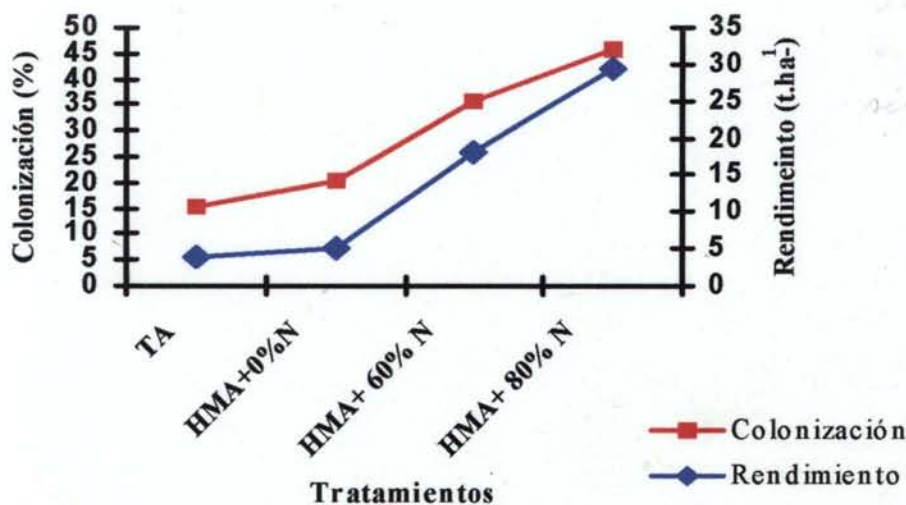


Figura 4. Influencia de los niveles de fertilización en la colonización rizosférica y el rendimiento agrícola.

En los resultados que se presentan, la dosis de 120 kg N.ha^{-1} , permitió que se lograra la simbiosis anteriormente referida; sin embargo, la inoculación de las especies con sólo la aplicación de 90 kg N.ha^{-1} , resultó ser una dosis insuficiente para potenciar el rendimiento del cultivo,

poniéndose de manifiesto la necesidad de un óptimo de nutrientes para que la simbiosis se exprese plenamente

Con la dosis de 90 kg N.ha⁻¹ (60% del fertilizante nitrogenado) para las plantas micorrizadas, fue menor la colonización micorrízica y por ende, la simbiosis y el rendimiento agrícola, lo que evidencia que el óptimo funcionamiento micorrízico se da cuando la planta recibe una adecuada cantidad de nutrientes. La inoculación de HMA en ausencia del portador nitrogenado (HMA + 0% N) superó al testigo absoluto, manifestándose en alguna medida el efecto de la micorrización en el rendimiento del cultivo.

Algunos autores como Hernández et al., (2001) y Sánchez (2001), han demostrado mediante análisis de correlaciones, la influencia directa de la inoculación con HMA en el rendimiento del tomate (variedad LIC 3880) y café, respectivamente.

De esta manera, la respuesta del cultivo del tomate (var. 'Amalia') a la inoculación micorrízica, pone de manifiesto la acción positiva ejercida a partir de un alto porcentaje de colonización, lo que conllevó al efecto agrobiológico obtenido propiciando un estímulo en el rendimiento del cultivo y a una mayor eficiencia en la absorción de los nutrientes aportados con la fertilización mineral, lo que da una idea del éxito de esta asociación en la que ambos organismos se benefician mutuamente.

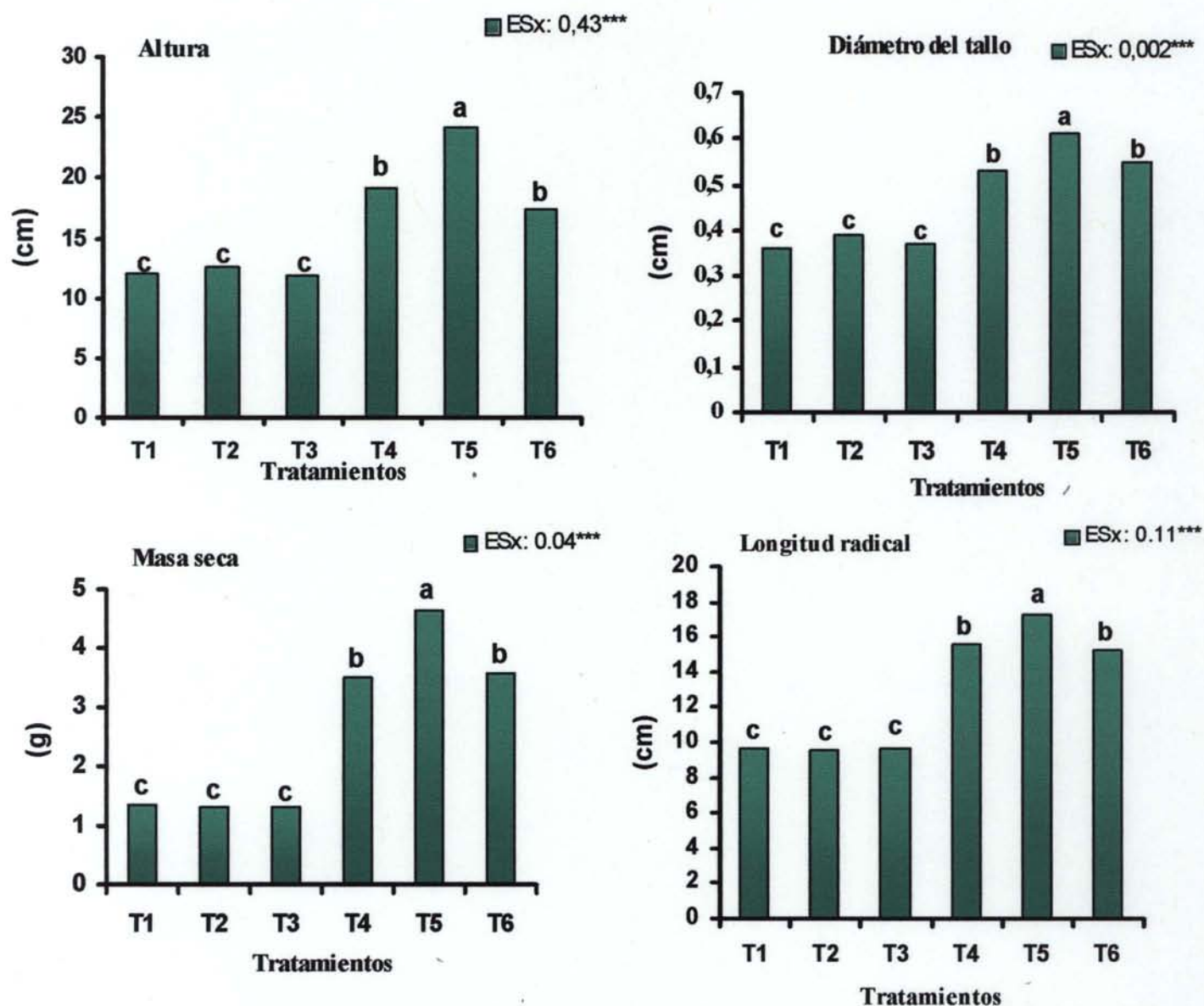
4.1.2. Evaluación y selección de diferentes especies de RPCV. Influencia en el crecimiento, rendimiento y colonización en el cultivo del tomate.



4.1.2.1. Efectos de diferentes especies de *Azospirillum* spp en el crecimiento de plántulas de tomate.

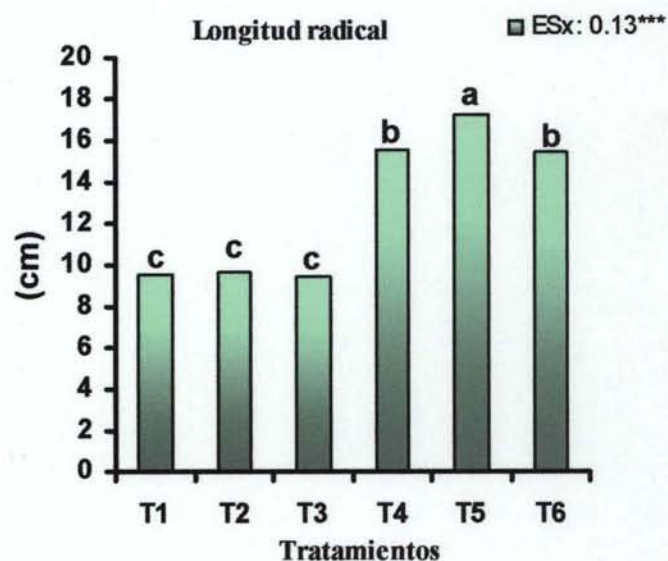
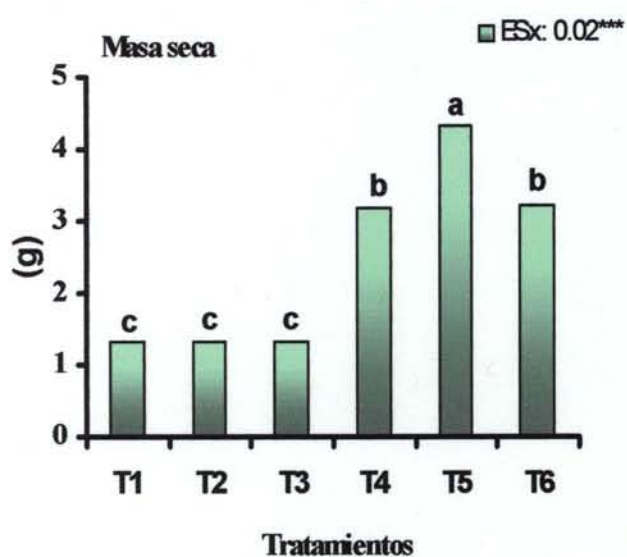
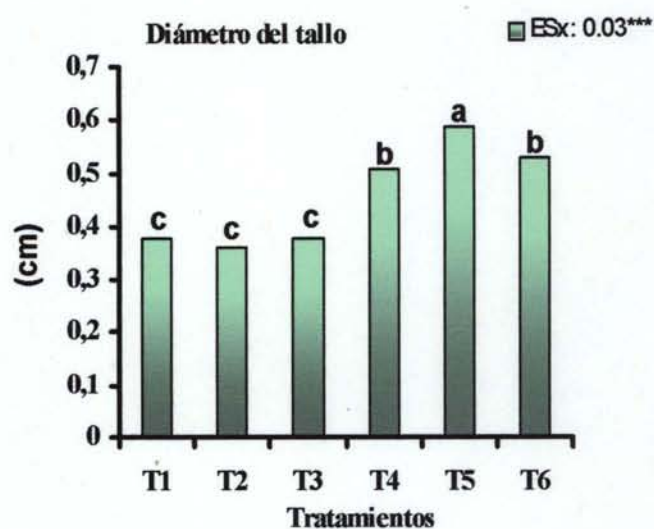
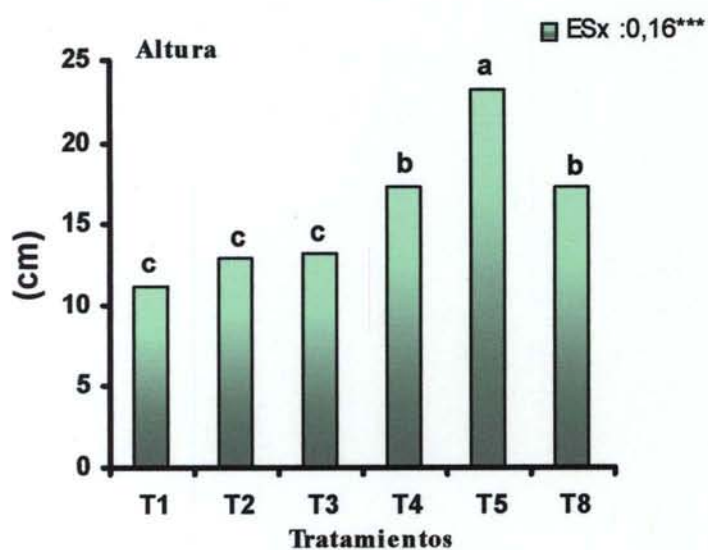
Hasta la fecha, existe información de microorganismos que aislados de diversos ecosistemas, son capaces de excretar sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, las cuales en pequeñas concentraciones, influyen sobre el metabolismo de las plantas, provocando variaciones en su crecimiento y desarrollo; entre ellas, las más conocidas son las fitohormonas, sustancias de elevada actividad biológica y que son producidas en gran medida por rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (Bashan, 1998b); entre ellas, el género *Azospirillum* sp es considerado un sistema modelo para el estudio de la asociación entre bacterias y plantas que no nodulan.

Los efectos de la inoculación de especies de *Azospirillum* spp sobre el crecimiento de las plántulas de tomate, fueron estudiados durante los años 1995 y 1996. En la Figura 5 (a y b) puede ser apreciado el comportamiento de algunas de las principales variables del crecimiento como son: altura, diámetro del tallo, masa seca de las plántulas y la longitud radical.



T1. Testigo Absoluto T2. *Azospirillum lipoferum* + 0 kg N/ha T3. *Azospirillum brasilense* + 0 kg N/ha
 T4. *Azospirillum lipoferum* + 30 kg N/ha T5. *Azospirillum brasilense* + 30 kg N/ha T6. Testigo de
 Producción (30 kg N/ha)

Figura 5 (a). Efectos de *Azospirillum* sp en el crecimiento de las plántulas (1995).
 Medias con letras comunes no difieren significativamente según Duncan para $p < 0.001$



T1. Testigo Absoluto T2. *Azospirillum lipoferum* + 0 kg N/ha T3. *Azospirillum brasilense* + 0 kg N/ha
 T4. *Azospirillum lipoferum* + 30 kg N/ha T5. *Azospirillum brasilense* + 30 kg N/ha T6. Testigo de Producción (30 kg N/ha).

Figura 5 (b). Efectos de *Azospirillum* sp en el crecimiento de las plántulas (1996).

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

De las dos especies estudiadas, *Azospirillum brasilense* manifestó el mejor comportamiento, al ser combinada con 30 kg N.ha⁻¹ en el momento de la siembra (T5), manifestando diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) respecto al tratamiento no inoculado (T6) que corresponde al testigo de producción, sobrepasando los valores establecidos para que una plántula sea trasplantada con adecuada calidad, (Cuba, MINAGRI, 1984). El comportamiento de este tratamiento respecto a las plantas testigo fue el siguiente: un incremento de la altura equivalente al 30 %, la longitud radical fue superior en un 26%, el diámetro del tallo un 17% y la masa seca por planta en un 38 %, como promedio de los dos años de realizadas las evaluaciones.

El mecanismo de acción mediante el cual *Azospirillum* sp promueve el crecimiento vegetal es aún un tema no bien dilucidado; al respecto Bashan y Levanony (1990) plantean, que posiblemente más de un mecanismo de acción está involucrado en la asociación y que estos operan simultáneamente o en sucesión. La suma de los diferentes mecanismos, reflejan los cambios observados en el crecimiento de las plantas, cuando son inducidos bajo condiciones ambientales propicias. Dentro de estos mecanismos se encuentran la producción de compuestos promotores del crecimiento vegetal, los cuales inducen un incremento en el número y longitud de los pelos radicales (Bacilio-Jinenez et al., 2001), a lo que se suma las contribuciones al aumento de la masa seca de las plantas, a través de la enzima nitrato reductasa, para una mejor asimilación de los nitratos presentes en el suelo, o por los aportados a través de la fertilización inorgánica (Fallik et al., 1994 y Van, 1998).

Por otra parte, se aprecia que en los tratamientos donde se realizó la inoculación en ausencia de la fertilización nitrogenada, no se obtuvo diferencias con respecto al testigo absoluto, lo que evidencia una presencia inactiva o que, bajo estas condiciones, las bacterias no logran sobrevivir, al menos en la cuantía necesaria para provocar un efecto positivo. Al respecto, Frioni (1990) citado por Rodríguez et al., (2000), plantearon que las bacterias del género *Azospirillum* sp son aerobios obligados e incapaces de crecer sin aire, a menos que se les aporte nitratos y una fuente de carbono orgánico necesario para su metabolismo.

Diferentes autores han encontrado respuesta positiva en el crecimiento de las plantas al inocular *Azospirillum* sp; así en la literatura existen trabajos publicados por Bashan et al., (1989) que en experimentos realizados con *Azospirillum brasilense* Cd, obtuvieron un incremento de la masa fresca y seca de plántulas de tomate y en la elongación de las raíces en otros cultivos. En Cuba, igualmente se han obtenido resultados positivos en cereales como trigo (Plana et al., 1999) y arroz (Pazos, 2000), además de la influencia positiva lograda en cultivos hortícolas como pepino (Calderón et al., 2000) y tomate para industria (Pulido, 2002).

La identificación de una asociación entre plantas y bacterias depende de la interacción que se logre entre ambas, donde exista el beneficio de al menos uno de los participantes. Se ha

demostrado que *Azospirillum* sp promueve el crecimiento de las plantas a través de la producción de fitohormonas las cuales tienen un efecto pronunciado sobre el crecimiento y desarrollo de las mismas (Perotti y Pidello, 1999).

Este resultado, en general expresa la especificidad entre los exudados radicales de esta variedad de tomate ('Amalia') y la rizobacteria *Azospirillum brasilense* (cepa Sp-7), a partir del estímulo provocado sobre el crecimiento de las plántulas, constituyendo un importante resultado desde el punto de vista práctico, para el manejo agronómico de esta variedad.

4.1.2.2. Influencia de las especies de *Azospirillum* spp en el rendimiento agrícola y algunos de sus componentes.

El efecto de *Azospirillum* sp con diferentes niveles de fertilización nitrogenada sobre el rendimiento agrícola del tomate y algunos de sus componentes durante los años 1995 y 1996, puede ser apreciado en la Tabla 12.

El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) para ambas especies (*lipoferum* y *brasilense*) en los principales indicadores del rendimiento, así como entre los tratamientos analizados. Sin embargo, la fructificación, que es uno de los principales componentes del rendimiento del cultivo, para el tratamiento que corresponde al complemento con 120 kg N.ha⁻¹, ambas especies manifestaron un efecto positivo de su porcentaje, evidenciándose la contribución de estas rizobacterias en la formación de un mayor número de flores y frutos y mantener el porcentaje de fructificación.

Tabla 12. Efectos de *A. brasilense* en el rendimiento agrícola y algunos de sus componentes.

Tratamientos	Flores/planta (No.)		Frutos/planta No.		Fructificación %,	
	1995	1996	1995	1996	1995	1996
1. Testigo absoluto (sin fertilizar)	3.85 g	3.86 f	2.53 e	2.55 f	66	66
2. <i>Azospirillum lipoferum</i> + 0 kg N.ha ⁻¹	5.50 f	5.37 e	3.70 e	3.39 f	67	63
3. <i>Azospirillum brasilense</i> + 0 kg N.ha ⁻¹	5.45 f	5.63 e	3.71 e	3.47 f	68	62
4. <i>Azospirillum lipoferum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	9.86 d	10.47 c	7.51 e	7.37 d,	76	70
5. <i>Azospirillum brasilense</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	11.39 c	11.47 c	8.45 c	8.44 c	74	73
6. <i>Azospirillum lipoferum</i> + 120 kg N.ha ⁻¹	14.50 b	14.60 b	12.42 b	12.57 b	86	86
7. <i>Azospirillum brasilense</i> + 120 kg N.ha ⁻¹	16.56 a	16.44 a	14.44 a	13.63 a	87	83
8. 90 kg N.ha ⁻¹	7.63 e •	7.59 d	5.62 d	5.52 e	74	73
9. 120 kg N.ha ⁻¹	11.57 c	11.63 c	8.56 c	8.58 c	74	74
10. T. de Producción (150 kg N. ha ⁻¹)	17.57a	17.38a	13.66a	13.76a	78	79
ES x	0.44***	0.40***	0.39***	0.31 ***		

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

Tratamientos	Masa Promedio / fruto		Rendimiento t.ha ⁻¹	
	1995	1996	1995	1996
1. Testigo absoluto (sin fertilizar)	65.43 h	64.41 h	3.67 a	3.65 g
2. <i>Azospirillum lipóferum</i> + 0 kg N.ha ⁻¹	67.52 g	66.61 g	5.54 f	5.53 f
3. <i>Azospirillum brasilense</i> + 0 kg N.ha ⁻¹	68.46 g	67.71 f	5.74 f	5.77f
4. <i>Azospirillum lipóferum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	78.47 f	76.60 e	13.42 d	12.86 d
5. <i>Azospirillum brasilense</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	80.42 e	80.52 d	15.76 e	15.71 e
6. <i>Azospirillum lipóferum</i> + 120 kg N.ha ⁻¹	90.59 a	91.56 a	26.14 b	26.80 b
7. <i>Azospirillum brasilense</i> +120 kg N.ha ⁻¹	87.50 e	88.45 c	29.16 a	28.37 a
8. 90 kg N.ha ⁻¹	81.58 d	80.64 d	10.31 e	10.03 e
9. 120 kg N.ha ⁻¹	78.65 f	79.66 d	15.81 e	15.73 e
10. T. de Producción (150 kg N.ha ⁻¹)	88.57 b	89.53 b	28.44 a	29.17 a
ES x	0.33***	0.36***	0.36	0.36***

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

Esta variable del rendimiento fluctuó entre un 83-87% (T6 y T7), a diferencia del testigo de producción (T10) cuya cifra se enmarcó entre un 78 y 79%. Se pudo apreciar además, que en los restantes tratamientos, la fructificación del cultivo se redujo a un valor que osciló entre un 62 y 73%.

Sin embargo, resultaron muy claras las diferencias para el número de flores y frutos/planta en su comportamiento en ambos años, al presentarse diferencias significativas que favorecen a la especie *A. brasilense*, con particular eficiencia hacia la dosis de 120 kg N.ha⁻¹, respecto a la especie *lipóferum*. Los mayores rendimientos se alcanzaron con la especie *A. brasilense* (cepa Sp7) complementada con 120 kg N.ha⁻¹ (T7), con un rendimiento no diferente del testigo de producción donde fue empleada la dosis de 150 kg N.ha⁻¹ (T10), por lo que la inoculación de esta especie resultó ser más eficiente, permitiendo la disminución del 20% de la fertilización nitrogenada que requiere el cultivo, sin afectaciones en el rendimiento agrícola. Se demuestra como la inoculación potencia el rendimiento a partir del 86% de incremento (T7) con respecto al tratamiento testigo sin inocular e igualmente fertilizado con 120 kg. N.ha⁻¹ (T9).

Estos resultados, visualizados desde la fase de plántula, se traducen en procesos biológicos eficientes que estimulan el rendimiento, probándose así la efectividad de la rizobacteria *A. brasilense* inoculada en este cultivo (Figura 5).

Las razones por las cuales ocurre un efecto positivo en el rendimiento a partir de la inoculación de RPCV, parecen estar asociadas entre otras causas a lo planteado por Martínez (2001), quién ha indicado, que la producción de sustancias activas que son sintetizadas por las bacterias, provocan una activación de la fotosíntesis y la respiración, así como la acumulación de

fotosintatos, lo que hace que se incrementen los rendimientos agrícolas; sin embargo, tal aseveración debería ser probada mediante estudios específicos que consideren muy especialmente la fisiología del cultivo.

A este criterio, puede sumarse la producción de sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal secretadas por esta rizobacteria, las cuales propician un aumento de la superficie de absorción de las plantas y como consecuencia, ocurre un mayor desarrollo radical, lo que se traduce en una mejor nutrición y por tanto una mayor producción del cultivo.

Tanto las plantas inoculadas pero con ausencia del portador nitrogenado (T2 y T3), así como, los tratamientos donde sólo se aplicaron las dosis de 90 y 120 kg N.ha⁻¹ (T8 y T9), se obtuvieron los rendimientos más bajos, manifestándose como estos tratamientos, no permiten obtener la producción esperada de esta variedad en el período óptimo de siembra, lo que demuestra que no eran suficientes las reservas nutricionales del suelo de manera que le permitiera a las plantas nutrirse adecuadamente para finalmente tener una producción aceptable.

Por otra parte, las diferencias entre ambas especies parecen estar asociada a un mayor grado de afinidad entre los exudados radicales de las plantas y la rizobacteria *A. brasilense*, cuya quimiotaxis positiva permitió un resultado más favorable en la producción del cultivo.

El efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp sobre el rendimiento total, aumenta generalmente con el crecimiento de las plantas y está en un rango del 10 - 30% (Rodríguez *et al.*, 2000), estos autores refieren incrementos de un 25% para variedades de trigo de verano y consideran a la inoculación con esta rizobacteria como un sustituto parcial de la fertilización nitrogenada.

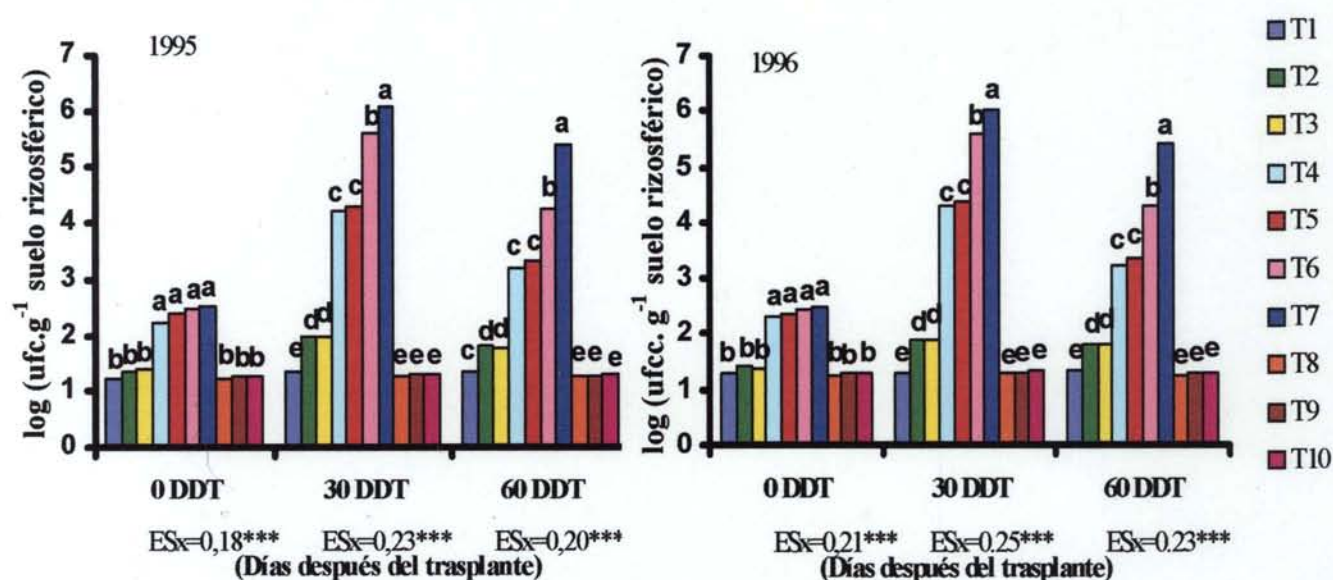
Tal comportamiento no parece ser específico para el tomate pues según trabajos publicados por Bashan (1998b) demuestran que además del tomate, otros cultivos como berenjena, pimiento y algodón han sido favorecidos sus rendimientos con inoculaciones de *Azospirillum brasilense*. A escala mundial la biofertilización con *Azospirillum* sp en gramíneas como trigo, arroz, cebada y pastos, produce incrementos en los rendimientos de hasta un 25%, permitiendo la disminución del fertilizante mineral.

Debe considerarse que *A. lipóferum* difirió estadísticamente de la especie *brasilense*, no obstante, por el comportamiento sobre el efecto agrobiológico del cultivo, puede ser valorada en otras investigaciones para profundizar en cuanto a su eficiencia en este cultivo u otro.

4.1.2.3. Evaluación de especies de *Azospirillum* spp en la rizosfera del cultivo.

Obtener una respuesta positiva a la inoculación bacteriana depende de que la población alcance una biomasa significativa en la raíz; por tanto, la característica más importante que debe tener una bacteria que se utilice con fines prácticos, es que sea un colonizador agresivo de las

raíces (Bashan, 2000). En este sentido, en la **Figura 6** se puede observar como en la evaluación realizada en el momento del trasplante de las plántulas (0 DDT), se aprecia que la mayor colonización se obtuvo en los tratamientos inoculados y suplementados con 30 kg N.ha⁻¹, difiriendo estadísticamente ($p < 0.001$) de los tratamientos inoculados en ausencia de la fertilización nitrogenada (T2 y T3), así como de los tratamientos donde se encuentra la población nativa del suelo (T1, T8, T9 y T10). A partir de los 30 días posteriores al trasplante y correspondiendo con la etapa de floración - fructificación del cultivo, se obtuvo que la especie *A. brasilense* (Sp-7) suplementada con 120 kg N.ha⁻¹ (T7), fue la que mayor colonización radical mostró en los dos años evaluados, con diferencias altamente significativas de los restantes tratamientos, alcanzando una población de 10⁶ ufc.g⁻¹ de suelo, lo cual puede ser considerado un valor óptimo, en un momento importante del desarrollo del cultivo donde son altas las necesidades nutricionales de las plantas para la formación de la producción final.



T1. Testigo absoluto T2. *A. lipoferum* + 0 kg N.ha⁻¹ T3. *A. brasilense* + 0 kg N.ha⁻¹ T4. *A. lipoferum* + 90 kg N.ha⁻¹ T5. *A. brasilense* + 90 kg N.ha⁻¹ T6. *A. lipoferum* + 120 kg N.ha⁻¹ T7. *A. brasilense* + 120 kg N.ha⁻¹ T8. 90 kg N.ha⁻¹ T9. 120 kg N.ha⁻¹ T10. T. de producción (150 kg N.ha⁻¹)

(Medias con letras iguales no difieren significativamente, según Duncan para $p < 0.001$)

Figura 6. Comportamiento de la colonización en la rizosfera del tomate, a los diferentes días después del trasplante (DDT).

En cambio, en la evaluación realizada a los 60 días del trasplante, la población de esta rizobacteria comienza a declinar, coincidiendo con la muerte de las plantas y de su sistema radical, el cual le aporta a estas bacterias constantemente gran número de sustancias orgánicas (azúcares y aminoácidos) en forma de exudados necesarios para su metabolismo.

La inoculación sin aplicación de fertilizante mineral (T2 y T3), en la evaluación realizada a los 30 y 60 DDT, mostró una ligera tendencia al incremento poblacional de esta bacteria en la rizosfera del cultivo en los estadios fisiológicos estudiados; no obstante, se demuestra la necesidad de un aporte inicial de fuentes nitrogenadas que le permitan disminuir su etapa de latencia, para lograr una mayor agresividad en el proceso de colonización.

La alta población encontrada (10¹⁰), en el tratamiento inoculado con *A. brasilense* +120 kg N.ha⁻¹, indica el grado positivo de quimiotaxis entre los exudados radicales y la bacteria. Al respecto, Velazco (2001) plantea que la presencia o no en la rizosfera de un cultivo conformando un ecosistema dado, está influido por diferentes factores abióticos como son el tipo de suelo, el grado de humedad, la fertilización aplicada y la temperatura. También influyen marcadamente la composición del hábitat como una unidad biológica de las relaciones microbianas que se establecen ya que puede existir afinidad o no, así como dependiendo de los exudados radicales existirá quimiotaxis positiva o negativa de las RPCV. Estudios realizados por Bashan y Mitiku (1991), demuestran que la población de esta rizobacteria en las raíces de tomate, está concentrada en la zona de elongación y pelos radicales, siendo esta última la de mayor concentración y que la colonización de las raíces es el factor clave en el éxito de la interacción de las plantas con *Azospirillum* sp; las especies de este género son conocidas por colonizar las superficies de las raíces de algunas especies de plantas (Basteau, 1998b), siendo esta interacción esencial para obtener una respuesta de las plantas a la presencia de la bacteria.

El hecho de que este resultado haya sido reproducible en el tiempo, explica el éxito de la inoculación lo que hace que se corrobore la eficiencia de *Azospirillum brasilense* como rizobacteria que estimula positivamente el crecimiento, desarrollo y rendimiento en el cultivo del tomate (var. 'Amalia') a partir de una alta colonización. Este resultado apoya el criterio de selección de esta especie como una alternativa eficiente, por lo que de acuerdo a los resultados alcanzados en la etapa de semillero y plantación, se seleccionó esta especie para dar continuidad a las investigaciones.

4.2. Evaluación de la coinoculación HMA - RPCV en el crecimiento, desarrollo, rendimiento y colonización en el cultivo del tomate (var. 'Amalia').

Una vez conocida la efectividad de las especies de *G. clarum* y *A. brasilense* en el estímulo del crecimiento de las plántulas de tomate en su primera etapa de desarrollo (semillero), así como su eficiencia a partir del efecto ejercido sobre la producción del cultivo en el período óptimo de siembra (plantación), se procedió a estudiar estos microorganismos en coinoculaciones, evaluándose la compatibilidad entre ellos así como la potencialidad y eficiencia

de su acción conjunta, sobre este cultivo, realizándose los experimentos en el período temprano y óptimo de siembra.

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

Tomando como criterio de selección la mayor efectividad mostrada por las especies *G. clarum* y *A. brasilense* en el estímulo del rendimiento del cultivo, respecto a las restantes especies estudiadas; se evaluó la respuesta que sobre el crecimiento de las plántulas provoca la inoculación mixta de estos microorganismos. Por ser la altura una de las variables de crecimiento más práctica para ser medida *in situ*, se siguió una dinámica semanal durante los primeros 51 días posteriores a la germinación, en aras de conocer el momento preciso en que se alcanza el valor de la altura requerida por las plántulas para realizar el trasplante.

En la Figura 7, se observa que a los 10 días después de la germinación, no se presentan diferencias estadísticas entre los cuatro tratamientos evaluados; sin embargo, a partir de los 17 días, comienza a incrementarse la altura de las plántulas destacándose los tratamientos de inoculación simple con *A. brasilense* y el tratamiento coinoculado, mostrando diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) con los restantes tratamientos.

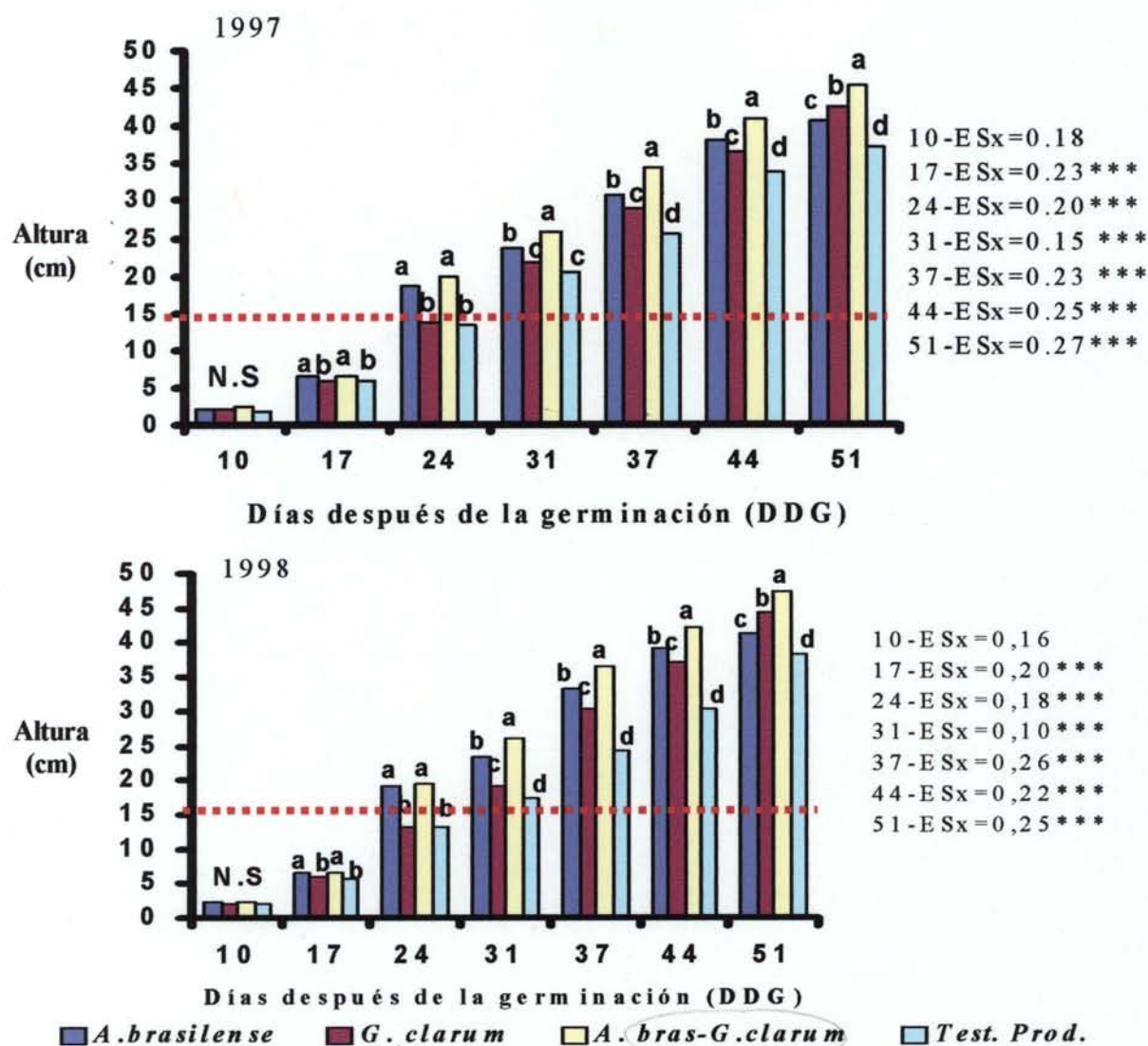
La altura de 15 cm, considerada la mínima requerida para el trasplante dentro de los parámetros de calidad (Cuba, MINAGRI, 1984) aproximadamente a los 25-30 días después de la germinación, fue sobrepasada en estos tratamientos, antes de los 24 días posteriores a la germinación (línea discontinua en el gráfico).

En cambio, no ocurrió así con los tratamientos de inoculación simple con *G. clarum* y el testigo de producción que aún, en ese momento de realizada la evaluación no rebasan los 15 cm de altura, llegando a sobrepasar este valor posterior a los 24 días después de la germinación. En el caso de la inoculación simple con *A. brasilense*, se obtuvo un resultado similar al de los años 1995 y 1996, lo que permite corroborar la efectividad de esta rizobacteria en la fase de semillero del cultivo.

Se demuestra como la acción de los HMA es a mediano plazo y que el efecto de las RPCV es más rápido y evidente, ya que a partir de los 17 días después de la germinación, comienza a observarse su influencia positiva en la altura de las plantas. A partir de los 51 días, el tratamiento con HMA supera a la inoculación simple con la RPCV, donde supera el efecto en la altura de las plantas.

Para las evaluaciones siguientes (pasado los 24 días), el tratamiento coinoculado sigue siendo el que presentó la mayor altura en las plantas, diferenciándose estadísticamente de los restantes tratamientos, demostrándose de esta manera, la simbiosis mutualista entre ambos

microorganismos donde ambos se benefician a partir de que una especie puede proveer una fuente de energía y la otra aportar algún nutriente esencial.



(Medias con letras iguales no difieren significativamente, según Duncan para $p < 0.001$)

Figura 7. Dinámica de la altura de las plantas durante dos años.

De este resultado se deriva además, que existe una tendencia a acortar el período de semillero (6 días) tanto con la coinoculación *G. clarum* + *A. brasilense* o con sólo la inoculación simple de *A. brasilense*, constituyendo ambas variantes una alternativa para la producción de plántulas de tomate (var. 'Amalia'), en menor tiempo y con la calidad requerida que se exige en las normas técnicas del cultivo. Por otra parte, acortar el tiempo de semillero podría resultar un

ahorro de recursos en esta etapa del crecimiento y desarrollo del cultivo y quizás, también un adelanto de la cosecha y con ella la llegada más temprana de esta demandada hortaliza al mercado; sin embargo, esta hipótesis tendrá que ser demostrada en investigaciones específicas dirigidas especialmente al estudio de ese proceso, durante la etapa de plantación.

En el análisis de las variables de crecimiento, evaluadas simultáneamente en el semillero temporal, a los 30 días posteriores a la germinación (**Figura 8**), se observó que en cada año, tanto la altura, el diámetro del tallo, la longitud radical así como la masa seca de las plántulas, fueron estimuladas en el tratamiento de la inoculación dual de la rizobacteria *A. brasilense* con la micorriza *G. clarum* con una mayor efectividad. Bajo estas condiciones se lograron incrementos con respecto al testigo de producción de un 18-42% en la altura, un 27- 28% en el diámetro, un 51% en la longitud radical, de un 79-84%, en la masa seca de las plántulas; evidenciándose de esta manera la contribución de la coinoculación al estímulo del crecimiento, manifestado por el mayor porcentaje de incremento en la masa seca indicador de vital importancia para el crecimiento de las plantas.

No obstante, haciendo un análisis específicamente de la altura de las plántulas, la cual se evaluó en dos condiciones diferentes (macetas y semillero temporal), se observó que en ambas condiciones, la evaluación realizada a los 30 días posteriores a la germinación, tanto las plantas coinoculadas como las que recibieron la inoculación simple *A. brasilense*, sobrepasan el tamaño óptimo requerido para el trasplante (15-18 cm), permitiendo inferir que con estas variantes pueda reducirse el período de semillero, lo cual resultaría económicamente ventajoso.

Por otra parte, los incrementos que produjo la coinoculación con respecto a las inoculaciones individuales, en cada una de las variables de crecimiento que definen la calidad de las plántulas, a los 31 días posteriores a la germinación (Tabla 13), demuestran que la inoculación mixta superó los efectos de las inoculaciones simples de *G. clarum* y *A. brasilense*, propiciándose los mayores incrementos en la variable masa seca de las plántulas. Este resultado indica que el efecto individual de los microorganismos fue potenciado con la inoculación conjunta de ambos, funcionando exitosamente la trilogía simbiótica hongo - bacteria- planta. Por otra parte, la coinoculación con respecto a la inoculación con *A. brasilense* brindó los porcentajes más bajos con respecto a *G. clarum*, lo que evidencia el mayor efecto de esta rizobacteria en esta fase del crecimiento del cultivo.

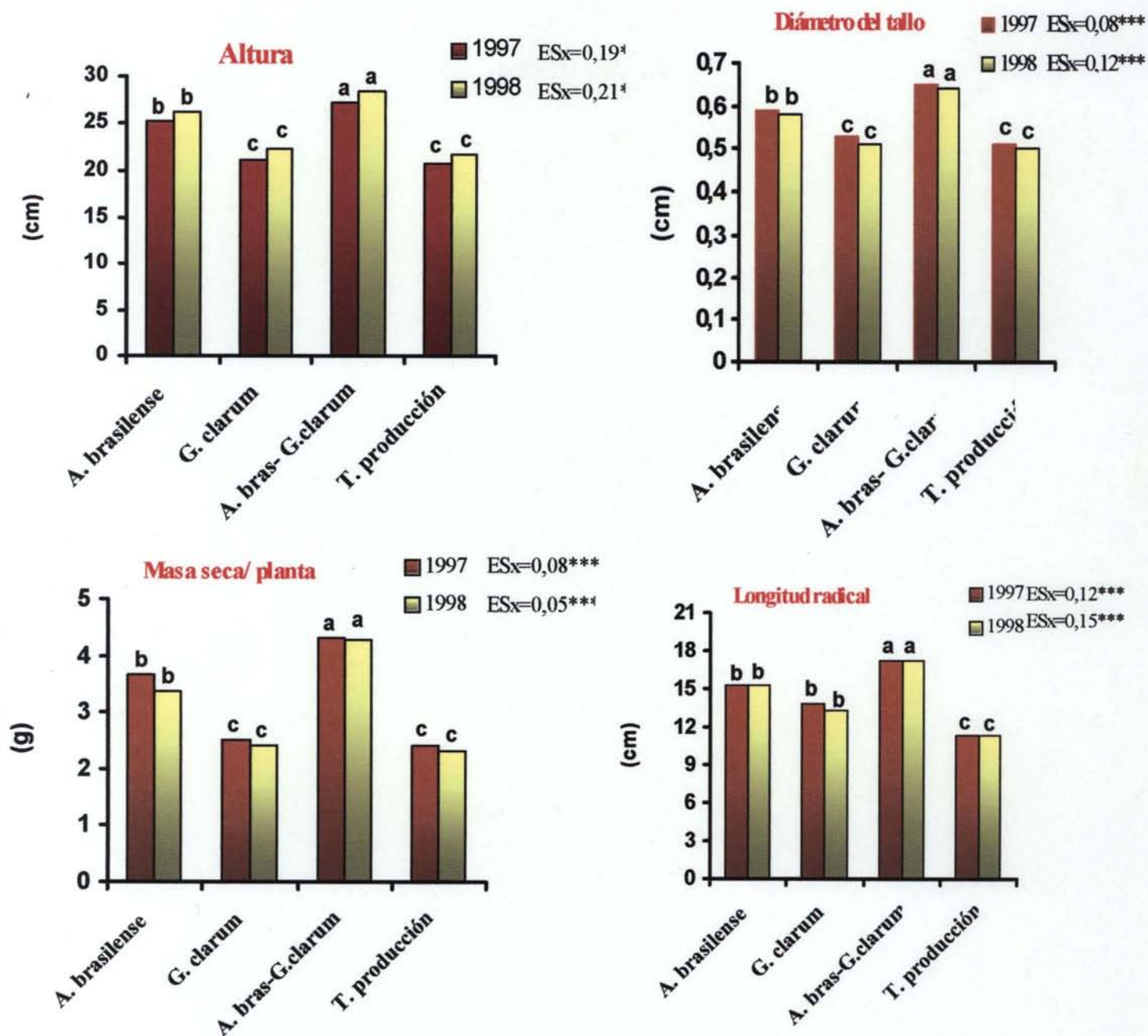


Figura 8. Influencia de la coinoculación en el crecimiento de las plántulas.

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

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

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

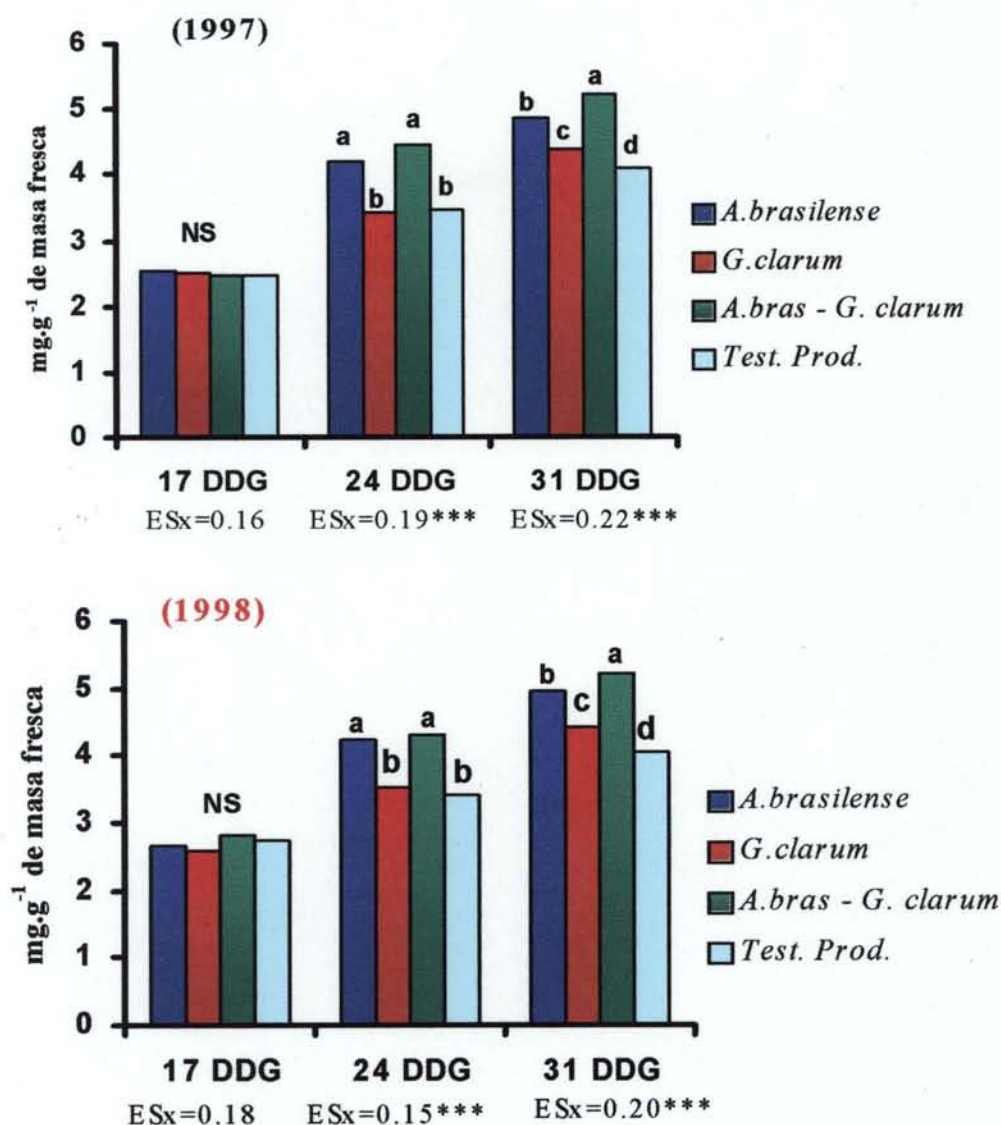
En la literatura consultada, se recogen algunos trabajos que avalan la potenciación de los efectos individuales de los microorganismos cuando son inoculados de conjunto. Así, pudiera citarse el uso de *Azotobacteriruceas* y *Endogene* sp en trigo, obteniéndose con esta combinación mayor altura, y masa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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

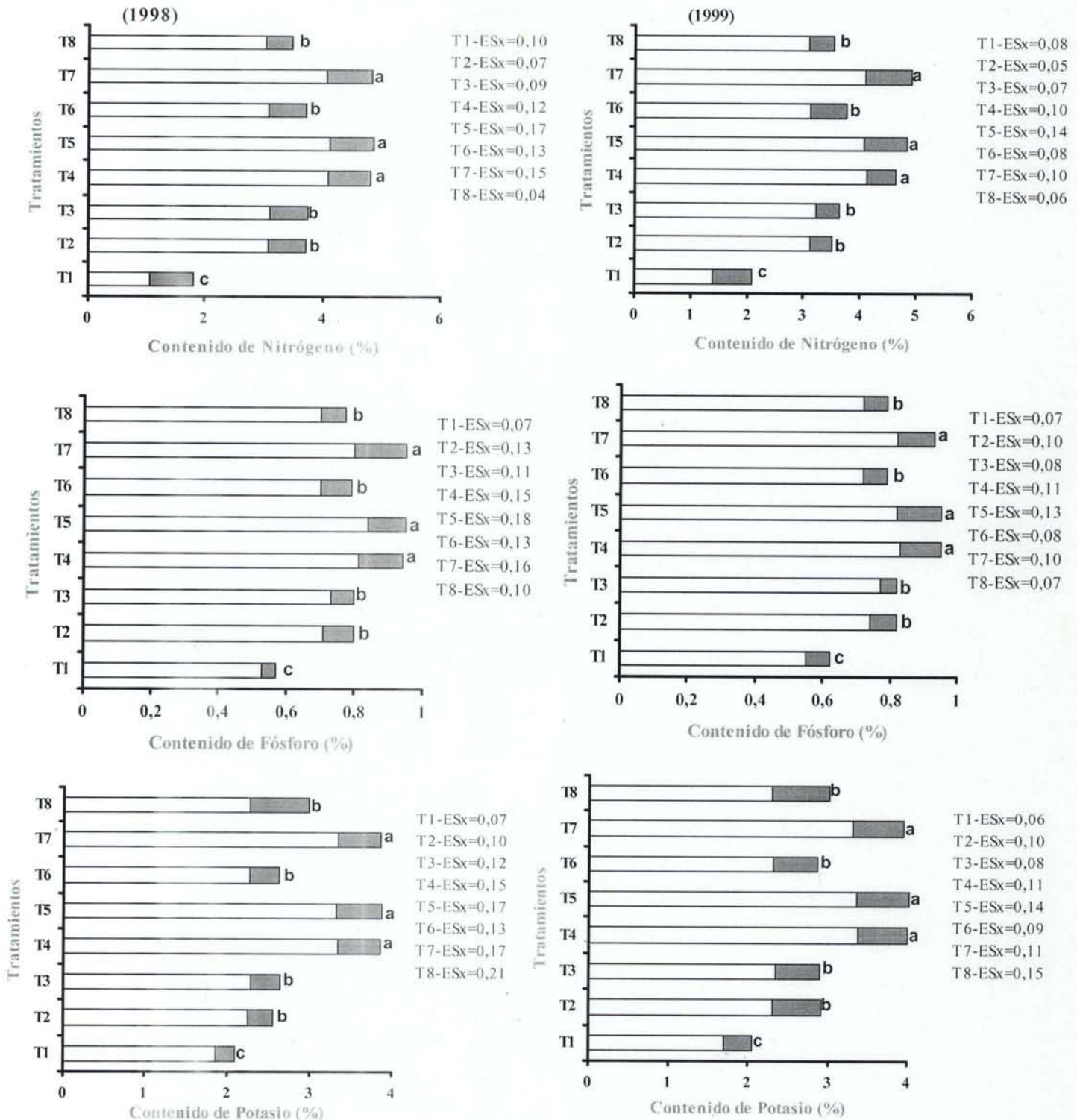
4.2.2.1.1. Resultados obtenidos en el período temprano.

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

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

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

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



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

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

4.2.2.1.2. Resultados obtenidos en el período óptimo.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

de
anexo / ms
de la re
cya en
figura 1
otro
en Cuba

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

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

4.2.3.1. Resultados obtenidos en el período temprano.

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

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

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

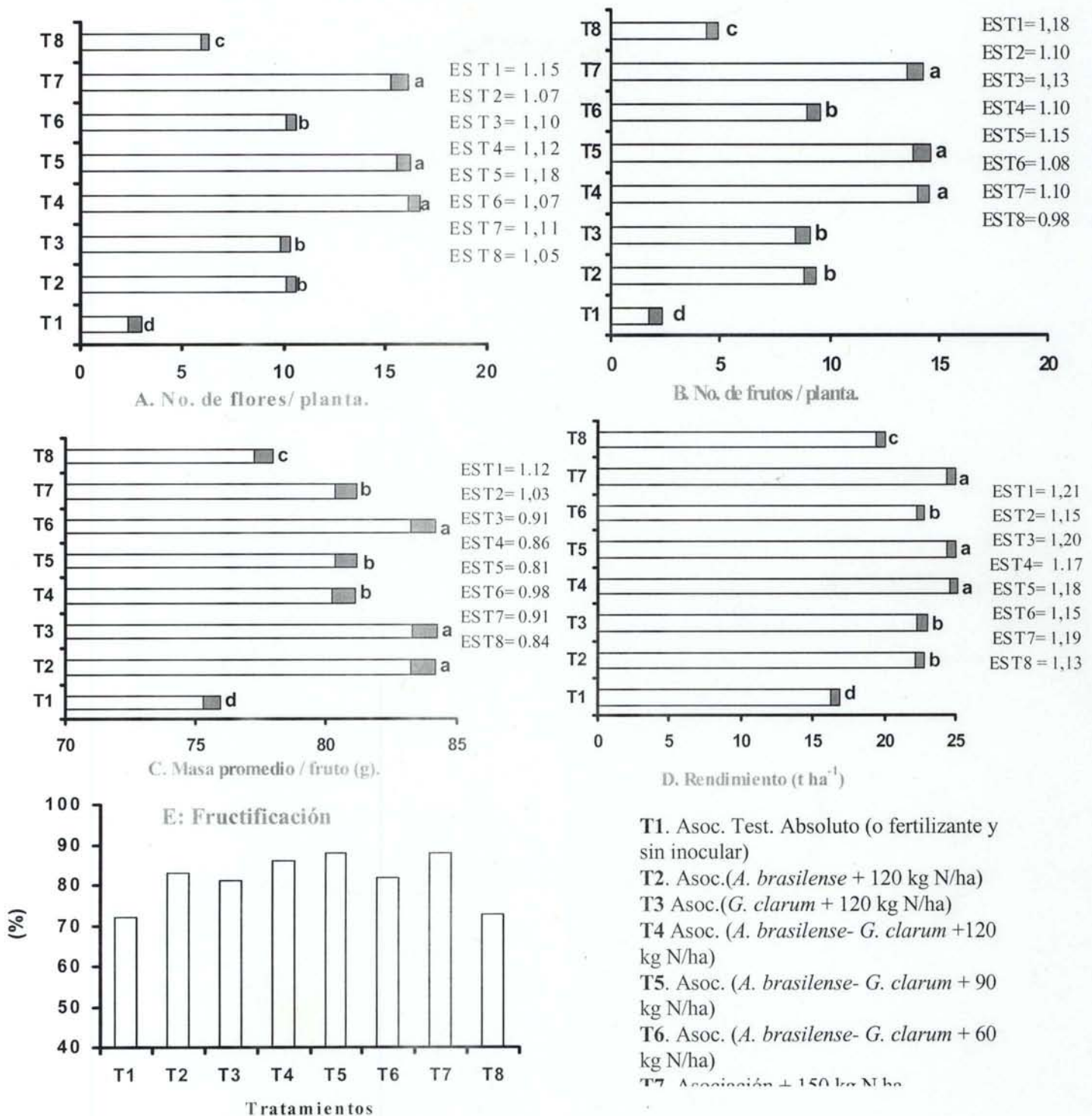


Figura 11a. Influencia de la coinoculación en el rendimiento y algunos de sus componentes (Año 1998. Zona sombreada es el intervalo de confianza).

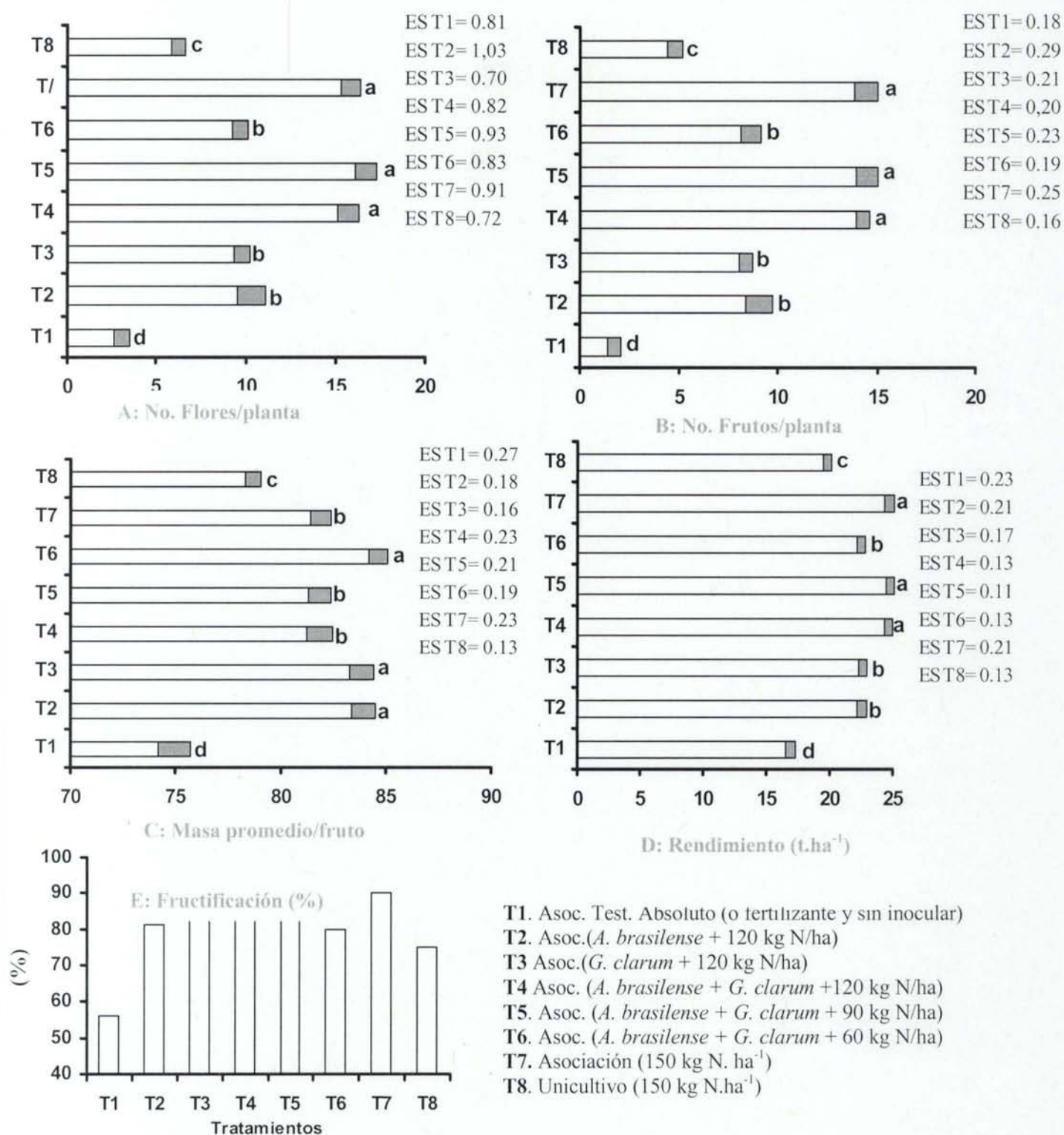


Figura 11b. Influencia de la coinoculación en el rendimiento y algunos de sus componentes (Año 1999. Zona sombreada es el intervalo de confianza).

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

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

4.2.3.2. Resultados obtenidos en el período óptimo.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

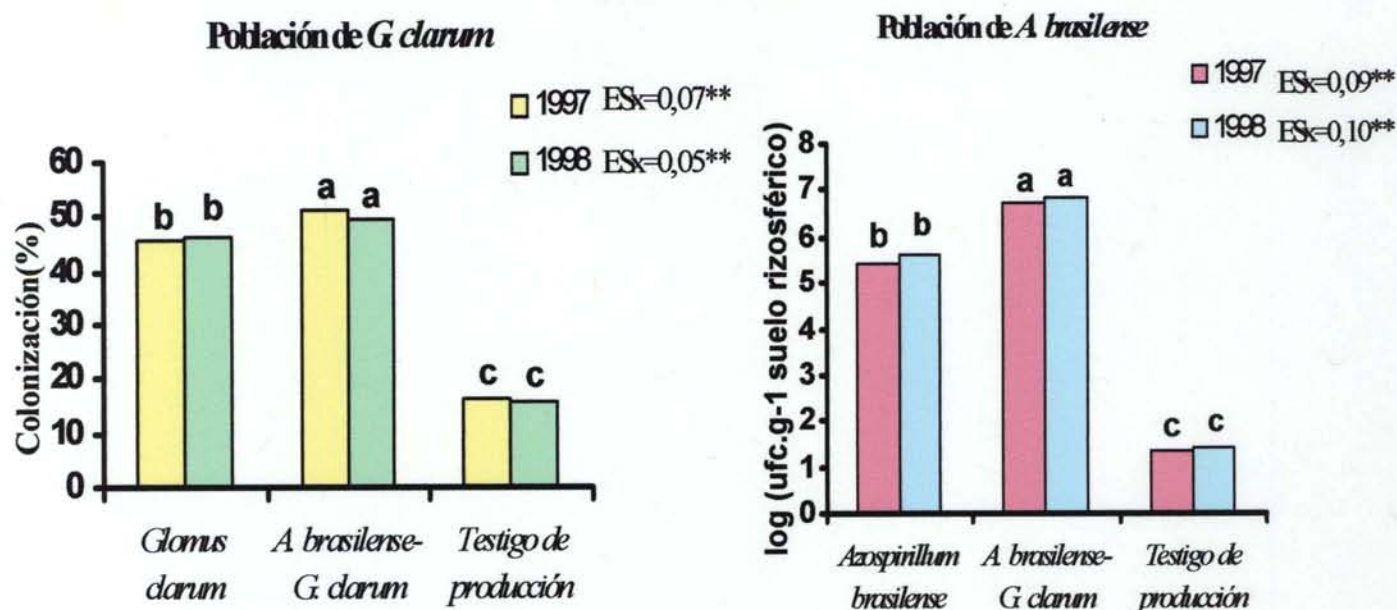
Por otra parte, se observó como en el período temprano en el tratamiento que se encuentra sin asociar (o sea en unicultivo, T8), no se superan las 20 t.ha⁻¹, manifestándose claramente el efecto estresante del ambiente, que en comparación con el período óptimo bajo el sistema de unicultivo (T7), el rendimiento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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

4.3.1. Influencia en el estado nutricional de las plantas

4.3.1.1. Resultados obtenidos en el período óptimo.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

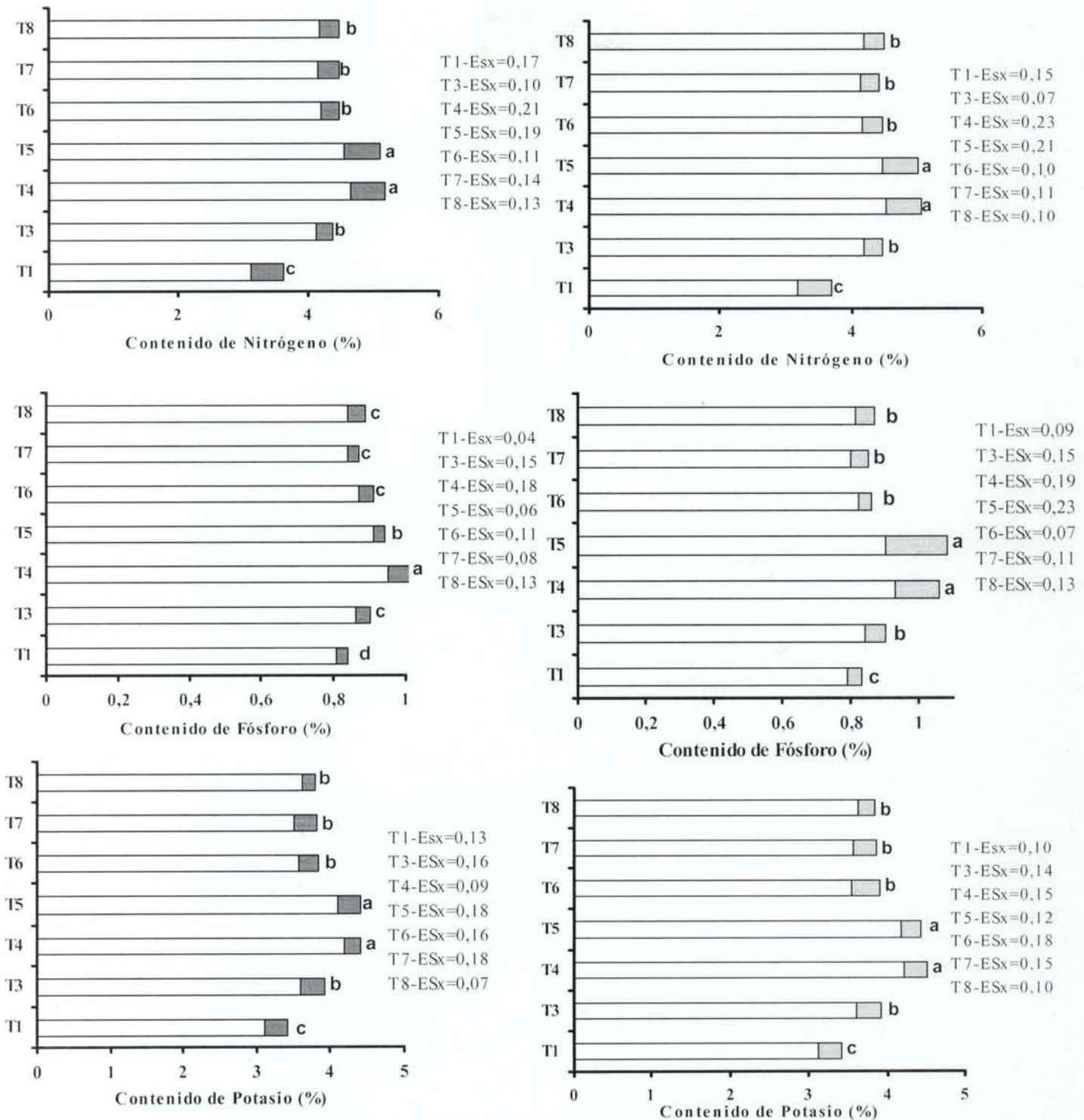
Los valores de los macroelementos encontrados para cada experimento, están en el rango de los que se pueden obtener en el cultivo, cuando las plantas alcanzan un nivel nutricional adecuado (Benett, 1996), resultando interesante para la práctica productiva conocer que los niveles de nitrógeno en planta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

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

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

4.3.1.2. Resultados obtenidos en el período temprano.

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



T1. unicultivo tomate (150 kg N.ha⁻¹) T3. Asoc.(*A. brasilense*-*G. clarum*)+90 kg N.ha⁻¹ T4. Asoc.(*A. brasilense*-*G. clarum*)+90 kg N.ha⁻¹+ Biostan(IF) T5. Asoc.(*A. brasilense*-*G. clarum*)+90 kg N.ha⁻¹+ Biobras-16(IF) T6. Asoc maíz-tomate+90 kg N.ha⁻¹+ Biostan(IF) T7. Asoc maíz-tomate +90 kg N.ha⁻¹+ Biobras-16(IF) T8. Asoc maíz-tomate +150 kg N.ha⁻¹

Figura 13. Influencia de la combinación microorganismos benéficos - productos bioactivos en el contenido de NPK foliar. (Zona sombreada es el intervalo de confianza).

Se obtuvo un porcentaje de incremento con respecto a este tratamiento, entre 0.34-0.47% en el contenido de nitrógeno, de 0.12 % en el contenido de fósforo y 0.58% en el contenido de potasio, manifestándose de esta forma, la contribución de la combinación de los microorganismos y los productos bioactivos a la absorción de nutrientes por las plantas.

Al hacer un análisis del comportamiento de los productos bioactivos utilizados en este período de siembra, pudo observarse un efecto similar de la aplicación tanto del Biostan como del Biobras-16, obteniéndose valores similares en cuanto a los contenidos foliares de NPK. Este resultado tiene gran importancia práctica ya que a pesar de que cada producto manifiesta mecanismos de acción diferentes, puede contarse con dos alternativas eficientes que potencian la nutrición de las plantas.

4.3.1.3. Evaluación general de la respuesta del cultivo en la absorción de nutrientes en ambos períodos de siembra.

En el período óptimo, los diferentes momentos de aplicación del Biostan ó el Biobras-16, no difirieron en cuanto a su influencia en la absorción de nutrientes por las plantas, resultado que fue similar en el período temprano al aplicar estos productos sólo al inicio de la floración, lo que evidencia que la aplicación exógena de estos productos en cualesquiera de los dos estadios fisiológicos de las plantas (inicio de la floración y floración - fructificación), resulta adecuado para un correcto estado nutricional del cultivo, puesto que los dos productos contribuyeron positivamente a la absorción de los nutrientes.

En el período óptimo, existió un mayor incremento en cuanto al contenido de nitrógeno al ser aplicado el Biostan como producto bioactivo, el cual al ser un derivado del vermicompost, aporta pequeñas cantidades de nutrientes esenciales para las plantas, pero al parecer, el mayor aporte está en la contribución aminoacídica de este producto, factor que pudiera influir en el balance del nitrógeno en este cultivo, ya que contiene el ácido aspártico el cual es uno de los tres principales aminoácidos relacionados con la formación de otros mediante transaminación, influyendo en la síntesis de proteínas necesarias para la producción de biomasa en la planta (Benítez *et al.*, 1999b).

El mecanismo de acción de los análogos de brasinoesteroides, está relacionado con su fuerte actividad biológica, donde al estos ser considerados como reguladores del crecimiento de las plantas, provoca un desarrollo acelerado del vegetal y cuyo efecto se ve reflejado en una mayor asimilación de los nutrientes por las plantas (Khripach *et al.*, 2001). Si a estos criterios se le suma la influencia de *Azospirillum* sp en la absorción de nutrientes, explicándose la acumulación de compuestos nitrogenados sin existir una aparente fijación biológica del nitrógeno, así como, la importancia que se le atribuyen a las micorrizas arbusculares en la

absorción de nutrientes, y que los efectos de ambos se potencian cuando actúan de forma combinada, entonces existirá una contribución mayor a la absorción de nutrientes por las plantas.

Sin embargo, la utilización combinada de estos productos para mejorar la calidad nutricional de los cultivos como alternativas a la fertilización mineral, no ha sido ampliamente abordado a nivel internacional. En Cuba, se cuenta con trabajos realizados en el cultivo del maíz inoculado con HMA y Biobras-16, lográndose efectos positivos en la nutrición del cultivo (Medina *et al.*, 1999). Para el producto Biostan, constituyen estos los primeros resultados sobre su compatibilidad con microorganismos benéficos en el cultivo del tomate, donde se demuestra, que la acción combinada de microorganismos benéficos y productos bioactivos, constituye una alternativa para mejorar la calidad nutricional en el cultivo del tomate, tanto en período temprano como en el óptimo.

4.3.2. Influencia en el rendimiento agrícola y sus componentes.

4.3.2.1. Resultados obtenidos en el período óptimo.

Al analizar el rendimiento agrícola y algunos de sus componentes en el experimento donde se utilizó el Biostan como producto bioactivo (Tabla 18), se apreciaron diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) entre todos los tratamientos, alcanzándose los mayores valores donde se asperjó el producto al inicio de la floración (T3), en floración - fructificación (T4) y donde se realizaron dos aplicaciones, una al inicio de la floración y la otra en floración - fructificación (T5), todos de conjunto con el suplemento de 90 kg. N.ha⁻¹, con una producción de 35 t.ha⁻¹. Estos tratamientos superaron al testigo de producción (T8) en un 17% en el año 1999 y en un 14% en el año 2000 y resultaron superiores en un 17% (1999) y 14%

(2000) al tratamiento

donde las plantas solamente fueron coinoculadas (T2), demostrándose de esta manera la relación beneficiosa que se establece entre los microorganismos y las sustancias húmicas aplicadas, donde se crea al parecer una acción compatible entre ambos

También, puede apreciarse que la aplicación de Biostan más el suplemento de 90 kg N.ha⁻¹ (T6, T7, T8), no provocó diferencias estadísticas significativas con el testigo de producción, lo que evidencia que la aplicación foliar de este producto, es capaz de suplir la diferencia del aporte nutricional del testigo de producción; a la vez que mostró menor eficiencia que el aporte de la coinoculación (T2). Este resultado pudiera estar relacionado con una mayor fijación de CO₂ lo que permite que exista una mayor eficiencia en el proceso de fotosíntesis, produciendo fotosintatos que mejorarían la conversión metabólica en otras estructuras como aminoácidos y proteínas y así en el balance general del carbono en la planta, según lo señalado por Huelva (2002).

Tabla 18. Influencia del Biostan y la coinoculación en el rendimiento agrícola y algunos de sus componentes.

Tratamientos	Flores/planta (No.)		Frutos/planta (No.)		Fructificación (%)	
	1999	2000	1999	2000	1999	2000
1. Testigo Absoluto (0 fertilizante mineral y no inoculación)	4.92 d	4.86 d	3.78 d	3.87 d	76	79
2. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹	12.55 c	13.57 c	10.74 c	11.53 c	85	85
3. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹ + Biostan (IF)	19.61 a	19.53 a	18.16 a	17.72 a	92	91
4. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹ + Biostan (IF) + Biostan (FI-Fr)	19.59 a	19.50 a	17.78 a	17.69 a	90	91
5. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹ + Biostan (FI-Fr)	19.57 a	19.50 a	17.74 a	17.46 a	91	89
6. Biostan (IF) + 90 kg. N.ha ⁻¹	16.84 b	16.47 b	14.47 b	14.45 b	86	88
7. Biostan (FI-Fr) + 90 kg. N.ha ⁻¹	17.36 b	16.53 b	14.35 b	14.46 b	82	87
8. Biostan (IF) y (FI-Fr) + 90 kg. N.ha ⁻¹	16.76 b	16.57 b	14.40 b	14.44 b	86	87
9. T de producción (150 kg. N.ha ⁻¹)	16.80 b	16.59 b	14.59 b	14.70 b	87	89
ES $\bar{x}$	0.42***	0.43***	0.40***	0.19***	----	----

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

Tratamientos	Masa Promedio/fruto (g)		Rendimiento (t.ha ⁻¹)	
	1999	2000	1999	2000
1. Testigo absoluto	65.52 e	66.39 e	5.60 e	5.28 d
2. <i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹	92.50 a	91.74 a	31.89 b	32.64 b
3. <i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i> + 90 kg. + N.ha ⁻¹ + Biostan (IF)	87.68 d	88.39 d	35.79 a	36.70 a
4. <i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹ + Biostan (FI-Fr)	88.37 d	88.42 d	36.83 a	36.55 a
5. <i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i> + 90 kg. + N.ha ⁻¹ + Biostan (IF) + (FI-FR)	87.76 d	87.54 d	35.79 a	35.72 a
6. Biostan (IF) + 90 kg. N.ha ⁻¹	90.44 bc	90.54 bc	30.43 cd	30.21 c
7. Biostan (FI-Fr) + 90 kg. N.ha ⁻¹	89.70 c	89.79 c	29.81 d	30.12 c
8. Biostan (IF) y (FI-Fr) + 90 kg. N.ha ⁻¹	90.51 bc	90.55 bc	30.36 cd	30.18 c
9. T. de producción (150 kg N.ha ⁻¹)	91.44 ab	91.40 bc	31.56 bc	31.44 bc
ES $\bar{x}$	0.39***	0.36***	0.41***	1.18***

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

En la **Tabla 19**, se refleja el efecto provocado por la aplicación del análogo de brasinoesteroide Biobras-16 en diferentes momentos de desarrollo de las plantas, y su combinación con la coinoculación *A. brasilense* + *G. clarum* (T3, T4, T5), en el período óptimo del cultivo.

Se encontraron diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) entre los tratamientos en estudio para cada una de las variables evaluadas; los valores superiores se obtuvieron con la

combinación de los productos, los cuales no difirieron estadísticamente entre ellos, para cada uno de los componentes incluyendo el rendimiento agrícola (33.0 t.ha^{-1}), lográndose con esta efectiva combinación un incremento con respecto al testigo de producción del 21% en el año 1999 y del 17% en el 2000 y un incremento entre un 10-13% con respecto a las plantas que sólo fueron coinoculadas (T2). Igualmente, no existieron diferencias entre los momentos de realizar las aplicaciones del Biobras-16 (T3, T4 y T5).

Tabla 19. Influencia del Biobras-16 y la coinoculación en el rendimiento agrícola y algunos de sus componentes.

Tratamientos	Flores/planta (No.)		Frutos/planta (No)		Fructificación (%)	
	1999	2000	1999	2000	1999	2000
1. Testigo absoluto (sin fertilizar)	4.38 c	4.46 c	2.82 c	2.80 b	64	63
2. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹	15.42 b	15.36 b	13.40 b	13.54 a	87	88
3. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹ + Biobras-16 (IF)	17.45 a	17.40 a	15.78 a	14.77 a	90	85
4. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹ + Biobras-16 (IF y FI-Fr)	17.43 a	17.44 a	15.48 a	14.73 a	89	84
5. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹ + Biobras-16 (FI-Fr)	17.47 a	17.48 a	15.47 a	14.63 a	88	84
6. Biobras-16 (IF) + 90 kg. N.ha ⁻¹	14.70 b	15.29 b	12.67 b	12.62 a	86	82
7. Biobras-16 (FI-Fr) + 90 kg. N.ha ⁻¹	14.50 b	14.79 b	12.36 b	12.81 a	85	87
8. Biobras-16 (IF) y (FI-Fr) + 90 kg. N	15.25 b	14.74 b	12.64 b	12.81 a	83	87
9. T. de Producción (150 kg N.ha ⁻¹)	14.39 b	15.38 b	12.62 b	13.36 a	88	87
ES $\bar{x}$	0.36***	0.37***	0.42***	0.82***	----	----

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

Tratamientos	Masa Promedio/fruto (g)		Rendimiento (t.ha ⁻¹)	
	1999	2000	1999	2000
1. Testigo absoluto (sin fertilizar)	66.51 e	66.45 e	4.35 d	5.47 d
2. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	93.81 a	93.72 a	30.17 b	29.47 b
3. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹ + Biobras-16 (IF)	89.57 d	90.40 cd	33.45 a	33.36 a
4. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹ + Biobras-16 (IF y FI-Fr)	90.47 cd	90.48 cd	32.81 a	33.27 a
5. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg N.ha ⁻¹ + Biobras-16 (FI-Fr)	89.79 d	89.68 d	32.63 a	32.58 a
6. Biobras-16 (IF) + 90 kg. N.ha ⁻¹	91.50 bc	92.62 ab	27.41 c	27.16 c
7. Biobras-16 (FI-Fr) + 90 kg. N.ha ⁻¹	92.60 ab	91.60 bc	26.65 c	27.62 c
8. Biobras-16 (IF) y (FI-Fr) + 90 kg. N.ha ⁻¹	92.41 b	91.88 b	27.44 c	27.59 c
9. T. de producción. (150 kg N.ha ⁻¹)	92.48 b	91.63 bc	27.42 c	28.31 bc
ES $\bar{x}$	0.41***	0.43***	0.38***	0.50***

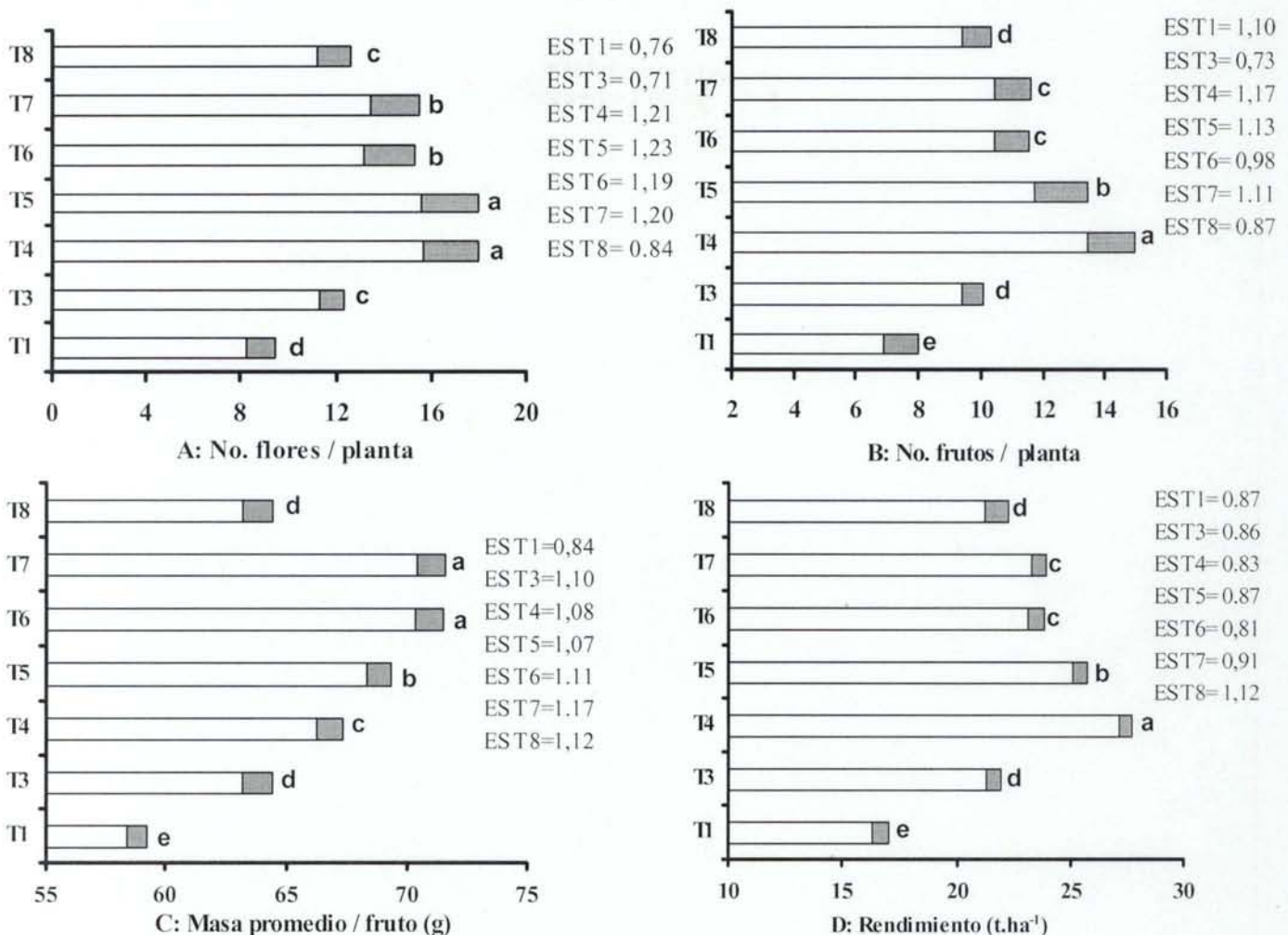
Medias con letras comunes no difieren significativamente, según Duncan para $p < 0.001$

El similar comportamiento entre los tres tratamientos que recibieron la aspersión foliar de Biobras-16 en diferentes etapas del cultivo, sugiere que con sólo la aplicación de este producto bioactivo al inicio de la floración del cultivo (T3) es suficiente, ya que se logran resultados similares a cuando se realizaron dos aplicaciones una al inicio de la floración y la otra en plena floración - fructificación (T4) ó cuando sólo se realizó la aspersión en la etapa de floración - fructificación (T5), evidenciándose de esta manera, el efecto bioregulator del análogo de brasinoesteroide, para estimular la etapa de floración- fructificación y por ende el rendimiento por unidad de superficie en el cultivo del tomate.

El resultado de la utilización de ambos productos bioactivos en el período óptimo de siembra del cultivo, muestra que con los dos, se logra una producción superior con respecto al testigo de producción, lo que evidencia que tanto el Biostan como el Biobras-16 tienen un efecto similar en las plantas lo que puede estar relacionado, con el hecho de actuar como reguladores del crecimiento, donde al ser aplicados por vía exógena pudieran regular de manera positiva algunos procesos en la planta relacionados con el balance hormonal endógeno, que propicie un estímulo en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Estas consideraciones sin embargo, necesitan de investigaciones más profundas para su comprobación.

4.3.2.2. Resultados obtenidos en el período temprano.

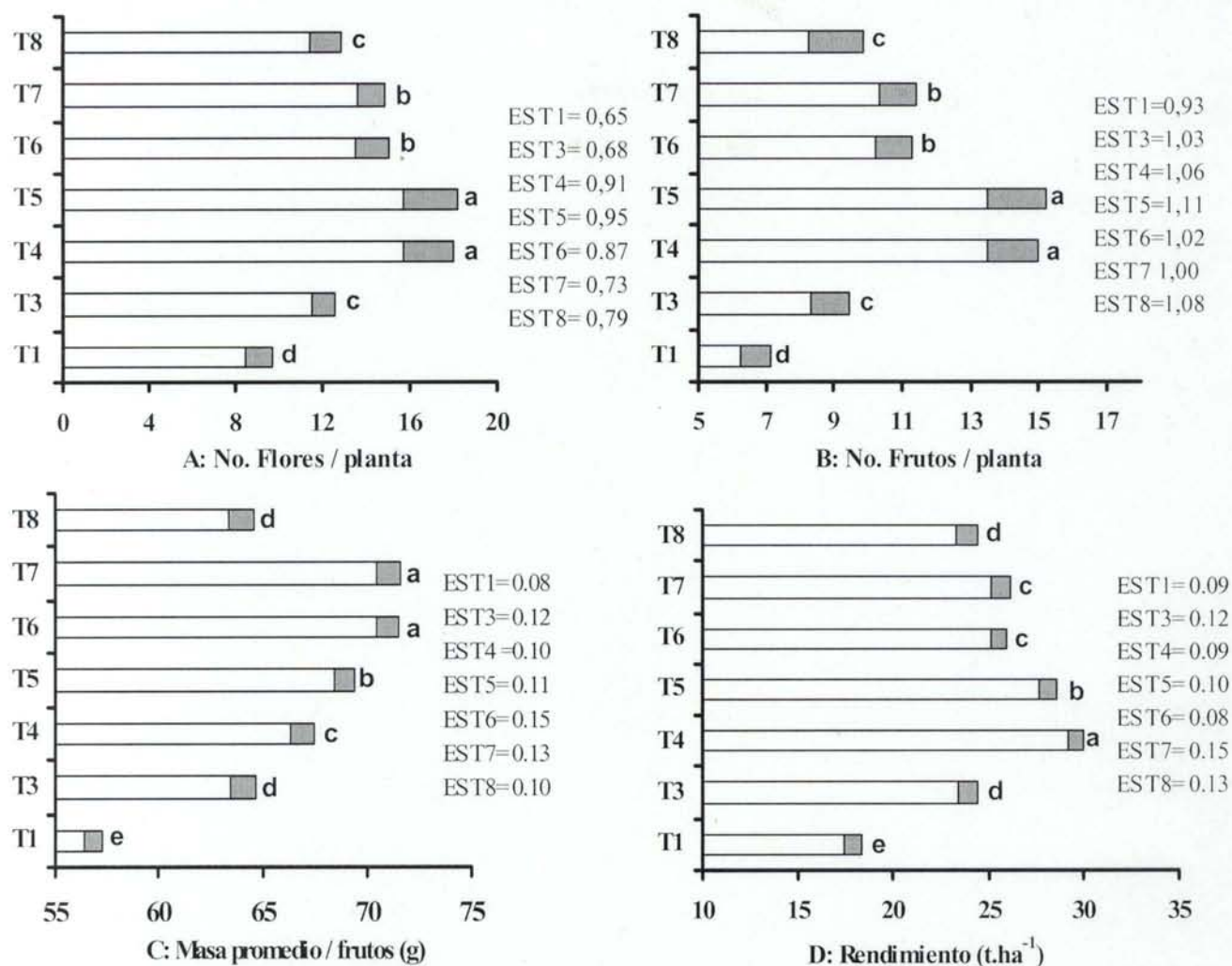
Al analizar los resultados obtenidos en el experimento desarrollado en el período temprano del 2000 y 2001 en sistema de policultivo, el resultado del intervalo de confianza arrojó diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) para cada una de las evaluaciones del rendimiento y sus componentes, **Figura 14** (a y b). Los tratamientos donde se utilizó la coinoculación más el Biostan (T4) con la aplicación de 90 kg. N.ha^{-1} y en asociación con el maíz, fue el que propició la obtención de un mayor número de flores y frutos por planta y por consiguiente mayores rendimientos, superando al testigo asociado (T8) entre un 18% como promedio de los dos años y se superó a las plantas sólo coinoculadas (T3) en un 17% y alrededor de un 10% a las plantas que solo recibieron la aplicación de los productos bioactivos (T6 y T7). El rendimiento alcanzado en el tratamiento con Biobras-16 (T5) fue igualmente superior respecto al testigo de producción, e inferior al tratamiento donde se aplicó el Biostan.



T1. Unicultivo tomate (150 kg N.ha⁻¹) T3. Asoc (coinoculación + 90 kg N.ha⁻¹) T4. Asoc (coinoculación + 90 kg N.ha⁻¹ + Biostan IF) T5. Asoc (coinoculación + 90 kg N.ha⁻¹ + Biobras-16 IF) T6. Asoc (Biostan IF + 90 kg N.ha⁻¹) T7. Asoc (Biobras-16 IF + 90 kg N.ha⁻¹) T8. Asoc. (150 kg N.ha⁻¹)

Figura 14 (a). Influencia de microorganismos benéficos - productos bioactivos, en el rendimiento agrícola y sus componentes.(2000. Zona sombreada es el intervalo de confianza).

Los rendimientos de la campaña 2001 fueron superiores a la anterior, debido a que en la campaña precedente, en la etapa de floración - fructificación coincidió la mayor cantidad de precipitaciones, lo que en alguna medida pudo influir en la caída de flores y frutos. No obstante, la utilización de los productos así como el sistema de asociación de cultivos, permitieron que las plantas fueran mas resistentes al estrés ambiental que se presenta en el período temprano (20 de Agosto - 20 de Octubre), pues como puede apreciarse en la Figura 1, la temperatura media en el mes de Septiembre fue de 26.6 °C en el 2000 y de 25.1 °C en el 2001, que comparadas con la temperatura media del mes de noviembre (período óptimo), las cuales fueron de 22,3 °C (2000) y



T1. Unicultivo tomate (150 kg N.ha⁻¹) **T3.** Asoc (coinoculación + 90 kg N.ha⁻¹) **T4.** Asoc (coinoculación + 90 kg N.ha⁻¹ + Biostan IF) **T5.** Asoc (coinoculación + 90 kg N.ha⁻¹ + Biobras-16 IF) **T6.** Asoc (Biostan IF + 90 kg N.ha⁻¹) **T7.** Asoc (Biobras-16 IF + 90 kg N.ha⁻¹) **T8.** Asoc. (150 kg N.ha⁻¹)

Figura 14 (b). Influencia de microorganismos benéficos - productos bioactivos, en el rendimiento agrícola y sus componentes en sistema de asociación de cultivos (2001. Zona sombreada es el intervalo de confianza).

20,4 °C (2001), resultan altas para la etapa de floración del cultivo, lo que provoca el fenómeno de heterostilia causando abortos florales, provocando efectos negativos en el rendimiento agrícola, tal y como se aprecia en el tratamiento 1 (unicultivo), cuyo rendimiento fue inferior en un 30% (2000) y 34% (2001) al tratamiento asociado y fertilizado con 150 kg. N.ha⁻¹ (T8).

En cuanto a la tolerancia de las plantas al estrés ambiental, Wilen *et al.*, (1995) demostraron que los brasinoesteroides confieren a las células vegetales alguna tolerancia al estrés, e indican que los mecanismos por los cuales estos ejercen dichos efectos, pueden ser en parte, similares a los del ácido abscísico. También, Chen (1996) plantea que las plantas en condiciones de estrés necesitan incrementar el contenido de aminoácidos libres para soportar dicha situación, aspecto en el cual influyen positivamente los productos devenidos de sustancias húmicas como es el caso del Biostan.

De acuerdo a estos criterios, independientemente de que se utilice una variedad adaptada a las condiciones de estrés ambiental, desde el punto de vista práctico la aplicación de estos productos, puede contribuir a incrementar la tolerancia de las plantas frente a condiciones estresantes del medio, de manera que no se afecte la producción del cultivo bajo condiciones no óptimas de siembra.

En el caso de estos experimentos, donde se logró un incremento del rendimiento con respecto al testigo de producción, permite considerar que cualquiera de los dos pueda ser utilizado con el mismo fin, es decir, lograr un estímulo superior en la producción del cultivo, poniéndose de manifiesto además, que la combinación microorganismos benéficos - productos bioactivos constituye una alternativa frente al estrés por altas temperaturas que sufre el cultivo durante este período de siembra.

Por otra parte, el rendimiento obtenido en cada experimento respecto al tratamiento que solamente fue coinoculado (T3), permite corroborar el resultado de los experimentos de los años anteriores, con respecto al rendimiento alcanzado en los tratamientos que recibieron la coinoculación *G. clarum* + *A. brasilense*, poniéndose de manifiesto una vez más, la compatibilidad de ambos microorganismos (HMA - RPCV) cuando son inoculados de forma simultánea.

4.3.2.3. Evaluación general de la combinación microorganismos benéficos - productos bioactivos en el rendimiento agrícola y sus componentes en ambos períodos de siembra.

Un análisis general de los dos productos bioactivos utilizados (Biostan y Biobras-16) y su combinación con los microorganismos inoculados (*G. clarum* y *A. brasilense*), revela que ambos productos ejercen un efecto positivo en el estímulo del desarrollo y rendimiento en el cultivo del tomate, independientemente del sistema de producción de acuerdo y del período de siembra en el

cual se desarrolle el cultivo; no obstante, con el producto Biostan los rendimientos fueron superiores aproximadamente en $2,00 \text{ t.ha}^{-1}$ respecto al obtenido con el producto Biobras-16, en ambos períodos de siembra. La superioridad del Biostan con respecto al Biobras-16, puede estar asociada a su composición fitohormonal y de sustancias húmicas, lo que lo hace un producto eficaz para el estímulo del crecimiento, desarrollo y rendimiento de las plantas

Garcés *et al.*, (1999a), al determinar las sustancias con actividad biológica presentes en el producto Biostan, recomendó la utilización del mismo en los principales estadíos fisiológicos de los cultivos, donde las sustancias bioactivas presentes como son su contenido de aminoácidos y hormonas (Anexo 3), son más eficientes y por tanto ofrecen mayores resultados. En investigación desarrollada por Hernández y Torres (2002), se demuestra el efecto estimulador del Biostan sobre algunas variables biológicas en el cultivo del frijol, incrementándose hasta un 45% el rendimiento del cultivo.

Huelva *et al.*, (2003), lo describieron como un producto eficaz para estimular el rendimiento de diferentes cultivos de interés agrícola por encima del 10%. Por otra parte, Garcés (2003), plantea que el Biostan en concentraciones acuosas por debajo de 20 mg/l , presenta una alta actividad biológica, facilitando el desarrollo radical de las plantas, el crecimiento del tallo y las hojas y el desarrollo de mayor floración con una fructificación adecuada, lo que es atribuible por la capacidad quelatante de los ácidos húmicos, lo cual al penetrar en la membrana plasmática ejercen un efecto en el metabolismo de las plantas y por tanto estimulan su crecimiento, desarrollo y rendimiento.

De igual forma, los análogos de brasinoesteroides y entre ellos el Biobras-16, ha sido descrito como un producto capaz de incrementar la producción de diferentes especies de importancia económica (Fernández *et al.*, 2002). Un estímulo del rendimiento en plantas de tomate (var. INCA-17), fue obtenido por Nuñez *et al.*, (1995) cuando se aplicó el análogo de brasinoesteroide Biobras-6 en la etapa de floración del cultivo

Trabajos realizados por, Savelieva *et al.*, (1997), demostraron un incremento entre un 10 - 18% en el rendimiento de plantas de tomate crecidas en invernadero; igualmente Churicova y Dereushchukov (1997), obtuvieron buenos resultados en tomate cuando en condiciones de campo, aplicaron un análogo de brasinoesteroide a la semilla y en fase de floración, incrementándose los rendimientos y mejorando las propiedades organolépticas de los frutos. Resultados de Nuñez *et al.*, (2000), señalan incrementos del rendimiento en cultivos como ajo, maíz, soya, papa, arroz, tomate y fresa, con la utilización y manejo de este producto bioactivo.

Por todo lo expresado, el resultado de esta investigación ofrece la alternativa del análogo de brasinoesteroide Biobras-16, como un producto eficiente para el cultivo de tomate, a la vez, que promociona al Biostan como otra opción con potencialidades y posibilidades como producto

ecológico que pueden superar a este ya eficiente bioestimulador del crecimiento de las plantas; por otra parte, sería interesante estudiar el efecto combinado de ambos productos bioactivos considerando que estos tienen mecanismos de acción diferentes.

4.3.3. Influencia en la calidad bromatológica de los frutos.

4.3.3.1 Resultados obtenidos en el período óptimo

Las variaciones en la calidad del fruto, se deben a la complejidad de influencia entre aspectos genéticos, nutricionales, fisiológicos y ambientales, según expresan Gull *et al.*, (1989), quienes plantean que el sabor del tomate está en función de los contenidos de azúcares y ácidos.

En la **Tabla 20**, se muestra el efecto de las inoculaciones simples y mixtas y sus combinaciones con el producto bioactivo Biostan, sobre algunas características bromatológicas que definen la calidad interna del tomate para consumo fresco.

Para las variables brix y nitratos, los tratamientos con mejor calidad bromatológica, fueron aquellos donde se combinó la inoculación mixta *Azospirillum brasilense* + *Glomus clarum* en el momento de la siembra complementados con 90 kg N.ha⁻¹ (T3, T4, T5) y que a la vez, recibieron la aplicación de este bioestimulador en diferentes momentos del crecimiento y desarrollo del cultivo, poniéndose de manifiesto con este resultado, que la combinación armónica de estos productos propicia una adecuada calidad interna de los frutos.

Tabla 20. Influencia de la coinoculación y el Biostan en la calidad bromatológica de los fruto .

Tratamientos	Brix (%)		Acidez (%)		Nitrato (mg/kg fruto)	
	1999	2000	1999	2000	1999	2000
1. Testigo absoluto (sin fertilizar)	2.29 d	2.33 d	0.30	0.33	66.23 c	64.13 c
2. <i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i> + 90 kg N.ha ⁻¹	4.28 b	4.32 b	0.39	0.41	75.27 b	73.29 b
3. <i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹ + Biostan (IF)	5.17 a	5.23 a	0.41	0.39	75.31 b	74.38 b
4. <i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹ + Biostan (FI-Fr)	5.12 a	5.28 a	0.40	0.41	76.34 b	73.33 b
5. <i>G. clarum</i> + <i>A. brasilense</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹ + Biostan (IF) y (FI-Fr)	5.21 a	5.21 a	0.41	0.39	75.21 b	73.37 b
6. Biostan (IF) + 90 kg. N.ha ⁻¹	3.36 c	3.42 c	0.39b	0.41	75.33 b	73.55 b
7. Biostan (FI-Fr) + 90 kg. N.ha ⁻¹	3.32 c	3.47 c	0.40b	0.41	75.28 b	74.16 b
8. Biostan (IF) y (FI-Fr) + 90 kg.	3.34 c	3.44 c	0.41	0.40	75.46 b	73.81 b
9. T. de producción (150 kg N.ha ⁻¹)	4.36 b	4.30 b	0.44	0.46	88.53 a	90.59 a
ES $\bar{x}$	0.16***	0.19***	0.03 n.s	0.04 n.s	0.20***	0.18***

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

Aunque en el contenido de acidez, no existen diferencias estadísticas entre los tratamientos, sí se denota una ligera tendencia a la disminución con respecto al testigo de producción; igualmente, al valorarse la presencia de los nitratos en los frutos, se obtuvo un mayor contenido en el testigo de producción (T8), el cual superó en un 21% a los restantes tratamientos, por tanto, la utilización de la alternativa en estudio proporciona productos agrícolas de mayor aceptación, de acuerdo a las exigencias actuales respecto a determinados productos que, como los nitratos cuando sobrepasan los 150 mg/kg de fruto, son inaceptados en el mercado internacional, por lo perjudicial que resulta a la salud del hombre y los animales (García-Roche (1996).

Un resultado similar al descrito anteriormente, se obtuvo en el experimento desarrollado con Biobras-16 (Tabla 21), apreciándose que el contenido de sólidos solubles totales (Brix) resultó ser superior en los tratamientos coinoculados y asperjados con Biobras-16 (T3, T4, T5), sin que se presentaran diferencias estadísticas con el tratamiento testigo de producción (T8).

En ambos experimentos, tanto los valores de brix como de acidez se encuentran dentro del rango adecuado, pues según Baugarther *et al.*, (1998), se consideran valores óptimos de sólidos solubles totales (Brix) por encima del 4% y la acidez en un rango de 0,4-0,6%; en esta última variable, el tratamiento testigo de producción se encuentra cercano al límite superior permisible, siendo la acidez un aspecto no deseado para el tomate de consumo fresco. En el caso del contenido de nitratos, al igual que en el análisis hecho con el producto Biostan, fue el testigo de producción (T9), el que alcanzó el mayor contenido en este elemento, superando al resto de los tratamientos en un 25%.

Tabla 21. Influencia de la coinoculación y el Biobras-16 en la calidad bromatológica de los frutos .

Tratamientos	Brix (%)		Acidez (%)		Nitrato (mg/kg. de fruto)	
	1999	2000	1999	2000	1999	2000
1. Testigo absoluto (sin fertilizar)	3.12 c	3.21 c	0.33	0.37 c	55.25 e	51.26 d
2. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹	5.36 a	5.28 a	0.40	0.44 b	72.24 d	76.22 c
3. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹ + Biobras-16 (IF)	5.41 a	5.47 a	0.41	0.47 b	73.18 d	75.16 c
4. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹ + Biobras-16 (IF y FI-Fr)	5.38 a	5.32 a	0.39	0.46 b	72.27 d	75.32 c
5. <i>A. brasilense</i> + <i>G. clarum</i> + 90 kg. N.ha ⁻¹ + Biobras-16 (FI-Fr)	5.33 a	5.39 a	0.40	0.45 b	73.31 d	76.14 c
6. Biobras-16 (IF)+ 90 kg. N.ha ⁻¹	4.27 b	4.27 b	0.43	0.46 b	85.12 b	81.38 b
7. Biobras-16 (FI-Fr) + 90 kg. N.ha ⁻¹	4.32 b	4.30 b	0.45	0.42 b	83.26 c	80.41 b
8. Biobras-16 (IF) y (FI-Fr) + 90 kg.	4.29 b	4.32 b	0.42	0.44 b	84.62 b	81.28 b
9. T. de producción (150 kg. N.ha ⁻¹)	5.21 a	5.41 a	0.55	0.57 a	90.61 a	86.43 a
ES $\bar{x}$	0.04***	0.07***	0.05***	0.07***	1.63***	1.58***

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

Los valores más bajos en nitratos, fueron encontrados en el tratamiento que corresponde al testigo absoluto, el cual no recibió fertilización nitrogenada y por tanto, los bajos contenidos (fruto de los precedentes culturales), no constituyen cifras significativas.

Resulta interesante observar no obstante, que con ninguna de las dosis de nitrógeno aplicada, incluyendo al testigo de producción. se llegó al límite permisible de nitratos (150 mg/kg) en frutos de tomate cultivado a campo abierto (García-Roche, 1996)

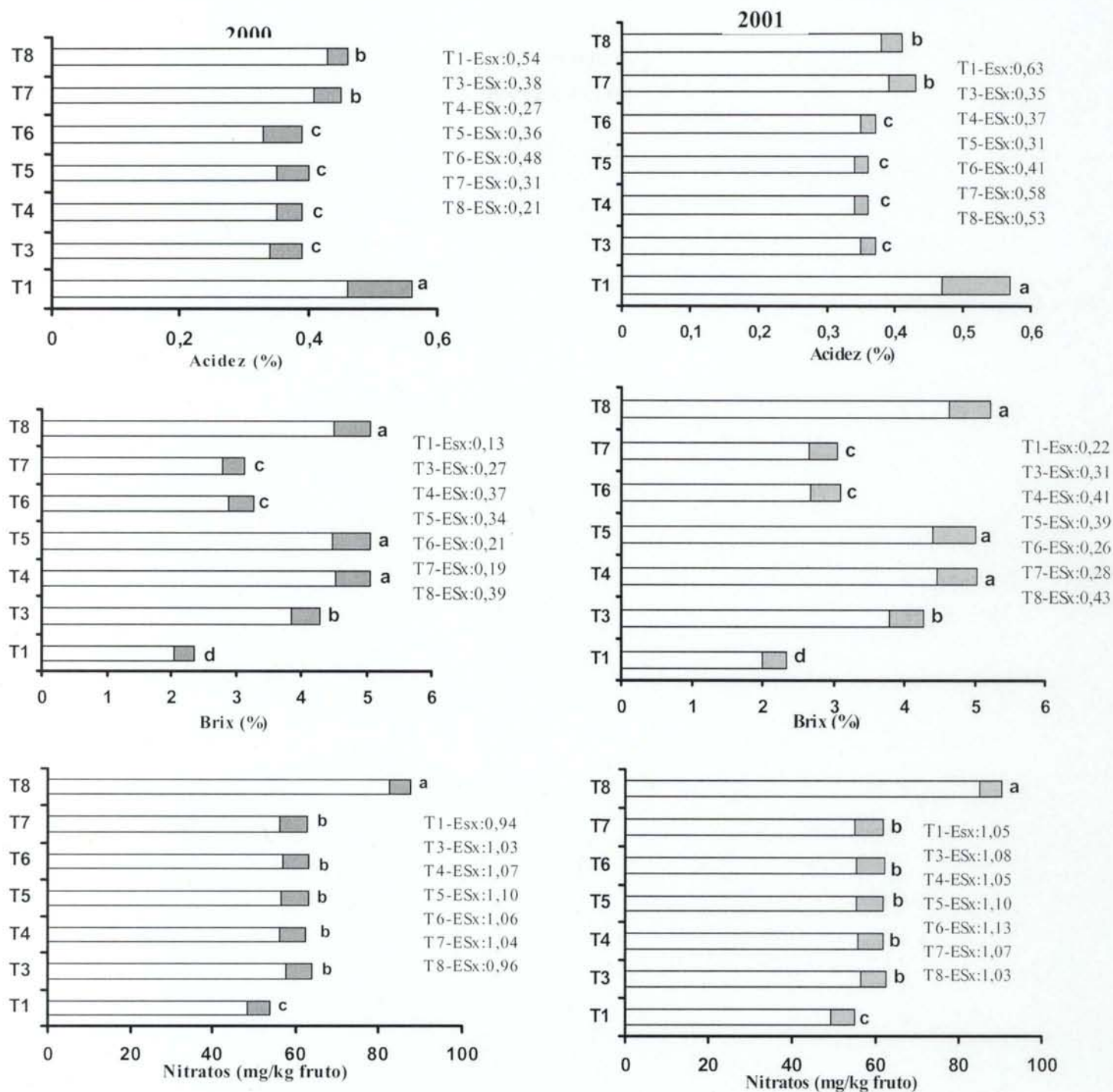
4.3.3.2. Resultados obtenidos en el período temprano.

La Figura 15, muestra el efecto de los tratamientos sobre la calidad bromatológica de los frutos de tomate cultivados en el período temprano. Los más altos valores en el contenido de acidez y nitratos se obtuvieron en el tratamiento testigo de unicultivo de tomate, donde se aplicó 150 kg. N.ha⁻¹(T1), difiriendo estadísticamente de los restantes tratamientos.

A su vez, la diferencia de este tratamiento con respecto al que se encontraba en asociación con igual dosis de fertilizante nitrogenado (T8), explica el efecto positivo de este sistema con respecto al unicultivo, lo que evidencia que bajo el sistema asociado, al protegerse las plantas del estrés por alta intensidad de luz y temperatura, le permite a la planta una mayor acumulación de lotoasimilatos durante la fase vegetativa, lo que conlleva a una mayor traslocación y asimilación de los mismos en los frutos en los sistemas de policultivos.

Además de ser estos tratamientos los que menor contenidos de nitratos presentaron, el contenido de sólidos solubles totales (brix), estuvo al parecer estimulado por la aplicación de los productos y su complementación con 90 kg. N.ha⁻¹.

El brix y la acidez son indicadores del grado de madurez o calidad organoléptica en los frutos, que con su avance, se incrementan los sólidos solubles totales mientras la acidez disminuye; estas características en su conjunto, le confieren el sabor agradable típico de los frutos de tomate (Ho, 1996 y Romero-Lima, 2000).



T1. unicultivo tomate (150 kg N.ha⁻¹) T3. Asoc. (coinoculación + 90 kg N.ha⁻¹) T4. Asoc. (coinoculación + 90 kg N.ha⁻¹ Biostan IF) T5. Asoc. (coinoculación + 90 kg N.ha⁻¹ Biobras-16 IF) T6. Asoc. (Biostan + 90 kg N.ha⁻¹) T7. Asoc. (Biobras-16 + 90 kg N.ha⁻¹) T8. Asoc. (150 kg N.ha⁻¹).

Figura 15 . Influencia de microorganismos benéficos y productos bioactivos en la calidad bromatológica de los frutos (zona sombreada es el intervalo de confianza).

4.3.3.3. Evaluación general de la calidad bromatológica de los frutos en ambos períodos de siembra.

Haciendo una valoración general del comportamiento en ambos períodos de siembra y sistemas de plantación, pudo demostrarse que en ambos períodos, se obtuvieron frutos con menores contenidos de nitratos y acidez que el testigo de producción; ambos indicadores de la calidad del fruto son de vital importancia, cuando las producciones son dirigidas al consumo fresco, por lo que es extremadamente importante, su seguimiento sobre todo los contenidos en nitratos por sus efectos negativos al ser humano y al suelo, cuando están presentes en cantidades por encima de 150 mg.kg-1, de manera que los valores de NO₃- en frutos inferiores a 100 mg.kg-1 de fruto, no prevé peligro de contaminación.

Al respecto la FAO (2001), ha señalado que la contaminación por nitratos en las hortalizas al desarrollarse bajo una agricultura de altos insumos y centrada en el monocultivo, lleva a un abuso de fertilizantes inorgánicos ya que el agricultor para obtener el máximo rendimiento de sus cultivos, hace un uso indiscriminado y sistemático de abonos nitrogenados para aumentar el peso de los frutos y con ello la producción, aunque en detrimento de su calidad e inocuidad.

Finalmente, debe señalarse que el menor contenido de nitratos encontrado en los tratamientos donde se utilizaron los productos (biofertilizantes y productos bioactivos) y donde sólo se aplicó 90 kg N.ha-1, respecto al testigo de producción con 150 kg. N.ha-1, corrobora lo planteado por Bañuls *et al.*, (1999) quienes expresan que en el cultivo de las hortalizas se aportan cantidades altas de fertilizantes nitrogenados y de agua de riego, lo que ocasiona que exista un flujo importante de nitratos en el agua de drenaje que provoca contaminación de los acuíferos; por ello, para reducir la creciente tasa de contaminación por nitratos en las zonas de agricultura intensiva, es absolutamente necesario mejorar la eficiencia en la utilización de los fertilizantes nitrogenados por las plantas, mediante la utilización de fuentes alternativas a la nutrición inorgánica. Esta valoración está estrechamente relacionada con estos resultados que corroboran tal aseveración.

Con el objetivo de analizar de conjunto las evaluaciones realizadas durante la fase de plantación del cultivo, y conocer realmente que variables describen el proceso biológico obtenido, se realizó un análisis de componentes principales, a través de un Biplot, que permitió agrupar en varios grupos los tratamientos estudiados, incluyéndose los años en que fueron realizados los experimentos.

Para el caso del experimento desarrollado con el producto Biostan, las dos primeras componentes (Tabla 22), acumulan el 78,26% de la variabilidad total, correspondiendo la mayor

contribución a la componente C I , la cual está determinada por el número de flores y frutos por planta, en el caso de la componente C2 se define por el contenido de nitratos en los frutos.

La distribución de los tratamientos en este experimento donde se utilizó el Biostan como producto bioactivo (Figura 16), permitió la formación de cinco grupos bien definidos El grupo 1, está formado por el testigo absoluto (T1), el cual se encuentra totalmente desplazado hacia el eje izquierdo, corroborándose la importancia de la nutrición mineral para garantizar una mejor producción.

El grupo II, lo constituyen los tratamientos donde se realizó sólo la aplicación foliar de Biostan al inicio de la floración (T6), en floración-fructificación (T7) y en ambos momentos (T8), complementados con 90 kg N.ha-1, definidos por la componente C1 pero más desplazados hacia la izquierda.

Un comportamiento intermedio presenta el grupo III, formado por el tratamiento donde se realizó la coinoculación *A. brasilense* + *G. clarum* suplementada con 90 kg. N .ha-1 (T2).

A medida que se desplaza hacia la derecha sobre el eje horizontal (C I), se encuentra el grupo IV, formado por los tratamientos donde se coinocularon las plantas y se aplicó el Biostan en tres momentos diferentes de desarrollo del cultivo (T3-T4-T5), caracterizados esencialmente por las variables que definen el eje C1, con un mejor estado nutricional de las plantas , mayores rendimientos y una mejor calidad bromatológica de los frutos.

Por último, el grupo V se encuentra formado por el testigo de producción (T9), estando definido por la acidez y el contenido de nitratos de los frutos .

En el caso del experimento donde se utilizó el Biobras-16 como producto bioactivo, las dos primeras componentes (Tabla 23), acumulan el 87,34% de la variabilidad total, correspondiendo la mayor contribución a la componente C1, la cual está igualmente determinada por el número de flores y frutos por planta, el contenido de brix y el rendimiento agrícola, en el caso de la componente C2, está definida específicamente por el contenido de acidez en los frutos.

La distribución de los tratamientos en este experimento (Figura 17), permitió la formación de cinco grupos . El grupo 1, similar a los resultados descritos en el experimento anterior, lo conforma el testigo absoluto (T1), con resultados inferiores con relación a los restantes grupos.

El grupo II, se encuentra formado por los tratamientos donde se realizaron sólo las aplicaciones exógenas de Biobras - 16 complementada con 90 Kg. N.ha-1 (T6, T7 y T8), corroborándose de esta manera el efecto superior de la coinoculación (T2), que forma un grupo (III) más próximo a las variables que definen la componente C1, con un comportamiento intermedio.

Tabla 22. Contribución relativa de las variables a las componentes principales en el experimento desarrollado con el producto Biostan.

Valores propios	C1	C2
Contribución a la variación total (%)	66.29	11.96
% acumulado		78.26
Contenido de nitrógeno (%)	450	0
Contenido de fósforo (%)	476	0
Contenido de potasio (%)	256	6
Contenido de Brix (%)	324	90
Contenido de Acidez (%)	13	362
Contenido Nitratos (mg/kg fruto)	102	496
No. flores por planta	574	8
No. frutos por planta	618	18
Rendimiento (t.ha ⁻¹)	206	35
Masa promedio de frutos (g)	414	5

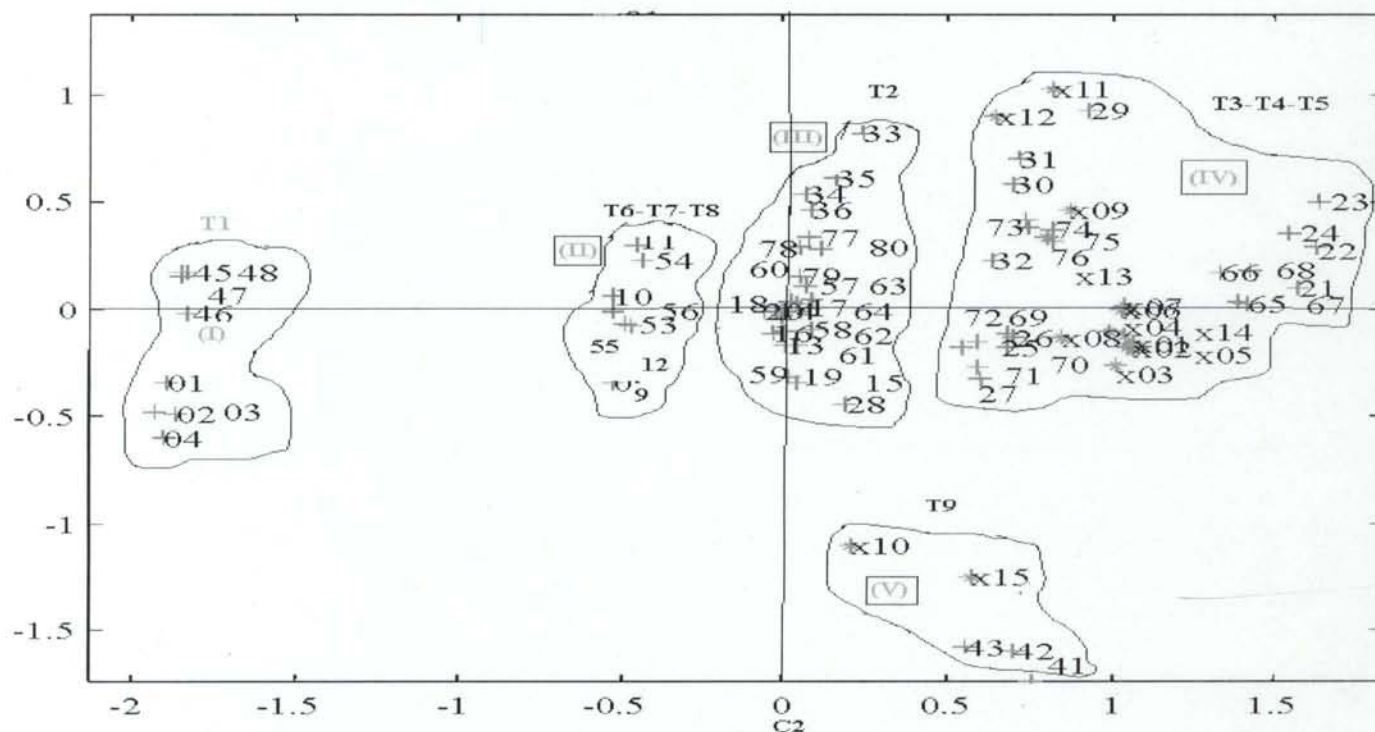


Figura 16. Representación gráfica del análisis Biplot tomando en cuenta los tratamientos y variables, con la utilización del producto Biostan.

Tabla 23. Contribución relativa de las variables a las componentes principales en el experimento desarrollado con el producto Biobras-16.

Valores propios	C1	C2
Contribución a la variación total (%)	77.36	9.98
% acumulado		87.34
Contenido de nitrógeno (%)	480	23
Contenido de fósforo (%)	386	24
Contenido de potasio (%)	493	39
Contenido de Brix (%)	559	107
Contenido de Acidez (%)	140	595
Contenido Nitratos (mg/kg fruto)	325	259
No. flores por planta	505	12
No. frutos por planta	550	5
Rendimiento (t.ha ⁻¹)	642	5
Masa promedio de frutos (g)	305	40

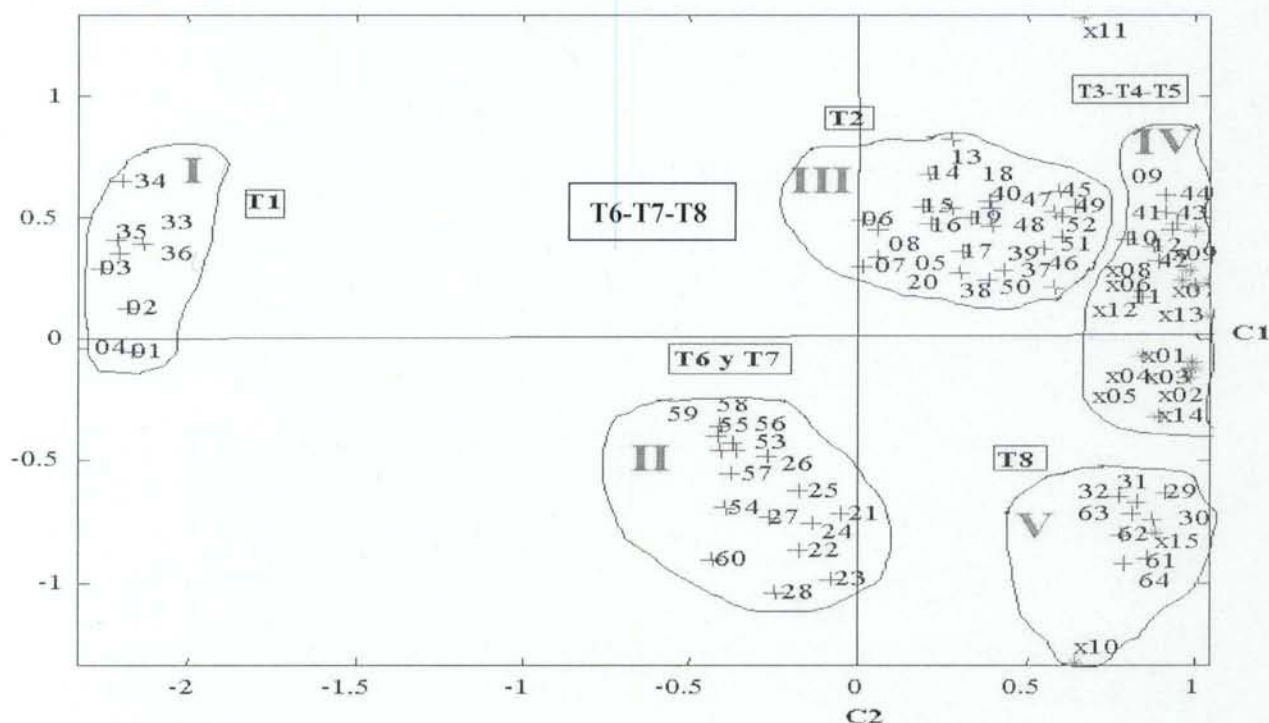


Figura 17. Representación gráfica del análisis Biplot, tomando en cuenta los tratamientos y variables, con la utilización del producto Biobras-16.

A medida que se desplaza hacia la derecha sobre el eje horizontal (C 1), se encuentra el grupo IV, formado por los tratamientos donde se coinocularon las plantas y se aplicó el Biobras-16 en diferentes etapas de desarrollo del cultivo (T3, T4 y T5), caracterizados esencialmente por las variables que definen el eje CI.

El grupo V, está caracterizado por el tratamiento testigo de producción (T9) y que lo define la acidez y el contenido de nitratos en los frutos.

En sentido general, el análisis Biplot realizado permitió corroborar el resultado obtenido en los análisis univariados, destacándose los tratamientos donde se combinan los microorganismos benéficos con los productos bioactivos y la fertilización inorgánica, como los más eficientes al propiciar un adecuado estado nutricional de las plantas, mayor rendimiento agrícola, así como un efecto positivo en la calidad bromatológica de los frutos.

4.4. Contribución de los microorganismos benéficos (*G. clarum* + *A. brasilense*) y el producto bioactivo (Biostan) a la producción del cultivo, en ausencia de la fertilización mineral.

Tomando en cuenta que en el mundo existe una demanda cada vez mayor de productos de la agricultura obtenidos con recursos del propio agroecosistemas y ausencia de agroquímicos, se propuso estudiar a partir de los resultados anteriormente descritos, la utilización y manejo de la coinoculación y la aspersión foliar del Biostan, con el propósito de evaluar sus efectos, como una alternativa ecológica dentro de la tecnología de producción del cultivo del tomate, desarrollándose la investigación tanto en condiciones de organopónico como en campo abierto, en período temprano y óptimo.

4.4.1. Efecto de la coinoculación *G. clarum* + *A. brasilense* y el producto bioactivo Biostan en condiciones de organopónico (período óptimo).

En la Tabla 24, puede apreciarse el efecto de los diferentes tratamientos en los contenidos foliares de nitrógeno, fósforo y potasio de las plantas. Se obtuvo diferencias altamente significativas para cada uno de los macroelementos determinados, corroborándose la ausencia de diferencias significativas entre los momentos del crecimiento y desarrollo del cultivo para la aplicación del producto bioactivo, lográndose con la combinación de los microorganismos y el Biostan al inicio de la floración, valores que superaron al testigo de producción en 2.17% el contenido de nitrógeno, un 0.35% en el contenido de fósforo y un 2.44% en el contenido de potasio.

Con este resultado se evidencia nuevamente, la compatibilidad entre los microorganismos inoculados y el producto bioactivo Biostan, los que en su acción conjunta han permitido una mayor absorción de los nutrientes provenientes de la materia orgánica disponible en el sustrato;

por otra parte, parece que las pequeñas contribuciones de nutrientes aportados por el vermicompost, resultan beneficiosos para la actividad metabólica de los microorganismos presentes en el sistema, todo lo cual contribuye a un aumento en la solubilización de los nutrientes, haciendo que lleguen más rápidamente a las raíces, mejorándose el estado nutricional de las plantas (Arteaga, 2003).

Tabla 24. Influencia en el contenido de NPK foliar.

Tratamientos	Contenido N %	Contenido P %	Contenido K (%)
1. Coinoculación + Biostan (IF)	5.81 a	1.13 a	5.76 a
2. Coinoculación + Biostan (F1-Fr-)	5.68 a	1.09 a	5.68 a
3. Coinoculación + Biostan (IF) + (F1-Fr)	5.88 a	1.16 a	5.81 a
4. Testigo de producción (sólo M.O)	3.64 b	0.78 b	3.32 b
5. Testigo absoluto (sin M.O.)	1.31 c	0.52 c	1.93 c
ES x	0.58***	0.45***	0.57***

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

Resulta significativa la contribución de esta combinación de productos a la nutrición de las plantas de tomate, sobre todo en los elementos N y K que son muy importantes para la producción de este cultivo, donde el aporte hecho equivale prácticamente a una fertilización para el ciclo del cultivo, con productos que no contaminan el fruto de las cosechas y tampoco al recurso natural 'suelo'. Por otra parte, esta alternativa enriquece la tecnología para la producción de tomate con un nuevo aporte, que contribuye al logro de una producción más sana desde el punto de vista ecológico, para un mercado cada día más exigente en cuanto a la calidad de las producciones.

Al hacer un análisis de la influencia de estos tratamientos en el rendimiento agrícola y algunos de sus componentes (Tabla 25), se obtuvo que los tratamientos donde se aplicó de forma exógena el Biostan al inicio de la floración (T1) ó en los dos momentos (T3), no difieren entre ellos, pero sí son superiores estadísticamente de los restantes tratamientos, en el número de flores y frutos por planta, lográndose un mayor porcentaje de fructificación y por consiguiente mayores rendimientos, propiciándose un incremento del rendimiento cercano al 28% con respecto al testigo de producción (T4).

Tabla 25. Influencia de la coinoculación más el Biostan en el rendimiento y algunos de sus componentes, en condiciones de organopónico.

Tratamientos	Flores/planta (No.)	Frutos/planta (No.)	Fructificación (%)	Masa /frutos (g)	Rendimiento (kg.m ²)
1. Coinoculación + Biostan (IF)	20.3 a	18.20a	90	89.20 e	3.79 a
2. Coinoculación + Biostan (F1-Fi)	17.50 b	15.30 b	87	91.30 b	3.04 b
3. Coinoculación + Biostan (IF)+(F1-Fr)	19.60 a	17.80 a	91	91.60 b	3.78 a
4. Testigo de producción solo MO	17.30 b	15.30 b	88	93.70 a	2.96 b
ES x	0.56***	0.58***	-----	0.60***	0.04***

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

De esta manera se comprueba, la influencia del efecto nutricional sobre las plantas y su repercusión en los rendimientos, expresado en este caso sobre un mayor número de flores y frutos por planta, propiciando una mayor fructificación del cultivo y por tanto un incremento en el rendimiento. Se corroboró, el efecto positivo del producto bioactivo Biostan unido a los microorganismos inoculados, lo que se manifestó en el mayor rendimiento alcanzado y por tanto un mayor aporte desde el punto de vista agronómico.

Finalmente, se demuestra, que bajo condiciones de organopónico, en período óptimo, puede realizarse sólo la aplicación del Biostan al inicio de la floración del cultivo, con vistas a lograr una mayor factibilidad económica en la utilización del producto.

4.4.2. Efecto de la coinoculación *A. brasilense* + *G. clarum* y el producto bioactivo Biostan como sustitutos totales de la fertilización mineral, en condiciones de campo abierto.

Partiendo de los mejores resultados obtenidos en el experimento desarrollado en sistema de organopónico, se procedió a evaluar la combinación de la coinoculación más la aspersión exógena del Biostan, al inicio de la floración y en floración - fructificación, como alternativa que permita un adecuado estado nutricional de las plantas en condiciones de campo abierto, en sistema de asociación de cultivos en el período temprano y unicultivo en el período óptimo, de manera que se logre definir el efecto de la coinoculación y el producto bioactivo como una alternativa ecológica para la producción de tomate, a partir de la sustitución total de la fertilización mineral que requiere el cultivo del tomate en suelo Ferralítico Rojo lixiviado de Cuba.

4.4.2.1. Influencia en la absorción de nutrientes.

La **Figura 18**, muestra el tratamiento escogido por su mejor comportamiento bajo condiciones de organopónico y su comparación con los respectivos testigos, absoluto y de producción, respectivamente. Al analizar los contenidos foliares de nitrógeno, fósforo y potasio de las plantas cultivadas bajo el sistema de asociación de cultivos en el período temprano del 2001, se obtuvieron diferencias significativas entre los tres tratamientos, siendo superior el contenido de NPK en la variante convencional (Testigo de producción) con un 0.62% de incremento en el contenido de nitrógeno, un 0.10% el contenido de fósforo y un 0.37% el contenido de potasio, respecto al tratamiento que propone la alternativa ecológica de producción, mientras que prácticamente duplicó los contenidos foliares del testigo sin fertilizar (absoluto).

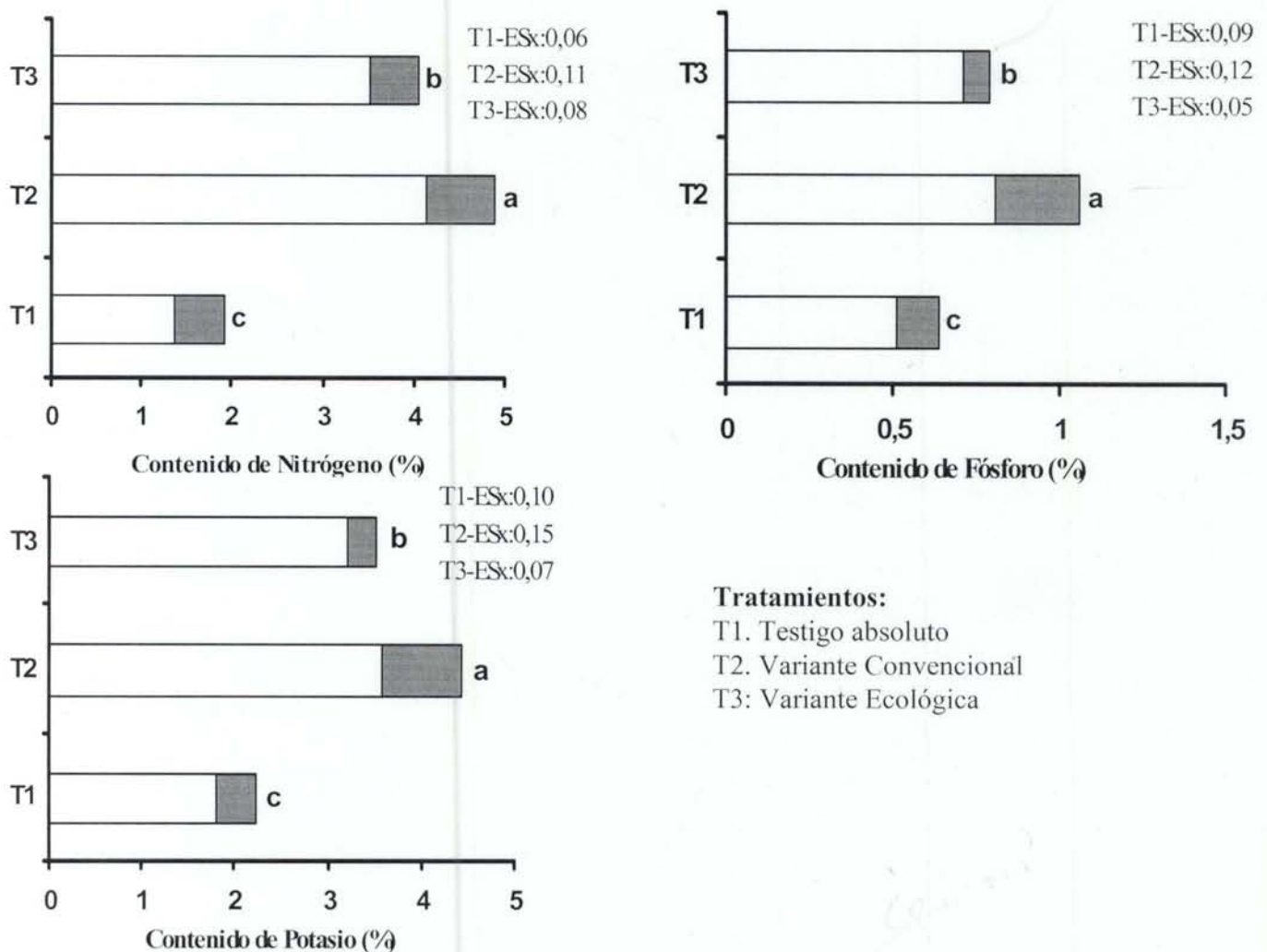


Figura 18 Influencia de las diferentes variantes en el contenido de NPK en el período temprano (zona sombreada es el intervalo de confianza).

El análisis del experimento en unicultivo en el período óptimo de los años 2001 y 2002 (**Tabla 26**), refleja que la absorción de los nutrientes NPK fue superior en las plantas desarrolladas bajo la variante convencional, presentando diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) respecto a la alternativa ecológica, superándola entre 1.49-1.54% en el contenido de nitrógeno, de un 0.12-0.17% en el contenido de fósforo y de 1.35-1.60% en el contenido de potasio. El testigo absoluto fue superado entre dos y tres veces por el tratamiento convencional en los contenidos de los elementos K y N respectivamente.

Tabla 26. Influencia de las diferentes variantes en el contenido de NPK foliar.

Tratamientos	Contenido N (%)		Contenido P %		Contenido K %	
	2001	2002	2001	2002	2001	2002
1. Testigo Absoluto	1.32 c	1.28 c	0.66 c	0.54 c	1.83 c	1.78 c
2. Variante Convencional	4.71 a	4.83 a	0.95 a	0.93a	5.21 a	5.18 a
3. Variante Ecológica	3.22 b	3.29 b	0.78 b	0.81 b	3.61 b	3.83 b
ESx	0.58***	0.60***	0.06***	0.10***	0.56 ***	0.54***

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

Aún cuando los contenidos de NPK en los experimentos desarrollados en ambos sistemas de producción, los niveles son superiores en la variante convencional correspondiente a la tecnología actual de producción del cultivo, es de destacar que los valores obtenidos en la variante que propone una nutrición totalmente ecológica, están dentro del rango considerado por Benett (1996) como adecuado para el cultivo en condiciones de campo, por lo que la coinoculación *G. clarum* + *A. brasilense* en la siembra, más la aspersión foliar del Biostan al inicio de la floración y en la etapa de floración - fructificación del cultivo, permitió un normal estado nutricional de las plantas a partir de la posible influencia de estos, en la morfología de las raíces, lo cual provocó una adecuada absorción por las plantas de agua y nutrientes.

Evidentemente, los biofertilizantes y productos bioactivos utilizados, no son capaces de suplir en su totalidad los requerimientos nutricionales del cultivo; no obstante, estos brindan una respuesta de gran valor para la toma de decisión, sobre todo para evaluar y conocer como suplir ese déficit con las alternativas de procedencia orgánicas conocidas, factibles de aplicar en el sistema productivo como son la materia orgánica, los abonos verdes, entre otros. Este resultado permite considerar la existencia una nueva opción o alternativa que por la procedencia de su contenido, puede ser considerada como ecológica.

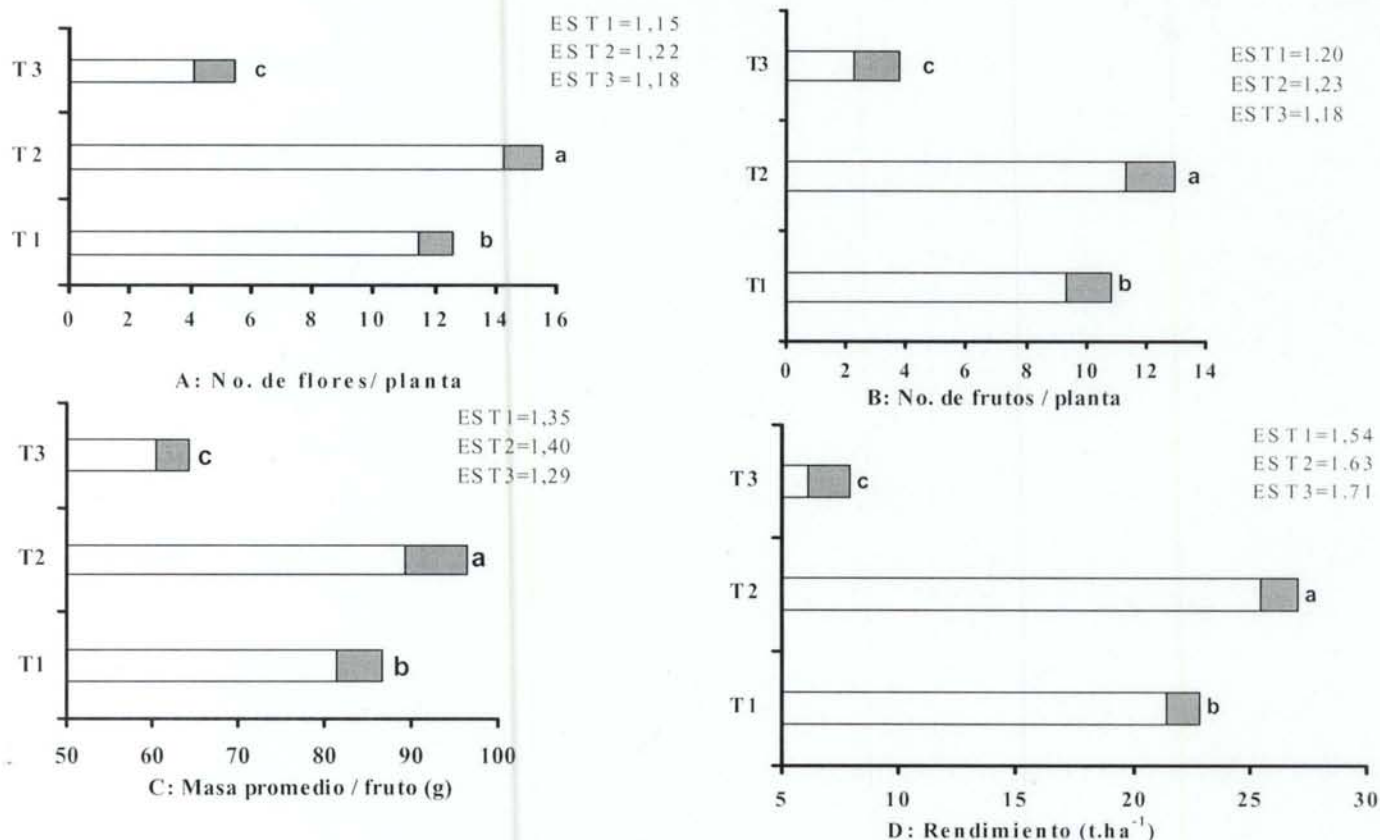
4.4.2.2. Influencia en el rendimiento agrícola y algunos de sus componentes.

La evaluación del rendimiento y algunos de sus componentes, tanto en el experimento desarrollado en el período óptimo (Tabla 27) como en el período temprano (Figura 19), mostraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos, siendo superior el rendimiento en la variante convencional, la cual fue superior en un 27% en el período óptimo con respecto a la alternativa ecológica, la cual prescindió de la fertilización mineral.

Tabla 27. Influencia de las diferentes variantes en el rendimiento agrícola y sus componentes en el período óptimo.

Tratamientos	Flores/planta (No.)		Frutos/planta (No.)		Masa Promedio/ fruto (g)		Rendimiento (t.ha ⁻¹)	
	2001	2002	2001	2002	2001	2002	2001	2002
1. T. Absoluto	6.21 c	6.36 c	4.33 c	4.41 c	67.31 c	69.25 c	7.28 c	8.32 c
2. V. Convencional	17.32 a	18.21 a	15.26 a	16.32 a	92.18 a	88.36 a	31.28 a	32.16 a
3. V. Ecológica	14.35 b	13.81 b	12.10 b	10.64 b	88.41 b	85.36 b	25.52 b	27.19 b
ES $\bar{x}$	0.58***	0.59***	0.56***	0.66***	0.60***	0.58***	0.58***	0.56***

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



T1. Variante Ecológica T2. Variante Convencional T3. Testigo absoluto

Figura 19. Influencia de las variantes utilizadas en el rendimiento y algunos de sus componentes en el período temprano (zona sombreada es el intervalo de confianza).

En el caso del experimento desarrollado en el período temprano en asociación de cultivos, igualmente la variante convencional superó en un 17% a la variante ecológica. Comparando el rendimiento en ambos sistemas, se corrobora la menor producción del período temprano con respecto al período óptimo.

A pesar de que la variante considerada como alternativa ecológica, no alcanza los valores que se logran con el testigo que representa la opción convencional, los rendimientos obtenidos superan las 20 t.ha⁻¹, que si bien no alcanza el rendimiento potencial de la variedad 'Amalia' (28-64 t.ha⁻¹) para un comercio especializado, podría ser considerada una opción económica, aún cuando faltaría el necesario complemento nutricional que evidentemente deberá influir en un mayor rendimiento, comparado con el alcanzado bajo estas condiciones. Este tratamiento alternativo, no obstante, superó al testigo absoluto en más del 60% en el período óptimo y en más del 40% en el período temprano, por ello puede considerarse este resultado una opción apreciable para la tecnología de producción ecológica y su posible comercialización como producto orgánico, cuya demanda se incrementa cada día en el mundo, en virtud de una mejor calidad de vida.

Independientemente del déficit nutricional presente en la alternativa ecológica no debe esperarse, al menos en la etapa inicial del establecimiento de cualquier alternativa ecológica, resultados similares a los que se obtienen bajo condiciones de la agricultura convencional, pues autores como Altieri y Nicholls (1999), refieren que en el tránsito de la agricultura convencional hacia la ecológica, el primer cambio visible que se observa es la afectación en la producción de los cultivos, llevando generalmente este proceso de tres a cuatro años su recuperación, debido fundamentalmente a la necesaria transformación que debe ocurrir en el agroecosistema, para alcanzar el equilibrio.

Por otra parte, al analizar el porcentaje de frutos según su calibre en cada sistema de cultivo (**Tabla 28**), se aprecia que el mayor porcentaje de frutos de primera y segunda calidad, se lograron en la variante convencional de atraktividad para el comercio, considerando que esta variedad es utilizada para el consumo fresco. En el caso de la variante considerada como ecológica, el mayor porcentaje de frutos se encontró en los de segunda calidad y, en el tratamiento testigo absoluto en la clasificación de tercera, todo lo cual ha estado en estrecha relación con el rendimiento agrícola obtenido.

En concordancia con el rendimiento, la variante que propone una alternativa ecológica proporciona frutos más pequeños, correspondiendo los mayores porcentajes al calibre de 2da (35-45 mm); si se toma en consideración los actuales criterios de gusto a escala internacional, los frutos pequeños han alcanzado una notable preferencia entre los consumidores, sobre todo, para

lograr un mayor consumo del jugo interno del fruto; en este sentido, las producciones logradas en la variante denominada ecológica, alcanzan un mayor valor desde el punto de vista económico.

Tabla 28. Composición de los frutos de tomate por calibres.

Tratamientos	Período óptimo (unicultivo)							
	Extra (>55 mm)		1' (45-55 mm)		2 " (35-45 mm)		3ra (28-35 mm)	
	(%)		(%)		(%)		('yo)	
	2001	2002	2001	2002	2001	2002	2001	2002
T. Absoluto	----	----	8.26	9.32	36.48	34.31	55.26	56.37
V. Convencional	19.71	18.84	40.58	38.61	33.42	33.56	6.29	8.99
V. Ecológica	----	----	10.32	11.26	54.40	54.32	35.28	34.42
Período temprano (policultivo, 2002)								
T. Absoluto	----		10.51		44.26		45.23	
V. Convencional	13.38		38.24		40.18		9.18	
V. Ecológica	3.26		9.32		53.28		37.40	

4.4.2.3. Influencia en el control de patógenos.

La utilización de antagonistas microbianos para el control de fitopatógenos, se ha catalogado como un importante complemento en el manejo integrado de las plagas, considerándose este aspecto entre los diversos mecanismos propuestos que explican la promoción del crecimiento vegetal (Frias, 1997); por ello, al evaluarse la incidencia de la coinoculación *A. brasilense* + *G. clarum* junto al producto Biostan, en su influencia sobre el hongo *Alternaria solani*, se obtuvieron diferencias estadísticas significativas entre los tres tratamientos estudiados (Tabla 29), siendo mayor el grado de incidencia del hongo en el testigo absolutamente sin fertilizar, corroborándose lo planteado por Chaboussout (1983), citado por Restrepo (1994) en su "Teoría de la Trofobiosis", cuyo argumento científico se fundamenta en que las plantas con inadecuado estado nutricional, serán más susceptibles al ataque de patógenos que las que han sido bien alimentadas, existiendo una respuesta proporcional al uso de alternativas ecológicas e inversamente proporcional al uso de agrotóxicos.

En el caso del experimento desarrollado en unicultivo, con el empleo de la combinación de los productos, fueron menores las afectaciones foliares causadas por *A. solani*, obteniéndose en estas plantas, menores índices de afectación, los cuales alcanzan un 7% de infección en la primera evaluación (una semana después del trasplante) y luego se incrementa a un 15% en la segunda evaluación (al mes del trasplante), siendo estadísticamente diferente en la primera evaluación y no así en la segunda, oscilando entre un 9-13% el porcentaje de infección del hongo. Estos resultados fueron corroborados en la continuidad de la investigación, con el experimento desarrollo en el año 2002 tal y como se aprecia en el Anexo 4.

diversidad de los enemigos naturales, disminuyendo los daños económicos causados por los insectos plagas.

En el caso del experimento bajo el sistema de asociación de cultivos, igualmente, los tratamientos de la variante convencional y ecológica, mostraron grados de incidencia menores que el testigo absoluto, siendo estadísticamente diferentes los tres tratamientos evaluados, con un porcentaje de infección que osciló entre un 4-5% en la primera evaluación y aún cuando las lesiones se incrementan en la segunda evaluación, éstas no superaron el 10% el grado de infección foliar por *A. solani*.

Tabla 29. Influencia de las diferentes variantes en la incidencia de *Alternaria solani*.

SISTEMA DE UMCULTIVO			SISTEMA DE POLICULTIVO	
Tratamientos	Ira evaluación (2001)		Ira evaluación (2001)	
	G. incidencia	% infección	Grado de incidencia	% infección
Testigo Absoluto	3°	20 a	3°	15 a
Variante Convencional	2°	9 b	1°	4 b
Variante Ecológica	2°	7 e	1°	5 b
ESx	----	0.16**	-----	0.20**
2da evaluación			2da evaluación	
Testigo Absoluto	4°	35 a	3°	25 a
Variante Convencional	3°	13 b	2°	8 b
Variante Ecológica	3°	15 b	2°	6 b
ESx	----	0.21 **	----	0.22**

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

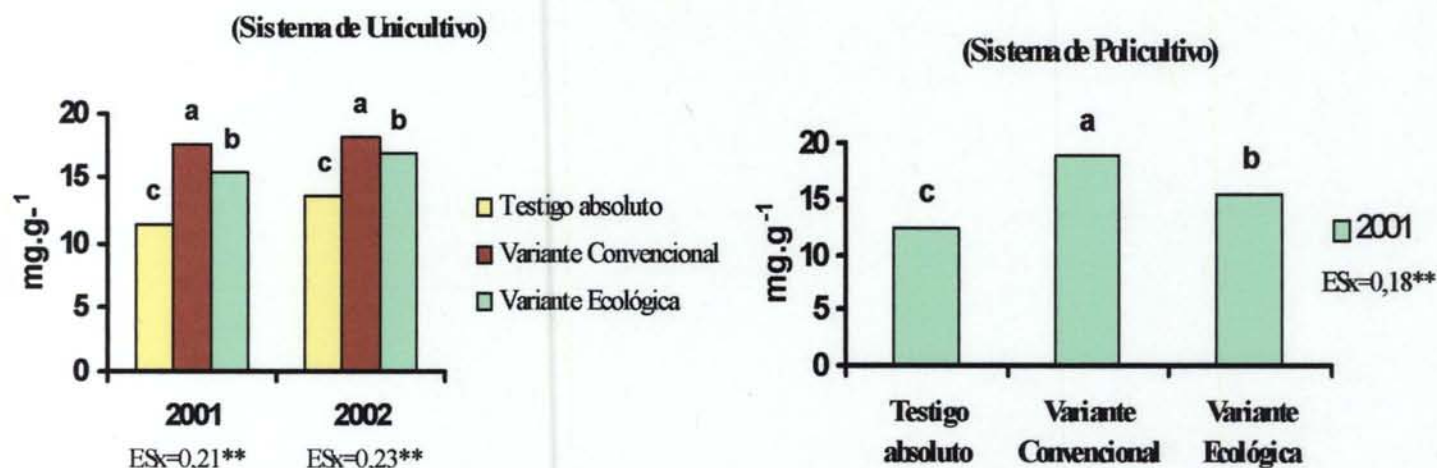
En sentido general, los daños ocasionados por *A. solani* pueden considerarse que a excepción del testigo absoluto, éstos no fueron severos ya que no sobrepasaron el grado 3 de incidencia de este hongo; por otra parte, comparando ambos sistemas de producción del cultivo, se aprecia que bajo el sistema de asociación de cultivos, a pesar de existir condiciones climáticas favorables para la presencia de este hongo (altas temperaturas y elevada humedad relativa), este sistema de conjunto con los productos, contribuyó a una menor incidencia de *Alternaria solani*, con respecto a las plantas, que en el período óptimo se produjeron en sistema de monocultivo y en el cual, la presencia del hongo fue mayor en los dos momentos de realizadas las evaluaciones.

Taiz y Zeiger (1998), plantearon que los niveles de fenoles en las plantas puede constituir una vía para el control parcial o total de patógenos fúngicos en algunas especies de plantas, de esta manera, estos fueron determinados para conocer en que medida, los productos estimulaban

los contenidos de fenoles en las plantas por ser una de las vías posibles para una mayor tolerancia al ataque de patógenos.

Así, en la **Figura 20**, puede apreciarse que se obtuvo un mayor contenido de fenoles en la variante convencional, con valores que oscilan entre 17,6 y 18,2 mg.g⁻¹ en el período óptimo en los dos años evaluados y 18,8 mg.g⁻¹ en el período temprano, diferenciándose del testigo absoluto, en el que se obtuvo valores que oscilaron entre 11,4 y 13,6 mg.g⁻¹. En este caso aún cuando la variante considerada ecológica no supera a la convencional, se aprecia un efecto de los productos en el estímulo de estas sustancias, superándose entre un 20-30% al testigo absoluto.

En este experimento se observó que con el empleo de los productos, disminuyeron los síntomas de la enfermedad, lo que pudo estar propiciado por el incremento de los contenidos fenólicos en estos tratamientos. En relación a este aspecto, Pennickx (1998) refiere que la combinación de los compuestos fenólicos con otros productos metabólicos, forman un enrejado que engrosa la pared celular, constituyendo una barrera física al ataque de patógenos.



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

Figura 20-. Influencia de las diferentes variantes en el contenido de fenoles en las plantas.

La similitud en la respuesta al daño por *A. solani* entre la variante convencional y ecológica, pone de manifiesto el importante papel de los productos aplicados como agentes de biocontrol de la incidencia de plagas. A través de la literatura se ha podido conocer que las rizobacterias, llevan a cabo la biosíntesis de metabolitos de naturaleza antibiótica, que al interactuar simultáneamente, según Kloepper *et al.*, (1997) ejercen un mayor efecto represivo frente al patógeno. En este sentido, también Ardon *et al.*, (1998) han expresado que las bacterias producen y excretan sideróforos, los cuales convierten al hierro en factor limitante, inhibiendo de este modo el crecimiento de patógenos; igualmente, Mauchofer *et al.*, (1998) han afirmado que las

RPCV inducen resistencia en la planta contra enfermedades fúngicas, bacterianas y virales; demostrando su efectividad contra plagas de insectos y nemátodos.

En el caso específico de los HMA, se ha demostrado que estos hongos y sus plantas hospedadoras producen una interacción altamente compatible, induciendo una respuesta defensiva en la planta de carácter temporal (Blee y Anderson, 1996). Esta acción puede estar dada por diferentes causas como son una mejora en la nutrición, compensación del daño, competencia por fotosintatos o por sitios de infección, inducción de cambios en la morfología/anatomía del sistema radical, inducción de cambios en la población de la micorrizosfera y activación de mecanismos de defensa (Hooker *et al.*, 1994).

El efecto de biopreparados con relación al control de fitopatógenos ha sido descrito por diferentes autores. Hernández (2002), utilizó un biopreparado formado por metabolitos de *Burkholderia cepacia*, caracterizada por tener efecto biocontrolador de *Fusarium verticiloides*, *Colletotrichum lindemuthianum* y *Botrytis cinerea*. Igualmente con este bioproducto, Toledo *et al.*, (2002) encontró efecto biocontrolador de *Alternaria solani* en el cultivo del gladiolo.

En el caso del producto derivado del vermicompost (Biostan), no existen trabajos dirigidos a evaluar su efecto en el control de patógenos, por lo que este resultado puede constituir un aporte preliminar al conocimiento en esta línea de investigación, que merece profundizar en aras de comprobar si verdaderamente esta respuesta es resultado de los efectos directos del Biostan o consecuencia de su acción combinada con los microorganismos benéficos.

Hasta aquí se ha demostrado en alguna medida, el efecto de los productos aplicados al cultivo del tomate, los cuales parecen haber desencadenado mecanismos de defensas en las plantas, lográndose una menor presencia de una de las principales enfermedades que se presenta en el cultivo; sin embargo, este resultado no constituye aún un tema concluido, dado por los diferentes factores que intervienen en este proceso y en un ambiente complejo y diverso, para lo cual se deben diseñar investigaciones específicas.

4.5. Valoración económica de los resultados.

A partir de los resultados obtenidos en las investigaciones, se realizó la valoración económica donde se tuvo en cuenta la tecnología con la utilización de los productos complementados con la fertilización mineral, la variante ecológica y el testigo de producción, en los dos sistemas de producción de tomate (unicultivo y cultivo asociado). La **Tabla 30**, muestra los valores de los diferentes indicadores económicos que fueron calculados para el sistema de unicultivo.

Como se aprecia, la tecnología que asume los microorganismos benéficos y los productos bioactivos, suplementados con la fertilización mineral, permite lograr beneficios económicos que se traducen, por una parte, en ganancias de \$7929.26/ha (con Biostan) y \$7526.07/ha (con Biobras-16) por concepto de prescindir del 40% del fertilizante nitrogenado que requiere el cultivo, siendo este complementado con la aplicación de los productos, a este resultado se suma el beneficio ecológico que recibe el agroecosistema producto de la menor cantidad de Fertilizante inorgánico aplicado al suelo, indicador éste que aún no es considerado en los análisis económicos.

Tabla 30. Efecto económico de los tratamientos en el período óptimo (unicultivo).

Tratamientos	Costo de producción (\$·ha⁻¹)	Valor de la producción (\$·ha⁻¹)	Beneficio (\$·ha⁻¹)	Relación B/C
Testigo de Producción	3432.20	9460.88	6028.68	1.75
Coinoculación + Biobras-16 (IF) + 90 Kg N.ha	2915.79	10262.39	7526.07	2.58
Coinoculación + Biostan (IF)+90 kg N.ha-1				
	2512.10	10441.86	7929.76	3.15
Variante Ecológica	2891.19	7298.72	4407.53	1.52

Por otra parte, se produce un aporte superior de la producción en no menos del 15%, así como el acortamiento del período de semillero del cultivo, con la consiguiente disminución de las labores manuales, riego y atenciones fitosanitarias, aspectos que ayudaron a incrementar los beneficios económicos alcanzados, donde según la metodología FAO (1980), este es de un 100% al ser la relación beneficio/costo mayor de 2. Unido a este resultado económico está, el beneficio social, dado por un mayor volumen de esta hortaliza destinada al consumo de la población y que cuenta con la mayor demanda y aceptación.

En el caso de la alternativa ecológica, a pesar, de que el beneficio que aporta está por debajo de las otras variantes, se logra una relación beneficio/costo superior a 1 lo que indica el aporte en ganancia de este tratamiento, por otra parte, económicamente esta variante se compensa en parte, si se toma en cuenta que para estos productos, la calidad biológica de la producción le confiere valores agregados para una mejor calidad de vida del consumidor, algo sobre lo cual aún no se discute en el país, pero que a escala internacional, asume gran importancia, todo lo cual se refleja en los precios superiores de una producción ecológica, respecto a una producción convencional (ONE, 2002).

Para el caso del sistema de asociación de cultivos (**Tabla 31**), se denota un mayor beneficio (\$/ha⁻¹) en los tratamientos asociados comparados con sus respectivos unicultivos, en lo cual influye el rendimiento de maíz obtenido como producción adicional en el sistema y el precio de la tonelada de tomate, el cual es superior para la producción en este período con respecto al precio con que se comercializa en el período óptimo.

Con la utilización de los microorganismos benéficos y los productos bioactivos combinados con la fertilización mineral, donde se obtuvo el mayor beneficio y la mejor relación beneficio/costo, se alcanzaron valores superiores a 3, lo que justifica económicamente la combinación de estos productos y la fertilización nitrogenada en el sistema asociado.

Tabla 31 . **Efecto económico de los tratamientos en el período temprano (policultivo).**

Tratamientos	Costo de prod. (\$ ha ⁻¹)	Valor de la prod. (\$ ha ⁻¹)	Beneficio (\$ ha ⁻¹)	Relación B/C
Testigo de Producción				
Tomate		7533.50		
Maíz		2058.40		
Total	3614.14	9591.90	5977.76	1.65
Unicultivo tomate	2915.79	7283.25	4367.46	1.49
Coinoc. + Biobras-16 + 90 kg N				
Tomate		9139.00		
Maíz		2058.40		
Total de la asociación	3025.11	11197.4	8172.29	2.70
Unicultivo tomate	2915.79	7283.25	4367.46	1.49
Coinoc. + Biostan + 90 kg N				
Tomate		8879.00		
Maíz		2058.4		
Total de la asociación	2732.21	10937.4	8205.19	3.00
Unicultivo tomate	2915.79	7283.25	4367.46	1.49
Variante Ecológica				
Tomate		6929.00		
Maíz		2058.40		
Total de la asociación	3536.10	8987.00	5450.9	1.54
Unicultivo tomate	2915.79	7283.25	4367.46	1.49

En general puede afirmarse que el resultado económico obtenido justifica la utilización combinada de los microorganismos benéficos y productos bioactivos como alternativa viable para lograr una producción rentable en el cultivo del tomate, para los dos períodos de siembra (temprano y óptimo) en que se desarrollaron los experimentos.

4.6. Valoración general del esquema investigativo en sus aportes científicos.

Realizando una valoración general de los resultados presentados en este trabajo, desde la fase de semillero hasta plantación, puede afirmarse lo siguiente:

La influencia positiva de la inoculación de ambos microorganismos en el crecimiento del cultivo es probablemente uno de los factores que produce mayores beneficios para las plantas, pudiendo desempeñar un papel rector en este efecto, el estímulo provocado en el sistema radical a partir de la producción de sustancias reguladoras del crecimiento, por las especies inoculadas o por las propias raíces como una reacción a la colonización. También, se manifiesta la relación compatible de ambos microorganismos cuando se inoculan de forma simultánea, produciéndose una potenciación de sus efectos en el vegetal, a la vez que se pone de manifiesto en estos resultados, la necesidad de una fuente nutricional inicial en esta etapa, que permita obtener una respuesta de las plantas a la presencia del microorganismo para lograr un efecto positivo en el cultivo.

Los resultados obtenidos en los experimentos desarrollados en la fase de plantación del cultivo, mostraron por una parte, la efectividad de las inoculaciones simples de *Glomus clarum* y *Azospirillum brasilense* y por otra, que la inoculación de estos microorganismos no elimina la necesidad de la aplicación del fertilizante nitrogenado que se requiere en la fase de plantación del cultivo, pero sí permite potenciar el rendimiento agrícola que propicia el fertilizante aún cuando disminuya la cantidad a aplicar, reduciéndose en un 20% la fertilización nitrogenada requerida por el cultivo. A su vez, la coinoculación potenció la acción individual que sobre el rendimiento y el contenido nutricional de las plantas ejerce la inoculación de los microorganismos, lográndose con la inoculación una eficiencia equivalente al 40% del fertilizante nitrogenado.

La influencia positiva de la acción combinada (biofertilizantes y productos bioactivos), indica que estos interactúan complementariamente entre sí para poner a disposición de las plantas los nutrientes, mejorar la calidad organoléptica de los frutos e incrementar los rendimientos, teniendo lugar en esta acción diferentes mecanismos que se combinan armónicamente para dar lugar a los resultados alcanzados. Es importante resaltar la efectividad de los productos Biostan y Biobras-16, los cuales mostraron un comportamiento similar, lo que permite inferir que ambos puedan ser utilizados indistintamente en la producción de tomate.

En la literatura internacional no abundan trabajos relacionados con la aplicación conjunta de biofertilizantes y productos bioactivos que permitan obtener rendimientos aceptables en diferentes cultivos, de ahí que los resultados expuestos pueden constituir uno de los primeros en esta novedosa línea de investigación. El reto estará en lograr similares resultados utilizando productos bioestimuladores de procedencia orgánica, para garantizar producciones ecológicas que

puedan ser incorporadas a un mercado fuerte económicamente que a escala mundial se amplia por año.

Los resultados productivos logrados con la variante ecológica, se presentaron por debajo de los alcanzados con la variante convencional; no obstante, estos pueden constituir una alternativa de producción eficiente, aún con un déficit de los requerimientos nutricionales del cultivo. Pero lo más importante de este resultado es que se puede contar con una nueva alternativa de complemento a la tecnología de producción para el cultivo del tomate, que por el origen de su composición, puede ser considerada dentro de las alternativas ecológicas, lo que le concede un valor adicional actual, de suma importancia en la protección de los recursos naturales. Adicionalmente dicha alternativa podría convertirse también en una oportunidad económica, si llegara a ser aceptada dentro de las normas que exige el comercio internacional, para insertarse como alternativa nutricional para la producción y comercialización de productos orgánicos.

V. CONCLUSIONES

A partir de los resultados presentados, se arribó a las siguientes conclusiones:

1. En la fase de semillero, la inoculación con *Azospirillum brasilense* produjo un efecto positivo en el crecimiento de las plántulas, no ocurriendo de igual manera para la inoculación con las especies de HMA, con las cuales no se obtuvo respuesta en esta fase del cultivo.
2. De las especies de HMA y RPCV estudiadas, *Glomus clarum* y *Azospirillum brasilense*, respectivamente, fueron las que se comportaron con mayor efectividad y eficiencia, en la estimulación del rendimiento del cultivo del tomate, permitiendo en ambos casos la sustitución de hasta un 20% de la fertilización nitrogenada.
3. La coinoculación *G. clarum* - *A. brasilense* potenció los efectos individuales de los microorganismos inoculados con un mayor estímulo en el crecimiento de las plántulas, además de acortar aproximadamente en 6 días la fase de semillero del cultivo. Esta inoculación mixta superó el rendimiento agrícola obtenido con las inoculaciones individuales y además mostró una eficiencia equivalente al 40% del fertilizante nitrogenado necesario para el cultivo.
4. La coinoculación más los productos bioactivos Biostan ó Biobras- 16, ejercieron un efecto positivo en el estado nutricional de las plantas y calidad bromatológica de los frutos, así como, estimularon la producción del cultivo del tomate en ambos períodos de siembra, al incrementarse los rendimientos en un 27% con el Biostan y 24% con el Biobras-16, respecto al testigo de producción en período óptimo y entre un -17 y 19% con Biostan y Biobras -16 respectivamente en período temprano.
5. La combinación de *G. clarum* + *A. brasilense* + Biostan, en sistema de producción de tomate en condiciones de organopónico, permitió incrementar la producción del cultivo, en un 28 % con respecto al testigo de producción.
6. La combinación de los productos en ausencia de la fertilización mineral en condiciones de campo abierto, produjo rendimientos por encima de las 20 t.ha' así como mostró un efecto positivo en el biocontrol de la enfermedad fungosa causada por *Alternaria solani*.
7. La tecnología donde se combinan los microorganismos benéficos y productos bioactivos con la fertilización mineral en cada período de siembra, permitió obtener mayores volúmenes de producción, ganancias y relaciones Beneficio / Costo superiores a los obtenidos en la variante convencional de producción de tomate lo que demuestra su factibilidad económica.

VI. Recomendaciones

1. Para garantizar plántulas de óptima calidad en el cultivo del tomate (variedad. 'Amalia'), coinocular las semillas con las especies *Glomus clarum* + *Azospirillum brasilense* suplementadas con 30 kg N.ha⁻¹, lo cual garantiza la realización del trasplante aproximadamente entre los 20 y 24 días posteriores a la germinación.
2. A las plantas de tomate coinoculadas, aplicar una aspersión foliar de *Biostan* ó *Biobras-16* en la fase de plantación, preferiblemente al inicio de la floración del cultivo, complementados con 90 kg N.ha⁻¹, tanto en el período temprano como en el óptimo, en suelo Ferralítico Rojo lixiviado.
3. Evaluar la combinación de los microorganismos benéficos y productos bioactivos, en otras variedades de tomate y en otras condiciones edáficas, tomando como base los resultados del presente trabajo.
4. Considerar la alternativa nutricional ecológica que asume la coinoculación *Glomus clarum* + *Azospirillum brasilense* con aspersiones del producto bioactivo 'Biostan', como una opción ecológica para la producción y posible comercialización de tomates orgánicos, así como, continuar los estudios con la incorporación de otras alternativas nutricionales de procedencia orgánica, que puedan suplir las necesidades nutricionales del cultivo y obtener rendimientos similares a los que se logran con la tecnología convencional.
5. Realizar estudios sobre la acción combinada de los productos bioactivos Biostan y Biobras-16, y sus posibles efectos estimulador en cultivos económicos, así como estudiar su influencia sobre los componentes del agroecosistema.
6. Que esta tesis constituya un material de consulta para la enseñanza pre y posgraduada.

VII. Referencias Bibliográficas

- Abdul-Baki, A. **Tolerance of tomato cultivars and selected germplasm to heat stress** . . Amer. Soc. Hort. Sci. 1991, 116:1113-1116.
- Altieri, M. **Agroecología. Bases científicas para una agricultura sustentable**. CLADES. ACAO. 3ra Ed. La Habana. 1997, 249 p.
- Altieri, M. y Nicholls, C. **Biodiversity, ecosystem function and insect pest management agricultural system**. In: Collins, WW, Qualset. Ed. **Biodiversity in agroecosystems**. Boca Ratón, Florida, CRR Press. 1999, 69-84 p.
- Alvarez, Marta /et al/. **Amalia y Mariela, dos nuevas variedades de tomate para consumo fresco**. Cultivos Tropicales. 1997, 18(1):83
- Ardon, O. /et al/. **Iron uptake in *Ustilago maydis*: tracking the iron path**. .1. Bacteriol. 1998, 180:2021-2026.
- Argerich, C. Situación actual y perspectivas del tomate en Latinoamérica. En: El cultivo del tomate. Ed. por Fernando Nuez. Madrid. Cap. 9. 1995, 741-767 p.
- Arola, S. /et al/. **Study on the performmance of tomato varaties under high temperature conditions**. Haryana Agric. Univ..1. Rtes. 1991, 12(3):386-397.
- Arteaga, Mayra. **Resultados de la aplicación del Liplant sobre un suelo Ferralítico Rojo al evaluar algunos indicadores biológicos y productivos de tres cultivos**. Tesis de Maestría. UNAI-I. La Habana, Cuba. 2003.
- ASA. Mycorrhize in Sustainable Agriculture. Special publication. Madison, Wisconsin, USA. 1992, No.54.
- Asociación tomate. **Programa de competitividad de la industria del tomate. Informes de progresos**. 1997-1998. La consulta, INTA EEA. 2000, 97-99 p.
- Augé, R. **Stomatal behaviour of arbuscular mycorrhizal plnats**. En: **Abbuscular mycorrhizas: physiology and function**, Dordrecht, Boston, London: Kluwer Academic Publisher. 2000,201 - 237 p.
- Azcón, R. **Papel de la simbiosis micorrízica y su interacción con otros microorganismos rizosféricos en el crecimiento vegetal y sostenibilidad agrícola**. En. Ecología, Fisiología y **Biotecnología de la micorriza arbuscular**. Mundi-Prensa, Mexico, S.A. de CV.2000, -15 p.
- Azcón-Aguilar, C. y Barea, .1. **Aplying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials**. *Scientia Horticulturae*. 1996, 68:1-24
- Bacilio-Jimenez, F. /et al/. **Endophytic bacteria in rice seeds inhibit early colonization of roots by *Azospirillum brasilense***. Soil Biology and Biochemistry. 2001, 33(2):167-172.
- Balota, E. /et al/. **Inoculation of diazotrophic bacteria and arbuscular mycorrhizal fúngi on the cassava crop**. *Pesquisa agropecuaria Brasileira*. 1997, 32(6):627-639.

- Bañuls, J. /et al/. Respuesta de plantas de tomate a un inhibidor de la nitrificación en riego por goteo. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. 1999, 9-12 p.
- Baqués, Y.; Fernández L. y Matamoros, A. Factibilidad de la introducción de alimentos ecológicos en el sector turístico cubano. Agricultura Orgánica. 1998, 4(3):15-17.
- Barea, J. y Azcón-Aguilar, C. La rizosfera. Interacciones microbio-planta. Anales de Edafología y Agrobiología. 1982, 41:1517-1532
- Barea, J. y Bonis, A. Interactions between *Azospirillum* and VA mycorrhiza and their effects on growth and nutrition of maize and rye grass. Soil Biology and Biochemistry. 1985, 17(1):119-121.
- Bashan, Y. /et al/. Nonspecific responses in plant growth, yield and root colonization of noncereal crops plants to inoculation with *Azospirillum brasilense* U. Canadian Journal of Botany. 1989, 67(5):1317-1324.
- Bashan, Y. y Levanony, H. Current status of *Azospirillum* inoculation technology. *Azospirillum* as a challenge for agriculture. Can. J. Microbiol. 1990, 39:591-608.
- Bashan, Y. y Mitiku, G. Estimation of minimal numbers of *Azospirillum brasilense* using time-limited liquid enrichment combined with enzyme-linked immunosorbent-assay. Soil Biology and Biochemistry. 1991, 23(2):138
- Bashan, Y.; Holguin, G. y Ferrera-Cerrato, R. Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. II. Bacterias asociativas de la rizosfera. *Terra*. 1996, 14(2):195-209
- Bashan, Y. y Holguin, G. *Azospirillum* - plant relationship: environmental and physiological advances. Canadian Journal of Microbiology. 1997, 43:103-121.
- Bashan, Y. *Azospirillum* plant promoting strains are nonpathogenic on tomato, pepper, cotton and wheat. Canadian Journal of Microbiology. 1998 a, 44(2):166-174
- Bashan, Y. Inoculants of plant growth promoting bacteria for use in agriculture. Biotechnology Advances. 1998 b, 16:729-770.
- Bashan, Y. /et al/. Interactions of *Azospirillum* sp in soils: a review. Biol. Fertil. Soils. 2000, 29:246-258.
- Baugarther, J. /et al/. Nitricao mineral de hortalias. 2da Ed. Sao Pablo. Fundacao cargill. 1998, 132 p.
- Bearden, B. y Petereson, L. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on soil structure and aggregate stability of a vertisol soil. Plant Soil. 1999, 218(1-2):173-183.
- Benitez, E. /et al/. Enzyme and earthworms activities during vermicomposting of carbaryl treated sewage sludge. J. Environ. Qual. 1999a, 28:1099-1104.
- Benitez, E.; /et al/. Enzyme and earthworms activities during vermicomposting of carbaryl treated sewage sludge. J. Environ. Qual. 1999 b, 28:1099-1104.

- Bennett, A. Nutrient deficiencies and toxicities in crop plants. USA: American Phytopathological Society. 1996, 202 p
- Bertsch, Floria,. La fertilidad de los suelos y su manejo. Asociación Costarricense de la Ciencia del suelo. 1998, 157 p.
- Blanco, A. y Salas, A. Micorrizas en la Agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. 1997, 21(1):55-67.
- Biee, K. y Anderson, A. Defense related tianscript acumulation in *Phaseolus vulgaris*, c 1, colonized by the arbuscular mychorrizal fungus *Glomus in trara dices*. *Plant Physiology*, 1996, (110):675-688
- Boelens, J. /et al/. The use of bioluminiscense as a reporter to study the adherence of the plant growth promoting rhizopseudomonas 7NSK2 and ANP15 to canola roots. *Can. J. Microbio]*. 1993, 39:329-334
- Bonfante-Fassolo, P y Perotto, S. Strategies of arbuscular mycorrhizal fungí when infecting host plants. *New Phytology*. 1995, 130:3-12
- Borges, Yenía. Contribución al estudio de la degradación de los suelos Ferralíticos Rojos Lixiviados por el cambio de uso de la tierra. Tesis de Diploma. UNAH. 2004, 67p.
- Borrego, F. Evaluación agronómica de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mil) en invernadero. *Agronomía Mesoamericana*. 2001, 12(1):49-56.
- Bradford, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of micro quantities of protein utilizing the principie of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976, 72:248-254
- Burdman, S.; Jurkevitch, E. y Okon, Y. Recent advances in the use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in agriculture. In: N.S. Subba Rao and Y.R. Dommergues (ed); *Microbial interactions in agriculture and forestry*. 2000, 2:229-250.
- Caballero-Mellado, .I. /et al/. *Azospiri/luin* inoculation and its agronomic aplication in Mexico. Fourth European Nitrogen Fixation Conference. Sevilla, Spain. 2002, 45 p.
- Calderón, J /et al/. La biofertilización en el manejo de la nutrición vegetal en el agroecosistemas de Sabaneta; un estudio de caso. V y Taller de Biofertilización en los trópicos (5, 12:2000) p107. XII Seminario Científico del INCA. Programa y Resúmenes. La Habana. 2000.
- Canellas, L. /et al/, Humic acids isoleted from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence and plasma membrane H-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiology*. 2002, 130:1951-1957
- Cardenal, L. Agricultura ecológica: conceptos, situación y perspectivas en.Nicaragua. SIMAS. 1994,44p.
- Casanova, A. Influencia del cultivar, el área nutritiva, la fecha de siembra y el plazo de cosecha "de una vez" sobre las manifestaciones vegetativas y reproductivas del tomate cultivado

- en las condiciones de Cuba. Tesis de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto "Maritza", Bulgaria. 1982, 203 p.
- Céspedes, C. y Carvajal, P. Agricultura orgánica. Ministerio de la Agricultura. INIA. 1999, 192p.
- CIAT. Centro Internacional de Agricultura Tropical. 1993, 12(2).
- Col], F. Comunicación personal. 2003.
- Conway, G. y Barbier, E. After the Breen revolution: sustainable agriculture for development. Esrth an Publications, London. 1996, 71 p.
- Cuartero, J. Tomate para consumo fresco. En: La Horticultura Española. Ed. De horticultura, J.L. Mundi-Prensa. Libros, S.A Sociedad Española de Ciencias Hortícolas, SECH.2001,491 p.
- Cuba, MINAGRI. Instructivo Técnico para semillero de tomate. Folleto. 1984, 48 p.
- Cuba. MINAGRI. Instructivo técnico del cultivo del maíz.. La Habana. Cuba. 1984, 51 p.
- Cuba, MINAGRI. IV Seminario Nacional de metodología de la señalización y pronóstico. IISV. La Habana, Cuba. 1987.
- Cuba. MINAGRI. Listado oficial de precios. Dirección Nacional de Cultivos Varios. Hortalizas. 2001.
- Cuervo, J. y Rivas-Platero, G. Biota rizosférica: un recurso para promover el crecimiento y la protección de las plantas. Manejo integrado de plagas. Hoja técnica. 1997, 21:1-4
- Cuevas, F. Evaluación agronómica de la nutrición mineral con NPK la aplicación de biopreparados en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mil]) en un suelo Hidromórfico Gley nodular ferruginoso. Tesis de Maestría. INCA. La Habana. 1998.
- Chen, Y. Organic matter reactions involving micronutrients in soil and their effect on plant. In: Humic substances in terrestrial ecosystems. Piccolo, A. (Eds.) Elsevier, Amsterdam. 1996,507-530 p.
- Churikova, V. y Dereushchukov, S. Registration trials of growth regulator "Epin" on tomato and cucumber. Technical report of Voronezh State University. 1997, 48 p.
- Darwich, N. Manual de fertilidad de suelos y uso de fertilizantes. Ed. Talleres Gráfica Armedenho. 1998, 182 p.
- De Liñan, V. Vademécum de productos fitosanitarios y nutricionales. Ediciones Agrotécnicas S.L. Madrid, España. 2000, 655 p
- De Prado, J. Tipos y especificaciones de calidad en el cultivo del tomate. Vida Rural. 2002, No. 148.
- De Selincourt, Kate. Agricultura orgánica. The Ecologist. 1996, (6): 271-272 p.
- De Vecchi, S. Guía completa del horticultor moderno. Colección Agricultura y Horticultura. 2001,48p.
- Deckers, J /et al/. World Reference Base for Soil Resources. Introduction. iSSS/ISRIC/FAO. Acco, Leuven/Amersfoort, Belgium. 1998, 165 p.

- Dibut, B. Obtención de un bioestimulador del crecimiento y el rendimiento para el beneficio de la cebolla (*Alium cepa*, L). Tesis presentada en opción al grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. La Habana. 2000.
- Dodd, J. /et al/. Inter and intraespecific variations within the morphologically-similar arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus mosseae* and *Glomus coronatum*. New Phytologist. 1996, 133:113-122.
- Domini, María E. Nueva estructura varietal del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) para diferentes períodos de siembra: Tesis presentada en opción al título de Master en Ciencias Agrícolas. UNAH. La Habana. 1996.
- Dommelen, A. Ammonium transports in *Azospirillum brasilense*. Dissertationes de Agricultura. 1998, 1:1-9.
- EMISON. El reciclado. *Medioambiental*. 2000, No. 65
- EMISON. Vermicompostaje. La fuerza de un nombre. 2001.
- Fallik, E. /et al/. Morphology and physiology of plant roots associated with *Azospirillum* in wheat. En: *Azospirillum* plant association. Okon, Y (Ed). Boca Raton: CRC Press. 1994,.77-85 p.
- FAO. Los fertilizantes y su empleo. Gula de bolsillo para los extensionistas. 3^{ra} Edición. Roma. 1980,54p
- FAO. Producción, poscosecha, procesamiento y comercialización de ajo, cebolla y tomate. 1992, 413 p.
- FAO. Los nutrientes vegetales. Agricultura 21. 1998.
- FAO. La Agricultura Orgánica. Informe presentado ante el Comité de Agricultura de la FAO (COAG), Roma. Italia. 1999.
- FAO. Los mercados mundiales de frutas y verduras orgánicas. Oportunidades para los países en desarrollo en cuanto a la producción y exportación de productos orgánicos. 2001, 334 p
- Fernández, A.; Batista, S. y Moisés, L.. Respuesta al empleo de un nuevo análogo de los brasinoesteroides en el cultivo del tomate y pimiento. AGROTROP-2002. Resúmenes. Universidad Agraria de La Habana. 2002.
- Fernández, F. /et al/. Producto inoculante micorrizógeno. Oficina nacional de propiedad industrial. 2000, No. 22641.
- Fernández, Livia.; Baquéz, Y. y Garcés, N. Los alimentos ecológicos, una demanda de los turistas. Resúmenes AGROTROP'2002. La Habana, Cuba. 2002.
- Ferroj, N.; Barea, J. y Azcón-Aguilar, C. Aproximaciones moleculares al estudio de los procesos de transferencia de nutrientes en micorrizas arbusculares. XIII Reunión Nacional de la Sociedad Española de Fisiología Vegetal. 1999,19-22 p

- Frias, A. Evaluación de diferentes factores que influyen en la producción de metabolitos a partir de *Pseudomonas* fluorescentes para uso en el control biológico. Trabajo de Diploma. Universidad de La Habana. Cuba. 1997.
- Gabriel, K. The Biplot graphic display of matrices with the application to principal components analysis. *Biometrika*. 1971. 58(3):453-467.
- Garcés, N. /et al/. Biostan: nuevo producto bioestimulante de las plantas. ACC. Premio provincial del XII Forum de Ciencia y técnica. La Habana. 1999a.
- Garcés, N. Medidas para la producción, uso y conservación del vermicompost con vistas a su utilización como biofertilizante. Anuario. UNAH. La Habana. Cuba. 1999b.
- Garcés, N. Evaluación, obtención y propiedades de sustancias bioactivas naturales para el desarrollo de las plantas. Resúmenes del Simposio sobre biología de los suelos tropicales. Universidad de Caldas, Colombia. 2000.
- Garcés, N. /et al/. Efectos de los productos Biostan y Liplant sobre cultivares de tomate y pepino en casas de cultivos protegidos de Cuba. AGROTROP-2002. Resúmenes. Universidad Agraria de La Habana. 2002.
- Garcés, N. Impacto de la producción vegetal en la agricultura sostenible. Curso Internacional de posgrado. UNAH, La Habana, Cuba. 2003.
- García-Roche, M. Contenidos de nitratos en productos vegetales cubanos en relación con la ingestión de nitratos por la población. *Rev. Agroquímica y Tecnología de los alimentos*. 1996, 5(3):25-28
- Gianinazzi-Pearson, V. /et al/. Relation between the critical concentration of nitrogen phosphorus and potassium in 17 different vegetables crops and duration of growth. *J. Sci. Food. Agric*, 1982, 31(12):1343-1353
- Giller, K. y Cadish, G. Future benefits from biological nitrogen fixation: An ecological aproch to agriculture. *Plan and Soil*. 1995, 174:225
- Gómez, G. Protección vegetal en agricultura ecológica. Insecticidas de origen natural y protección integrada y ecológica en Agricultura. Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. Madrid. España. 1997.
- Gómez, Olimpia. /et al/. Mejora genética y manejo del cultivo del tomate para la producción en el Caribe. La Habana. 2000, 159 p.
- Gómez, R. /et al/. Principales resultados en la aplicación de biofertilizantes en cultivos de interés económico para Cuba utilizando la tecnología de recubrimiento de semillas. En: Programa y Resúmenes X Seminario Científico. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (11: 1996). La Habana. 1996.

- Gryndler, M. Interactions of arbuscular mycorrhizal fungi with other soil organisms. En: Kapulnik, Y and Dodds, D. (Eds). Arbuscular mycorrhizas Physiology and function. 2000, 239-262 p.
- Guerrero, E. /et al/. Perspectivas de manejo de la micorrización en ecosistemas naturales. En: Micorrizas recurso biológico del suelo. Cali, Colombia. 1996, 5-16 p
- Gull, G. /et al/. Quality of Florida fresh market tomato genotypes as affected by location of production. Proc. Flo. State. Hort. Soc. 1989, 97:140-142
- Gutiérrez, V. Nutrición mineral de las plantas: avances y aplicaciones. Agronomía Costarricense, 1997,21(1):127-137
- Hamdi, Y. La fijación del nitrógeno en la explotación de los suelos. Boletín de suelos de la FAO. 1985, No. 49. 188 p.
- Hernández, A. /et al/. Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba: Ministerio de la Agricultura. La Habana. 1999, 23 p
- Hernández, Annia. Obtención de un biopreparado a partir de rizobacterias asociadas al cultivo del maíz (*Zea mays* L). Tesis presentada en opción al grado de Dr. En Ciencias Biológicas. Universidad de La Habana. 2002.
- Hernández, G. Zonificación de las necesidades de agua para el cultivo del tomate en Cuba. Tesis de Maestría. La Habana. 1998, 65 p.
- Hernández, G. y Torres, A. Efectos del Biostan sobre la productividad biológica y agronómica en *Phaseolus vulgaris* L de grano negro var criollo en condiciones de producción. AGROTROP-2002. Resúmenes. Universidad Agraria de La Habana. 2002.
- Hernández, María 1. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas como complemento de la nutrición mineral del tomate (*Lycopersicon esculenum* Mill). Tesis de Maestría. INCA, La Habana. 2000.
- Hernández, María .1. /et al/. Las micorrizas arbusculares y las bacterias rizosféricas en cepellones de tomate. En: IV Encuentro de Agricultura Orgánica. Programa y Resúmenes. La Habana. 2001, 192 p.
- Hernández, Yolanda.; García, O. y Ramori, M. Biofertilizantes, estado actual y estrategia de uso de sus factores microbiológicos. Revisión bibliográfica. ICA. La Habana. 1999.
- Herrera, R. /et al/. Estrategia de funcionamiento de las micorrizas (VA) en un bosque tropical. Biodiversidad en Iberoamérica: Ecosistemas, Evaluación y Procesos sociales. (Eds. Maxima Monasterio). Programa Iberoamericano de Ciencia y tecnología para el desarrollo. Su programa XII Diversidad biológica. Mérida. 1995.
- Ho, L. Tomato photo assimilate distribution in plants and crops. Source-sink relationship. Marcel Dekker, Inc. 1996.

- Hooker, J. /et al/. Biocontrol of plant pathogens using arbuscular mycorrhizal fungi. In: S. Gianinazzi and H. Schuep (Editors). Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and natural Ecosystems. ALS, Birkhauser, Basel. 1994, 191-200 p.
- Huelva, R. /et al/. Efectos del metanol y los bioestimulantes vegetales Liplant (Humus líquido) y Biostan sobre indicadores anatomorfológicos - bioquímicos y productivos en los cultivos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L) y el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). AGROTROP'2002. Resúmenes. La Habana. Cuba. 2002.
- Huerres, Consuelo; Caraballo, Nelia. Hortalizas. Dpto. Ediciones ISCAH. 1991. 165 p
- Iglesias, María C. /et al/. Utilización de inoculante mixto en trigo. Universidad nacional del Nordeste. Comunicaciones científicas y Tecnológicas. Argentina. 2000.
- INCA (Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas). Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos: La Habana. 1999.
- INCA (Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas). Listado oficial de precios de los biofertilizantes. 2000.
- INCUPO. Los huertos orgánicos y educación del consumidor. Hoja a hoja del MAELA. 1996, Año 6(10).
- IIHLD. Instituto de Investigaciones Hortícolas Liliana Dimitorva. Informe y presentación al Polo Científico del oeste. 2000. Situación de la producción de tomate y pimiento. Proyección y demandas tecnológicas. La Habana. 2000.
- Johnston, A. Food security in the WANA region, the essential need for balanced fertilization. Bornova, Izmir. Turkey. 1997, 11-29 p.
- Kalbhone, M. (1985). A non-conventional method of support for tomato plants (*Lycopersicon esculentum*). *Acta Horticultural*. 153:123-126.
- Kapulnick, Y. y Douds, D. Arbuscular mycorrhizas: physiology and function. Kluwer Academic Publishers. 2000, 371p
- Khripach, V. /et al/. Brassinosteroids a new class of hormones. 2001.
- Kloeper, J. /et al/ Multiple disease protection by rhizobacteria that induce Systemic Resistance Historical precedence. *Phytopathology*. 1992, (10):1197-1223
- Kolmans, E. y Vázquez, D. Manual de Agricultura Ecológica. Una introducción a los principios básicos y su aplicación. Grupo de Agricultura Orgánica y Asociación de Técnicos Agrícolas y Forestales (ACTAF). Holguín, Cuba. 1999, 319 p.
- León, A. Evaluación de fluctuaciones poblacionales e índices ecológicos de insectos nocivos y beneficiosos en tres variedades de tomate asociadas con maíz. Tesis presentada en opción al título de Master en Producción Vegetal. UNAH, La Habana. 1999.
- Leyva, A. La producción ecológica en la Agricultura sostenible. IV Simposio de Agricultura Sostenible. En: XII Seminario Científico del INCA. La Habana. 2000.

- Leyva, A. /et al/. La asociación de cultivos en la agricultura sostenible. Trabajo presentado para el XII Forum de Ciencia y Técnica. La Habana. 2002.
- Marschener, H. /et al/. Effects of mineral nutritional status on shoot-root partitioning of photo-assimilates and cycling of mineral nutrients. J. Exp. Botany. 1996. 47:1255-1263.
- Martínez, R. El uso de biofertilizantes. Curso de Agricultura Orgánica. ICA. La Habana. 1994.
- Martínez, R. /et al/. Acción estimuladora de *Azotobacter chroococcum* sobre los cultivos de tomate y cebolla en suelos Ferralíticos Rojos. INIFAT. La Habana. 1998, 6 p.
- Martínez, R. Efectividad de biopreparados a base de *Azotobacter chroococcum* en la Agricultura Orgánica. En: Encuentro de Agricultura Orgánica (6:2001). La Habana. 2001.
- Martínez, R. /et al/. Biofertilización y producción agrícola sostenible. Retos y perspectivas. XIII Congreso Científico del INCA. Programa y Resúmenes. La Habana. 2002.
- Mauchoré, M. /et al/. Salicylic acid biosynthetic genes expressed in *Pseudomonas fluorescens* strain P3 improve the induction of systemic resistance in tobacco against tobacco necrosis virus. *Phytopathology*. 1998, (88):678-684
- Medina, N. y Pino, María de los A. Estudio de selección de cepas de HMA y RPCV en el cultivo del tomate. Trabajo presentado al Forum de Ciencia y Técnica. INCA, La Habana. 1992.
- Medina, N. /et al/. Uso y manejo de micorrizas arbusculares y rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en los principales cultivos de interés económico para Cuba. Informe final de proyecto 00200106. INCA, La Habana. 1999, 57 p.
- Megist, F. y Singh, N. Effects of biofertilizers on growth, yield and nutrient uptake of onion (*Allium cepa* L). *Vegetable Science*. 1999, 26(2):193-195.
- Mejías, G. Agricultura para la vida: Movimientos alternativos frente a la agricultura química. Feriva, Cali, Colombia. 1995, 252 p.
- Miller, R. y Jastrow, J. Mycorrhizal fungi influence soil structure. En: Y. Kapulnick and Douds (Eds). Arbuscular mycorrhizas: physiology and function. Kluwer Academic Press. 2000, 318 p
- Minerdi, D. /et al/. Nitrogen fixation genes in an Endosymbiotic Burkholderia strain. *Applied and Environmental Microbiology*. 2001, 67(2):725-732
- Mirabai, L. /et al/. Influencia de bacterias endospóricas de *Glomus claruni* en la germinación de semillas de arroz (*Oryza sativa* L). *Rev. Terra* (en prensa). 2003.
- Molla, A. /et al/. Potential for enhancement of root growth and nodulation of soybean co-inoculated with *Azospirillum* and *Bradyrhizobium* in laboratory system. *Soil Bio. And Bioch.* 2001, 33(4-5):457-463
- Morales, M. y Pozo, R. Aspectos bioquímicos de la resistencia a enfermedades. *Boletín de reseñas. Protección de plantas*. 1985, (9): 75 p.

- Morton, J. y Redecker, D. Two new families of *Glomales*: *Anchoespora* y *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia*, 2001, 93(1):181-185.
- Nardi, S. /et al/. A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings. *Soil Biol. and Biochem.* 2000, 32(3):415-419.
- Noa, M. /et al/. Determinación de nitratos y nitritos en material vegetal y suelos. *Protección Vegetal*. 1990, 5:72-75
- Nordlund, D. /et al/. Antropod populations, yield and damage in monoculture and polycultures of corn beans and tomato. *Agriculture, Ecosystems and Environments*. 1984, 11:4.
- Nuez, F. El cultivo del tomate. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, Barcelona-Mexico. 1995, 793 p.
- Núñez, Miriam. /et al/. Influencia del análogo de brasinoesteroide Biobras-6 en el rendimiento de plantas de tomate cultivar INCA- 17. *Cultivos Tropicales*, 1995, 16(3):49-52
- Núñez, Miriam. Los brasinoesteroides y su actividad biológica. Folleto. 1996, 35 p.
- Núñez, Miriam. /et al/. Efecto de tratamientos con brasinoesteroides sobre las relaciones hídricas y el crecimiento de las plantas de tomate bajo estrés hídrico. En: *Simposium Hispano - Portugués. Relaciones hídricas en plantas. Actas*. Murcia. 1998, 206-209 p
- Núñez, Miriam. /et al/. Análogo de brasinoesteroides como biorreguladores en la agricultura. Informe final de proyecto. INCA, La Habana. 2000.
- Núñez, Miriam. y Robaina, C. Brasinoesteroides: Nuevos reguladores del crecimiento vegetal con amplias perspectivas para la Agricultura. Instituto agronómico (IAC). Campinas, SP. 2000, No. 68. 83 p.
- Odum, E. Principios y conceptos relativos a la organización a nivel de la comunidad. *Ecología*, 3ra Ed. Nueva Editorial Interamericana. México. 1999, 154-175 p.
- Ojeda, L. Efectos de micorrizas vesículo arbusculares del género *Glomus* en la producción de leguminosas forrajeras promisorias de la cuenca pecuaria "El tablón". Trabajo de Diploma. Villa Clara. Cuba. 1998.
- ONE. Oficina Nacional de Estadísticas. 2002.
- Owen, A. y Jones, D. Competition for amino acids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition. *Soil Biology and Biochemistry*. 2001, 33(4-5):651-657.
- Parra, Yanet. y Cuevas, F. Potencialidades de *Azospirillum* como inoculante para la agricultura. *Cultivos Tropicales*. 2002, 23(3):31-41.
- Pazos, Mabel, Aislamiento e identificación de cepas nativas pertenecientes al género *Azospirillum* mediante técnicas moleculares. Tesis de Maestría. Universidad de Biología. La Habana. 2000.

- Pennickx, I. Analisis of the signal trasduction path way leading to pathogen-induced activation os a plant defesin gene in *Arabidoposis thailiana*. Katholicke Universiteitt Leuven. 1998, p 1-46
- Pérez, E. /et al/. Dinámica de inducción de algunos sistemas de defensa en la interacción HMA - tomate (*Lycopersicon esculentum* Mil]) var. Amalia. 1. Inducción de Pr2, Pr3 y fenilalanina amonio liasa en raíces de tomate de la var. Amalia. Cultivos Tropicales. 2003, 25(2):37-44.
- Pérez, Nilda. Agricultura Orgánica: bases para el manejo ecológico de plagas. 2003.
- Perotti, E. y Pidello, A. Effect of *Azospirillum brasilense* inoculation on urease activity in soil and gamma sterilized soil. Revista Argentina de microbiología. 1999, 31(1):41-45
- Pino, María de los A. Modificación de la productividad del cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) fuera del período óptimo, utilizando al maíz como sombra natural. Tesis presentada en opción al grado científico de Dr. en Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba. 2001.
- Plana., R. /et aV. Efecto agronómico de la biofertilización con dos rizobacterias en la producción de trigo (*Triticum aestivum* [.,) en Cuba. Cultivos Tropicales. 1999, 24(4):5-9.
- Price, P. Relevance of ecological concepts to practical biological control. In: Biological control in crop production. Ed. Belstville Symposium in Agricultura) Research, USDA. 1999, 242 p
- Pulido, L. Hongos micorrízicos arbusculares y rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: alternativas para la producción de posturas de tomate (*Lycopersieon esculentum* Mill) y cebolla (*Allium cepa*, L). Tesis presentada en opción la grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. INCA, La Habana. 2002.
- Ramírez, R. Biofertilización del tomate en las condiciones edafoclimáticas de suelos Pardos Mullidos sin carbonato de la provincia de Holguín. Tesis de Maestría. INCA, La Habana. 2001.
- Ratti, N. y Janadhanan, K. Response of dual and inoculation with VAM (vesicualr arbuscular mycorrhizae) and *Azospirillum* on the yield and oil content of palmarosa (*Cynohopogon martinii* var motia). Microbiological research. 1996, 151(13):325-328.
- Restrepo, J. Teoría de la trofobiosis: plantas enfermas por el uso de agrotóxicos. Cali, Colombia. 1994.
- Rivas-Platero, G. y Cuervo, J. Interacción de hongos endomicorrízicos con Meloidogyne exigua en café. Manejo integrado de plagas. 1998, 49:68-72
- Rivera, R. Disponibilidad de nutrientes y fertilización de los sistemas agrícolas micorrizados: resultados en la producción de las posturas de cafeto y de raíces y tubérculos. En: Seminario Científico, INCA (12:2000). La Habana. 2000.

- Rivera, R. /et al/. **El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe.** 2003, 166 p
- Rodriguez, C. **Plaguicidas, efectos crónicos, necesidad y posibilidades de limitar su uso. Proyecto "Promoción de la Seguridad y salud del trabajo en la Agricultura en América Central.** 2000,22p.
- Rodriguez, C. /et al/. **Influencia de la inoculación con *Azospirillum brasilense* en trigo cultivado en suelos de la provincia de la Pampa, Argentina.** *Ciencia del suelo*. 2000, 14:110-112.
- Rodriguez, M. y Paniagua, G.. **Horticultura orgánica: una guía basada en la experiencia en Laguna de Alfaro Ruiz.** Costa Rica. Serie. 1997, l(2):76
- Rodriguez, R. **Agricultura orgánica: arroz sin agroquímicos.** *Boletín informativo* . 1999, 14 p.
- Romera, María del Pilar. **Agricultura ecológica.** Consultado [17 de Septiembre 2002].Disponible en [http://w.w.w.infoagro.com/agricultura-ecologica/agricultura _ecologica.asp](http://w.w.w.infoagro.com/agricultura-ecologica/agricultura_ecologica.asp) 2001.
- Romero-Lima, M. /et al/. **Producción de papa y biomasa microbiana en suelo con abonos orgánicos y minerales.** *Agrociencia*. 2000,34(3):261-269.
- Rosset, P. **Two steps backward one step forward: Cuba's nationwide experiment with organic agriculture.** Global Exchange, San Francisco. 1993.
- Ruiz, L. **Efectividad de las asociaciones micorrízicas en especies vegetales de raíces y tubérculos en suelos Pardos y Ferralíticos Rojos de la región central de Cuba.** Tesis presentada en opción la grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas . INCA, La Habana. 2001.
- Ruiz, S. **Tipos y especificaciones de calidad en el cultivo del tomate.** *Vida Rural*. 2002, No. 148.
- Sainz, H. /et al/. **Biotransformación y valorización agrícola de subproductos del olivar-orujos secos y extractos mediante vermicompostaje.** *Edaf. logía*. 2000 , (7):103-111.
- Sam, Ofelia. **La floración-fructificación de plantas de cinco variedades de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) sembradas en dos épocas de siembra.** *Cultivos Tropicales*, 1993, 14(2-3):64-70.
- Sánchez, E.. **Uso y manejo de los hongos micorrizógenos arbusculares y los abonos verdes en la producción de posturas de cafeto (*Coffea arabica* L) en tres tipos de suelos representativos del macizo Guamuhaya.** Tesis presentada en opción la grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. INCA, La Habana. 2001
- Savelieva, E. /et al/. **Effcet of "Epin" on the crop and disease resistance of tomato in greenhouse.** Tecnical report of Gomel agricultural station. Belarus . 1997, 52 p.
- Schreiner, P. y Jastrow, J. **The role of mycorrhizal fungi in soil conservation.** En: *Mycorrhizae in sustainable agricultute.* ASA Special publication . 1995, 29-44p
- Schloter, M. y Hatmann, A. **Endophytic and surface colonization of weat roots (*Triticum aestivum*) by different *Azospirillum brasilense* strains studied with strain-specific monoclonal antibodies.** *Symbiosis*. 1998. 25(1-3):159-179.

- Schroth, M. y Hancock, J. Selected topics in biological control. Annual Rev. Microbiology, 1981, 34:453-476.
- Soil Survey Staff Soil Taxonomy. USDA. 1999, 890p.
- Solano, F. Guía de experiencias en tecnología apropiada agropecuaria de Costa Rica. San José , Costa Rica. 2000, 144 p
- Soroa, María R. Producción alternativa de *Gerbera jamesonii* para una floricultura urbana. Tesis de Maestría. UNAH, La Habana. 2000.
- SQM. Líneas de fertilizantes especializados "Champion". Fundamentos básicos de nutrición vegetal aplicados a la producción de hortalizas: Tomate. México. 1999, 14 p.
- Steel, R. y Torrie. I. Bioestadística: principios y procedimientos. Mc. Graw I-lill. Interamericana. México, S.A. 1988, 740 p
- Taiz, L. y Zeiger, E. Plant Physiology. Ed. Sinauer associates, inc. Publisher. Suderland, Massachusetts. 1998, 792 p
- Terry, M. El agua en la agricultura. Agricultura de las Américas. 1998, 47(1):24-27.
- Toledo, Y. /et al/. Determinación del efecto antagónico de un biopreparado a partir de una cepa de *Burkholderia cepacia* ante *Fusarium sp* en el cultivo del gladiolo (*Gladiolos sp*). Cultivos Tropicales. 2002,23(4):11-15.
- Treto, Eolia. /et al/. Avances en el manejo de los suelos y la nutrición orgánica. En: Transformando el campo cubano. Avances de la Agricultura Sostenible. 2001,167-190 p.
- Triado, H. Los cultivos múltiples ayudan a incrementar los ingresos. FONIAP. 1999, 1(7):32-33.
- Trouvelot, A. /et al/. Mesure du Taux de Mycorrhization VA d'un Systeme Radiculaire. Recherche de Methodes d'Estimation ayant une Signification Fonctionnelle. Proceedings of the 151 European Symposium on Mycorrhizae; Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. Dijón. 1-5 July. INRA, Paris. 1986, 217-222 p
- Hozan, S. y Kloeper, J. Potential application of plant growth promoting rhizobacteria to induce systemic disease resistance. In: Novel Approches to integrate a pest management. CRC Press Inc. 1995, 115 p.
- Van, Anne. Ammonium transport in *Azospirillum brasilense*. Revista Disertaciones de Agricultura. 1998.
- Vandermeer, J. Los policultivos. La teoría y evidencia de su factibilidad. Department of Biology. University of Michigan, Ann. Arbor, Michigan, EUA. 1995, 250 p
- Vandermeer, J. y Perfecto, I. La biodiversidad y el control de plagas en sistemas agroforestales. *Manejo integrado de plagas*. 2002, 55:1-15.
- Vega, E. /et al/. Micorrizas y rizobacterias: vía alternativa para la producción de cebolla. En: Taller de biofertilización en los trópicos. Seminario Científico del INCA. Programa y resúmenes (5, 12: 2000). La Habana. 2000.

- Velazco, Ana. Utilización de *Azospirillum brasilense* en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L) sobre un suelo Hidromórfico Gley de la provincia de Pinar del Río. Tesis presentada en opción al grado científico de Dr. En Ciencias agrícolas. INCA. La Habana. 2001.
- Viñals, Mabel. y Villar, J. Avances en la formulación y aplicación de inoculantes bacterianos de uso agrícola. Cultivos Tropicales. 1999. 20(4):9-17.
- Welch, R. Micronutrient nutrition of plant. Crit. Rev. Plant. Sci. 1995, 14:49-82.
- Wilentz, R. /et al/. Effects of 24-epibrassinolide on rooting and thermotolerance of bioregrass (*Bromus inermis*) cell cultures. Physiologia Plantarum. 1995, 5:195-200
- Yakota, T. The structure, biosynthesis and function of brassinosteroids. Trends Plant Sci.. 1997, 2(4):137-143.

Anexo 1. Caracterización químico - física del área experimental.

Horizonte	Profundidad (cm)	pH (H ₂ O)	M.O. (%)	Cationes cambiabiles (cmol.kg ⁻¹)				
				Calcio	Magnesio	Sodio	Potasio	Suma
			Perfil 4					
A11p	0-12	7,5	1,61	16,0	2,0	0,1	0,5	18,6
B11t	12-22	7,4	1,67	17,5	2,5	0,1	0,5	20,6

Profundidad. (cm).	%Tamaño de las fracciones en mm				<0,002 mm en microag.	Coeficiente. de dispersión
	2,0-0,2	0,2-0,02	0,02-0,01	0,01-0,002		
			Perfil 4			
0-12	4,24	6,0	13,0	10,0	66,76	53,57
12-22	2,40	5,0	4,0	7,0	81,76	20,50

Profundidad. (cm).	Humedad (%)	Densidad aparente. (mg/m ³)	Densidad real. (mg/m ³)	Porosidad total (%)
		Perfil 4		
0-12	33,3	0,89	2,80	68,2
12-22	34,5	1,01	2,80	63,9

Horizonte	Profundidad (cm.)	Descripción
A _{11p}	0-12	Color 10R3/4 rojo opaco, arcilloso, sin estructura, suelto, ligeramente húmedo, muy poroso, algunas gravitas de color oscuro, pedazos de raicillas, reacción al HCl, transición gradual.
A _{12p}	12-22	Arcilloso, sin estructura, friable, ligeramente húmedo, muy poroso, con algunas gravitas de color oscuro, sin reacción al HCl y transición neta.

Anexo 3. Composición del producto 'Biostan' (Garcés, 2000).

Composición del Biostan		Concentración (mg/g)
Fracción Hormonal	Auxinas	1-10
	Giberelinas	1-10
	Citoquininas	0,5-1
Fracción Inorgánica	B	0.050 - 0.090
	Si	0.600 - 1.000
	Cr	0.045 - 0.085
	Mn	0.050 - 0.090
	Co	0.001 - 0.008
	Ni	0.005 - 0.014
	Zn	0.180 - 0.350
	Sr	0.040 - 0.085
	Na	35 -55
	K	200-350
	Ca	0.160 - 35.0
	Mg	0.100-25
	Fe	0.40 - 0.70
	P	30 - 60
Fracción Proteica	Proteínas solubles	1000.0 - 200.0 µ/g
Fracción Húmica		20 y 40% de la fracción orgánica total

Anexo 4. Influencia en la incidencia de *A. solani*.

PERÍODO ÓPTIMO (SISTEMA DE MONOCULTIVO)		
Tratamientos	1ra evaluación (2002)	
	Grado de incidencia	% infección
Testigo Absoluto	4 ^o	40 a
Variante Convencional	3 ^o	20 b
Variante orgánica	3 ^o	17 b
ESx	----	0.18**
2da evaluación		
Testigo Absoluto	3 ^o	25 a
Variante Convencional	2 ^o	10 b
Variante Ecológica	2 ^o	8 c
ESx	----	0.16**

ANEXO 2

Catorce elementos minerales, un adecuado contenido en ácidos húmicos de baja a media masa molar y al menos tres familias de fitohormonas: Citoquininas, Auxinas y Giberelinas, constituyen la fórmula del **BIOSTAN**, el nuevo bioestimulante vegetal de carácter orgánico, obtenido por investigadores del Grupo de materia orgánica y biofertilizantes de la UNAH.

Su eficiencia estimuladora sobre la productividad agrícola ha sido demostrada en diversos cultivos:

- Hortalizas:
- Granos
- Floricultura
- Tabaco (Cepellones)
- Vitroplantas

BIOSTAN Se suministra en fase sólida, es estable, fácilmente soluble en agua, aplicable a las semillas, raíces de plantas al momento del trasplante, foliamente y puede ser pelletizado junto a otros componentes.

BIOSTAN Es un producto que al actuar sobre las plantas las hace crecer más, con más vigor, asegurando mayor floración y fructificación.

MAS EFICIENCIA,
PRODUCTIVIDAD Y
RENTABILIDAD

DE SUS CULTIVOS. MODO DE
APLICACION SENCILLO.
SIMPLEMENTE **BIOSTAN** Y A
ESPERAR LOS RESULTADOS.

BIOSTAN

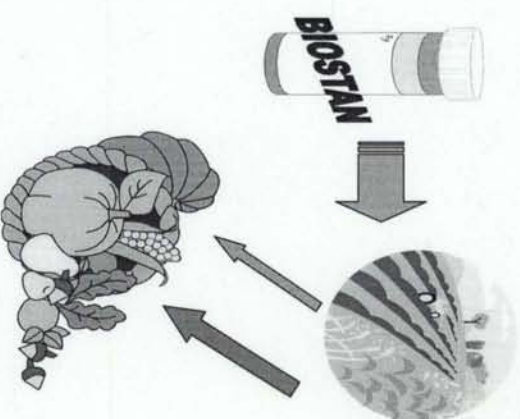
**! Nuevo bioestimulante para la
Agricultura Sostenible !**

Dr. Nelson Garcés Pérez
Depto. de Química
Universidad Agraria de la Habana
Apartado 19-18. San José de las Lajas,
La Habana, Cuba.
Teléfono : 53-64-63013
Fax : 53-7-240942
Email: nelsong@isch.edu.cu

UNIVERSIDAD AGRARIA DE LA
HABANA

®

BIOSTAN



Presentación

Biostan se oferta en frascos de 1, 5, 10, 50 y 100 gramos.

Modo de preparación del BIOSTAN.

Preparar una disolución de concentración 1g/L, disolviendo un gramo del producto por litro de agua (solución madre).

Aplicar de acuerdo con las especificaciones del cultivo (diluir el volumen necesario en la cantidad de agua requerida para conseguir la dosis por hectárea).

Por ejemplo para dosis de 150 L/ha a concentración de 6 mg/L, diluir 900 mL de solución madre en un volumen de 150 L de agua, luego aplicar.

Ud. puede también pesar directamente la cantidad de Biostan que necesita, diluir en un volumen adecuado y luego incorporarlo al volumen total de agua que necesita.

Producto fabricado por UNAH, San José de las Lajas, La Habana. CUBA

Cultivos	Aplicación D.D.S.	Concentración mg / L	Dosis L / ha
Tomate (semillas)	Embeber 1 h	2 a 4	2 L / kg
Tomate (semillero)	5, foliar	4	50
Tomate (plantas)	2 y 20, foliar	4 a 6	150
Cebolla (semillas)	Embeber 24 h	10	2 L / kg
Cebolla (semillero)	5, foliar	2 a 4	50 a 80
Cebolla (plantas)	5 y 30, foliar	6 a 10	150
Pepino (semillas)	Embeber 6 h	2 a 4	2 L / kg
Pepino (plantas)	15, foliar	5 a 6	150
Ajo (dientes)	Embeber 12 h	4 a 6	2 L / kg
Ajo (plantas)	10	4	150
Ají y pimiento	5 y 30, foliar	6 a 8	150 a 200
Zanahoria (plantas)	10 y 35, foliar	6 a 8	100 a 150
Berenjena (plantas)	10 y 40, foliar	6 a 8	150 a 250
Frijol (semilla)	Embeber 24 h	4	2 L / kg
Frijol (plantas)	10, foliar	6 a 10	180
Soja (plantas)	20, foliar	8	200
Maíz (semillas)	Embeber 6 h	6	2 a 3 L / kg
Maíz (plantas)	20, foliar	8	200
Girasol (plantas)	15 a 20, foliar	6 a 8	150 a 180
Tabaco(germinación)	Embeber 48 h	2 a 4	1 a 2 L / kg
Tabaco (cepellón)	Flotar bandeja	4 a 6	necesario
Tabaco (plantas)	5 y 35	6 a 8	150 a 250
Vitroplantas:			
Plátano	Sustrato	3	-
Mora	Sustrato	3 a 4	-
Easter Lily	Sustrato	7 a 10	-
Flores:			
Gladiolos (bulbo y planta)	Embeber 24 h, 35d, 60d	4	100 a 200

D.D.S.--- Dias después de la siembra