

RESPUESTA DEL TOMATE (*Lycopersicon esculentum*) A LA INOCULACIÓN CON CEPAS NATIVAS DE AZOTOBACTER Spp EN EL C.I. MOTILONIA.

Ruth Bonilla Buitrago¹
Ana Malveris Galvis Macías²

RESUMEN.

La presente investigación se llevó a cabo en el centro de investigaciones motilonia (Codazzi, Cesar) con una altura de 160 m.s.n.m., temperatura media anual de 29°C, precipitación media anual de 1360 mm y humedad relativa del 68%. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de las cepas nativas aisladas de *Azotobacter Chroococcum* sobre el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum M*). Para la investigación se utilizaron 5 cepas de *Azotobacter* aisladas de suelos de la región, inoculando semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum M*) bajo un diseño de bloques al azar, seis tratamientos y 24 unidades experimentales, obteniendo resultados en disminución de días de germinación (3 respecto al testigo) con la posibilidad de acortar el período que transcurre entre la siembra y el transplante, mayor altura de planta, longitud radical, grosor del tallo, área foliar y peso seco, respecto a los testigos; es importante la disminución del 50% de la fertilización n i t r o g e n a d a .

Palabras Claves :

Bacterias asimbióticas, *Azobacter Chroococcum*, *Azobacter Vinelandii*, fertilización, inoculación.

ABSTRACT

This study was carried out at CORPOICA Research Center, Motilonia, in Codazzi, Cesar. This town is located at 160 meters above sea level, with a temperature of 29°C, with an average annual precipitation of 1360 mm and relative humidity of 68%. The objective of this work was to determine the effect of native strains of *Azotobacter chroococcum* on a tomato field (*Lycopersicon esculentum*). Five isolated Azobacters were used on the soil inoculating tomato seeds (*Lycopersicon esculentum M.*) under a desing of random blocks, six treatments and twenty four experimental units, were used the results were the following: Dcrease in germination period (3 days in comparison to the control sample) which allows to shorten the period between the sowing time and that for transplantations, the plants showed to be higher, radically longer, thicker in the stem, with larger foliar area and higher dry weighth than control samples; it was very revelant a decrease of 50% in nitrogen fertilizations.

Keywords:

Azotobacter Chroococcum, fertilization, inoculation, *Azotobacter Vinelandii*, *asimbiotic bacteria*.

¹ Bióloga Ph. D Investigación Agrícola, CORPOICA. Apartado Postal 021. Codazzi Cesar

² Ingeniera Agrónoma

INTRODUCCIÓN

Un aspecto que ha merecido especial atención en la nutrición vegetal ha sido el metabolismo del nitrógeno debido al papel que juega en el rendimiento de los cultivos agrícolas. Este elemento, muy abundante en la atmósfera es extremadamente estable y poco reactivo ; mediante complicados y costosos procesos industriales una mínima parte puede ser convertido en fertilizante.

En el caso de los fertilizantes sintéticos de alta solubilidad, en especial los nitrogenados, los precios en el mercado nacional los hace poco asequibles para los pequeños y medianos productores de bajos recursos económicos. Por ello en los últimos años se ha concedido gran importancia a la aplicación práctica de los resultados obtenidos en los estudios sobre los ciclos biológicos de los principales elementos, especialmente en lo concerniente al nitrógeno, cuyo valor bioedáfico se comprende, porque este elemento no solo constituye un factor vital para el desarrollo de las plantas, si no que interviene decisivamente en una serie de transformaciones orgánicas que se desarrollan en el suelo.

La fijación biológica de nitrógeno atmosférico se ha comparado con la fotosíntesis dada su importancia práctica y ecológica. Una parte considerable del nitrógeno en estado molecular es capaz de retornar al suelo en formas asimilables por las plantas; la clasificación establecida depende de los hábitos de vida de los microorganismos presentes en el suelo, como son la fijación simbiótica en plantas leguminosas y no leguminosas, fijación asimbiótica realizada por microorganismos de vida libre, y la fijación asociativa.

A mediados de siglo se comenzaron a vislumbrar las posibilidades en el uso y manejo de microorganismos a escala agrícola, mostrándolos como elementos claves para la biofertilización de los cultivos en el marco de una agricultura sostenible, reduciendo los problemas ocasionados por el uso indiscriminado de los fertilizantes nitrogenados (López and Hodges, 1986).

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar los efectos de la inoculación del cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum M.*) con cepas nativas de *Azotobacter spp* sobre su crecimiento y desarrollo.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Localización : El presente estudio se realizó en el Centro de Investigación Motilonia, localizado en el municipio de Agustín Codazzi (Cesar). La zona corresponde según la clasificación Holdridge, a la formación de bosque seco tropical (bs-T), ubicada a una altura de 160 m.s.n.m., con precipitación media anual de 1360 mm, temperatura media anual de 29 °C y humedad relativa media de 68 %.

Diseño Experimental : para la experimentación se utilizó un diseño de bloques al azar con seis (6) tratamientos (cepas aisladas de *Azotobacter spp*) y cuatro (4) repeticiones por tratamiento. Cada unidad experimental estuvo representada por una materia de 5 kg. de suelo. Las cinco cepas nativas de *Azotobacter spp* seleccionadas para realizar la investigación fueron las siguientes :

Azotobacter vinelandii, cepa N° 2,
Azotobacter chroococcum, cepa N° 6,
Azotobacter chroococcum, cepa N° 10,
Azotobacter chroococcum, cepa N° 13,
Azotobacter chroococcum, cepa N° 15.

Como planta indicadora fue utilizada la variedad Río grande de la especie tomate (*Lycopersicon esculentum*), la cual se sembró en un sustrato de suelo de textura arcillosa mejorado con la adición de materia orgánica (estiércol vacuno debidamente descompuesto y desinfectado), utilizando la metodología de Caicedo (1993).

Siembra : En cada matera se sembraron 5 semillas de tomate inoculadas con cepas seleccionadas por espacio de 3 minutos. A los quince días después de la emergencia la densidad de siembra fue ajustada a dos plantas por matera y fertilizadas con urea en una cantidad de 0.57 g/matera.

Aislamiento de *Azotobacter* : Para el aislamiento de las cepas de *Azotobacter* fue utilizada la técnica de los terrones en medio del cultivo Ashby, según Novo (1993), y Rey y Rivera (1994). La pureza de los cultivos fue verificada por pruebas macroscópicas y microscópicas mediante el método de estrías sucesivas (Novo, 1993).

La purificación bioquímica se realizó mediante el empleo de medio de cultivo, conteniendo como fuente de carbono el Benzoato de sodio (Cuenca y González, 1996).

Producción de Inoculo : Fue realizado mediante la metodología de Döberainer (1984), hasta obtener un título superior de 10^8 unidades formadoras de colonias por mililitro (U.F.C./ml), comprobado por el método de Breed modificado por Novo (1993).

Parámetros evaluados : Previa selección de las semillas, según metodología de Moreno y Bernal citados por Rey y Rivera (1994), se evaluó el tiempo de germinación. La información se registró diariamente a partir de la aparición de los hipocótilos.

Desde la germinación hasta la cosecha (60 días) se tomó cada quince días los siguientes parámetros: altura de planta, grosor del tallo; longitud de la raíz.

El área foliar fue determinada a los 60 días mediante el método del sacabocados. La producción de materia seca estimada según metodología de P-Manneede y Haydoca (1963). Para floración se tomó la información a partir de los primeros primordios florales durante 15 días.

La información obtenida fue analizada a través del análisis de varianza y las medias comparadas con la prueba de rango múltiple de Duncan a un nivel de 5% de probabilidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN .

Efecto sobre el tiempo de germinación : La emergencia en plantas de tomate se efectuó a los 4 días en semillas inoculadas con *Azotobacter spp*; entre tanto las plantas testigos presentaron una germinación más tardía (7 días) (tabla 1). Esta reducción en el tiempo de germinación, puede atribuirse al incremento en la producción de auxinas, citoquininas, vitaminas y aminoácidos (Novo, 1972; Dibut y Col. 1995; Cuenca y Gonzalez, 1996).

Tabla 1.

Efecto de la inoculación de semillas con cepas de *Azotobacter spp* sobre el tiempo de germinación de semillas de tomate (*L. esculentum*) a nivel de invernadero. C.I. Motilonia-Codazzi. 1998.

CEPAS	TIEMPO DE GERMINACIÓN (días)
<i>Azotobacter vinelandii</i>	4
<i>Azotobacter chroococcum</i>	4
<i>Azotobacter chroococcum</i>	4
<i>Azotobacter chroococcum</i>	4
<i>Azotobacter chroococcum</i>	4
Testigo	7

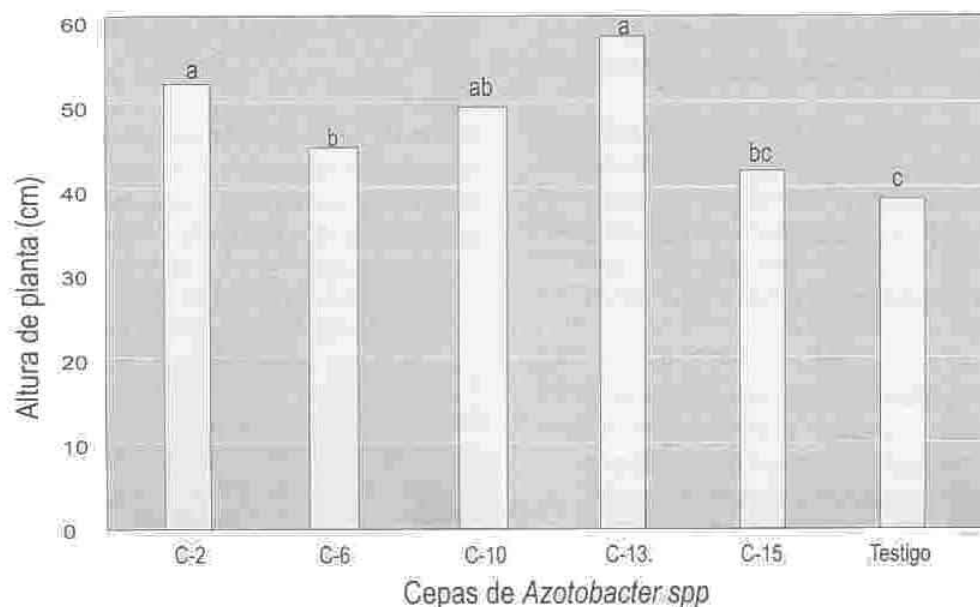
Resultados semejantes fueron encontrados en el cultivo del tomate por Martínez y Dibut (1994) y Rojas (1993); este último conceptúa que las giberelinas juegan un papel importante en la germinación de las semillas. Cuenca y González (1996), obtuvieron mayor eficiencia en el tiempo de germinación del repollo con relación al tomate y la cebolla en semillas inoculadas con *Azotobacter chroococcum*.

Efecto sobre la altura de la planta: Los resultados obtenidos en el experimento revelan un efecto de la inoculación con cepas de *Azotobacter spp* sobre la altura de las plantas (figura 1). Las plantas provenientes de semillas inoculadas con las cepas N°13 y N°2, alcanzaron las mayores alturas ($p < 0.05$), siendo los valores promedios de 57.00 y 52.75 cm, respectivamente; mientras que las inoculadas con la cepa N°15 presentaron un promedio de altura de planta similar ($P > 0.05$) al grupo testigo.

Similares resultados fueron encontrados por Martínez y Dibut (1994) en el cultivo del tomate; no obstante, están en desacuerdo con los encontrados por Cuenca y González (1996) donde plantas inoculadas con *Azotobacter Chroococcum* no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) respecto a la altura de la planta..

Efecto sobre el grosor del tallo: en los resultados se observa un efecto de la inoculación de la semilla con cepas de *Azotobacter spp* sobre el grosor del tallo (figura 2); la cepa N°2, alcanzó el mayor grosor del tallo ($p < 0.05$) con relación a los otros tratamientos experimentales; de otra parte, el grosor del tallo de plantas inoculadas con las cepas N°6, 10 y 13, fueron superiores ($p < 0.05$) a la cepa N°15 y a las plantas testigo.

Figura 1. Efecto de la inoculación de semillas con cepas de *Azotobacter spp* sobre la altura de la planta en el cultivo del tomate (*L. esculentun M*) C.I.Motilonia



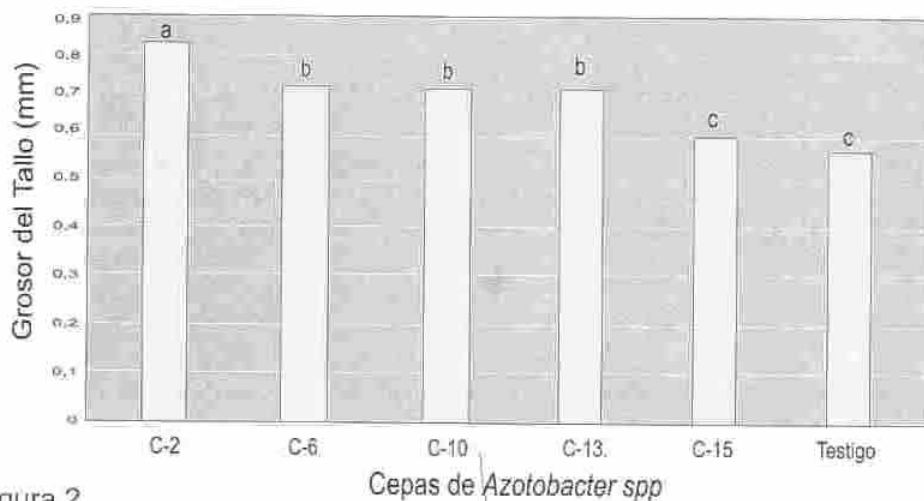


Figura 2.
Efecto de la inoculación de cepas de *Azotobacter* spp sobre el grosor del tallo en el cultivo del tomate (*L. esculentun* M) 60 D.D.E. C.I. Motilonia - Codazzi, 1998.

El promedio del grosor del tallo en plantas provenientes de semillas inoculadas con la cepa N°2 de *Azotobacter vinelandii* fue superior en 42,9 % con relación al grosor de las plantas del grupo testigo. Los anteriores resultados están de acuerdo con los obtenidos por Martínez y Dibut (1994), quienes usando este tipo de bacterias comprobaron su efectividad en el aumento del grosor del tallo en más del 40 % en plantas de tomate.

Efecto sobre la longitud radicular :

El promedio de longitud radicular obtenido en las plantas de tomate varió de 12 a 15 cm (figura 3). En este parámetro no se observó diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos experimentales. Estos resultados están en desacuerdo con los encontrados por Curtis y Barnes (1993); también Cuenca y González (1996) al inocular semillas de repollo, cebolla y tomate encontraron en éstas últimas mejores respuestas a la inoculación para la longitud radicular.

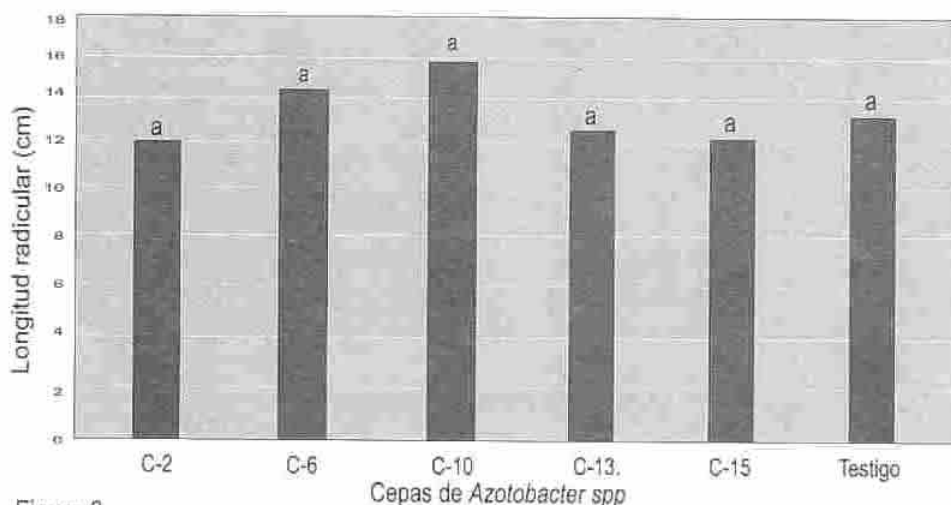


Figura 3.
Efecto de la inoculación de cepas de *Azotobacter* spp sobre la longitud radicular de las plantas en el cultivo del tomate (*L. esculentun* M), 60 D.D.E. C.I. Motilonia - Codazzi, 1998.

A pesar que en el análisis estadístico no se obtuvo diferencias significativas ($p > 0.05$), las plantas inoculadas con la cepa N° 10 de *Azotobacter chroococcum* presentaron un incremento radicular de 2.5 cm superior al grupo testigo y de 3.75 cm con relación a las plantas inoculadas con la cepa N° 2 de *Azotobacter vinelandii*.

El efecto sobre el crecimiento radicular puede atribuirse a la estimulación en la producción de auxinas y otras hormonas de crecimiento (Martínez, 1986); además hay que considerar que el crecimiento y la diferenciación celular transcurren paralelamente, en la diferenciación las células no sufren aumento en número ni tamaño, pero si se diferencian entre sí. Estos cambios no pueden ser medidos, pues son puramente cualitativos (Rojas, 1993).

Efecto sobre el peso seco : Los resultados revelan una influencia de los tratamientos experimentales sobre el peso seco obtenido en plantas de tomate (figura 4). Las plantas inoculadas con las cepas N° 2, 10 y 13 presentaron mayores ($p < 0.05$) promedios de peso seco con relación a las cepas N° 6, 15 y grupo testigo. El promedio de peso seco fue superior en 57.5, 64.4 y 48.3% en las plantas inoculadas con *Azotobacter vinelandii* N°2, *Azotobacter chroococcum* N°10 y *Azotobacter chroococcum* N°13, respectivamente, con relación a las plantas del grupo testigo. Similares resultados fueron encontrados por Martínez y Dibut (1994) en el cultivo del tomate, quienes obtuvieron incrementos en el peso seco del orden del 52%; respuesta similar fue obtenida por García y Col. (1995).

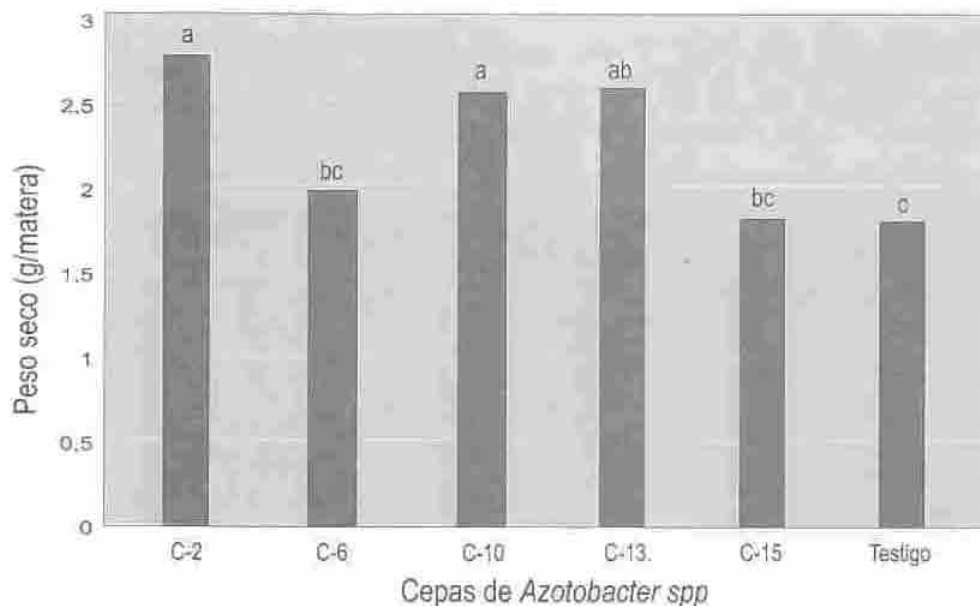


Figura 4. Efecto de la inoculación de cepas de *Azotobacter* spp sobre el peso seco de plantas en el cultivo del tomate (*L. esculentum* M), 60 D.D.E. C.I. Motilonia

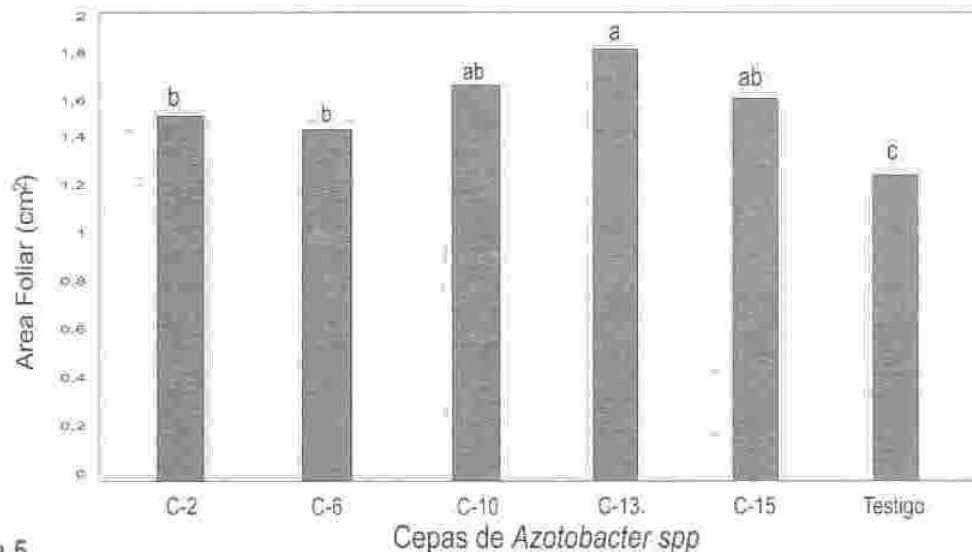


Figura 5. Efecto de la inoculación de semillas con cepas de *Azotobacter* spp sobre el área foliar de las plantas en el cultivo del tomate (*L. esculentum* M), 60 D.D.E. C.I. Motilonía - Codazzi, 1998.

Nieto y Frankenberger (1991), encontraron que *Azotobacter chroococcum* productor de citoquinina, incrementó el peso seco de raíces, tejidos de brotes y otros parámetros hasta cinco veces comparado con los testigos.

Efecto sobre el área foliar : El efecto de las cepas de *Azotobacter* spp sobre el promedio de área foliar en el cultivo del tomate a los 60 días después de emergido se presenta en la figura 5. Las cepas N° 13,10 y 15 presentaron los mayores ($p < 0.05$) valores de área foliar en comparación con el testigo.

Todas las plantas provenientes de semillas inoculadas presentaron mayores ($p < 0.05$) índices de área foliar, aspecto importante ya que le permite a las plantas tener una mayor captación de energía luminosa para procesos metabólicos como la fotosíntesis.

Efecto sobre la Floración : Los resultados de la floración muestran que las plantas inoculadas con la cepa N° 6 fueron las primeras en iniciar la floración y obtener los valores promedios más altos ($34,94 \text{ cm}^2$), además

se observó, que las plantas inoculadas con estas cepas fueron las primeras en presentar inicios de fructificación; estos resultados concuerdan con los obtenidos por Martínez y Dibut (1994) quienes comprobaron que el número de flores es mayor en campos tratados, al igual que la fructificación ocurre más temprano, garantizando con la inoculación de estas bacterias una reducción de los abortos florales y por lo tanto un incremento en la producción (tabla 2).

CONCLUSIONES

En las condiciones en que se realizó el presente estudio, los resultados obtenidos permiten deducir las siguientes conclusiones:

- Las semillas de tomate (*L. esculentum* M) inoculadas con cepas de *Azotobacter* spp aceleraron su tiempo de germinación.
- La inoculación de semillas de tomate influyó significativamente ($p < 0.05$) sobre la altura de las plantas, grosor del tallo, índice de área foliar y tiempo de floración (inicio de formación de primordios).

Tabla 2 Efecto de seis cepas de *Azotobacter* spp sobre la floración del tomate (*L. esculentum*) a nivel de invernadero. C.I. Motilonia- Codazzi 1998 B.

CEPAS	PROMEDIOS (cm ±)
<i>Azotobacter vinelandii</i> , N°2	24.10 ab
<i>Azotobacter chroococcum</i> , N°6	34.94 a
<i>Azotobacter chroococcum</i> , N°10	32.10 ab
<i>Azotobacter chroococcum</i> , N°13	21.70 b
<i>Azotobacter chroococcum</i> , N°15	30.00 ab
Testigo	24.50 b
C.V=	25.39

* Para análisis estadísticos los datos fueron transformados por $X + 0.5$.

**Columnas seguidas por la misma letra no difieren significativamente al 5% (Duncan).

BIBLIOGRAFÍA

- Caicedo, L.A. 1993.** Cultivo de tomate, p. 348-443. En: Universidad Nacional (Ed), Horticultura. Palmira, Colombia.
- Cuenca, V.D. y González, V.C. 1996.** Obtención de un biofertilizante a partir de crecimiento de *Azotobacter* spp en una mezcla de los desechos provenientes de la industria Licorera de Caldas. Tesis para optar el título de Bacterióloga. Pontificia Universidad Javeriana. Santa Fé de Bogotá, Colombia.
- Curtis, H. y Barnes, H. 1993.** Nutrición de las plantas. p. 687-695. En: Medicina Panamericana (Ed), Biología. Santa Fé de Bogotá, Colombia.
- Dibut, B., Acosta, M del C. y Jinggren, H. 1995.** Producción de aminoácidos y citoquininas por una cepa cubana de *Azotobacter chroococcum*. Agricultura tropical "Alejandro Humbolt" 16 (1): 16- 18.
- Döbereiner, J. 1984.** Isolation and identification of aerobic nitrogen-fixing bacteria from soil and plants. p. 135-141. In: Enrichment, isolation and counting of soil microorganisms. Rio de Janeiro, Brazil.
- García, G.M., Sánchez, J.M., Peña, J.J. y Moreno, P. E. 1995.** Respuesta del Maíz (*Zea mays* L) a la inoculación con bacterias fijadoras de nitrógeno. Terra 13 (1) : 71 - 80.

-
- Martínez, V.R. 1986.** Ciclo Biológico del nitrógeno en el suelo. p. 22-68. En: Científico Técnico (Ed), Microbiología de suelos. La Habana, Cuba.
- Martínez, V.R. y Dibut, A.B. 1994.** La experiencia cubana en el uso de los biofertilizantes. Instituto de investigaciones fundamentales. p. 18-32. En : Ministerio de Agricultura (Ed), Agricultura Tradicional (INIFA). La Habana, Cuba.
- Nieto, K.F. y Frankenberger, W. T. 1991.** Biosynthesis of cytokinins by *A. chroococcum*. Soil Biology Biochem. 21 (7): 972-976.
- Novo, S.R. 1972.** Fertilización Biológica. p. 89-103. En : Universidad de la Habana (Ed), Microbiología de Suelos. La Habana, Cuba.
- Novo, S.R. 1993** Microbiología del suelo y biofertilización. En : Memorias de la Fundación de Asesorías para el Sector Rural (FUNDASES). Santa Fé de Bogotá, Colombia. p.101.
- P- Mannedde, L. y Haydoxa, U.B. 1963.** The dry weight method for the botanical analysis of pasture. J. Br. Grassland. Soc. 18 : 268- 275.
- Rey, J.y Rivera D. 1994.** Caracterización de cepas de *Azotobacter spp* nativo y su evaluación en el cultivo de la lechuga (*Lactusa sativa*) en fases de semillero. Tesis para optar el título de Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana. Santafé de Bogotá, Colombia.
- Rojas, G. M. 1993.** Nutrición de las plantas. p. 68-76. En: Interamericana S.A. (Ed), Fisiología Vegetal aplicada. México.
- The role microorganisms in a sustainable agriculture.** 1986. López, J.M. and Hodges. 2nd edition. AB Academic publishers. London, England. 273 pp.
-