



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN
Y SERVICIO EN ZOOTECNIA
POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

BIOESTIMULADORES DE CRECIMIENTO INICIAL EN JUANITO (*Lavatera assurgentiflora* Kellogg) Y ZARANDAJA (*Lablab purpureus* L)

TESIS

Que como requisito parcial
para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

Presenta:

JOSÉ MARCELO HERRERA CASTELLANO

Bajo la supervisión de: **Enrique Cortés Díaz, Dr.**



APROBADA



Chapingo, Estado de México, diciembre de 2024

**BIOESTIMULADORES DE CRECIMIENTO INICIAL EN JUANITO (*Lavatera
assurgentiflora* KELLOGG) Y ZARANDAJA (*Lablab purpureus* L)**

Tesis realizada por **JOSÉ MARCELO HERRERA CASTELLANO**, bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

DIRECTOR:



Dr. Enrique Cortés Díaz

ASESOR:



Ph.D. Rafael Núñez Domínguez

ASESOR:



Dr. Martín Amador Meza Nieto

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
DEDICATORIAS.....	viii
AGRADECIMIENTOS	ix
DATOS BIOGRÁFICOS	x
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Agronomía de juanito (<i>Lavatera assurgentiflora</i> Kellogg).....	4
2.2 Agronomía de Zarandaja (<i>Lablab purpureus</i> L).....	6
2.3 Bioestimuladores de crecimiento	8
2.3.1 Azospirillum	9
2.3.2 Azotobacter	12
2.3.3 Micorriza	16
2.3.4 Rhizobium.....	19
2.4 Fase de crecimiento inicial y su importancia en el desarrollo de cultivos	21
3. EFECTO DE LOS BIOESTIMULADORES DE CRECIMIENTO EN LA FASE INICIAL EN JUANITO Y ZARANDAJA	32
3.1 Resumen	32
3.2 Abstract	33
3.3 Introducción.....	34
3.4 Materiales y métodos	35
3.4.1 Área de estudio	35
3.4.2 Plantas y bioestimuladores.....	35
3.4.3 Preparación, tratamientos y aplicación	35
3.4.4 Diseño experimental.....	36
3.4.5 Variables evaluadas.....	36
3.4.6 Manejo de datos y análisis estadístico	37
3.5 Resultados y discusión.....	38
3.5.1 Juanito (<i>Lavatera assurgentiflora</i> Kellogg)	38

3.5.2	Zarandaja (<i>Lablab purpureus</i> L)	43
3.6	Conclusiones	49
3.7	Literatura citada.....	50

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de juanito (<i>Lavatera assurgentiflora</i> Kellogg).	4
Cuadro 2. Clasificación taxonómica de Zarandaja (<i>Lablab purpureus</i> L).....	6
Cuadro 3. Clasificación taxonómica de <i>Azospirillum brasilense</i> y <i>A. lipoferum</i> .	10
Cuadro 4. Clasificación taxonómica de <i>Azotobacter vinelandii</i> , <i>A. chroococcum</i> y <i>A. beijerinckii</i>	13
Cuadro 5. Tasa diaria de cambio en variables asociadas al crecimiento inicial en juanito (<i>Lavatera assurgentiflora</i> Kellogg) con aplicación de un bioestimulador.	39
Cuadro 6. Coeficientes de correlación de Pearson y nivel de significancia ($\text{Prob} > r $) respectivo entre variables asociadas al crecimiento inicial de juanito (<i>Lavatera assurgentiflora</i> Kellogg).	40
Cuadro 7. Características de masa radical y aérea variables asociadas al crecimiento inicial en juanito (<i>Lavatera assurgentiflora</i> Kellogg) con aplicación de un bioestimulador.....	41
Cuadro 8. Tasa diaria de cambio en variables asociadas al crecimiento inicial en zarandaja (<i>Lablab purpureus</i> L) con aplicación de un bioestimulador.	43
Cuadro 9. Coeficientes de correlación de Pearson y nivel de significancia ($\text{Prob} > r $) respectivo, entre variables asociadas al crecimiento inicial de Zarandaja (<i>Lablab purpureus</i> L).....	44
Cuadro 10. Características de masa radical y aérea variables asociadas al crecimiento inicial en zarandaja (<i>Lablab purpureus</i> L) con aplicación de un bioestimulador.....	45
Cuadro 11. Perfil de nodulación y numero de nódulos variables asociadas al crecimiento inicial en zarandaja (<i>Lablab purpureus</i> L) con aplicación de un bioestimulador.....	47
Cuadro 12. Longitud máxima promedio de nódulos en zarandaja (<i>Lablab purpureus</i> L) con y sin aplicación de bioestimuladores.....	48

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ilustración de <i>Lavatera assurgentiflora</i> Kellogg; número de catálogo actual SBBG150065 (Fuente: Santa Barbara Botanic Garden; Philbrick, 1972).	5
Figura 2. Ilustración de <i>Lablab purpureus</i> L; (Fuente: Missouri Botanical Garden, 1893).....	7
Figura 3. Línea de tiempo del concepto de bioestimuladores; (Fuente: adaptado de Jardín, 2015; Yakhin et al., 2017).	8
Figura 4. Cambios en la arquitectura del sistema radicular en diferentes zonas de la raíz: raíz primaria (PR), raíces laterales (LR), pelos radicales (RH), cofia (RC); (Fuente: Cassán et al., 2020).	12
Figura 5. Proceso de enquistamiento de <i>Azotobacter</i> (Fuente: Sadoff, 1975)..	14
Figura 6. Alginato “Modelo caja de huevo” (Fuente: Braccini & Pérez, 2001)..	15
Figura 7. Función y comportamiento de la glomalina; (Fuente: Wright, S. F. & Upadhyaya, A. 1996).	18
Figura 8. Resistencia de las raíces al ataque de patógenos; (Fuente: Volpiano et al., 2022).	18
Figura 9. Perfil de nodulación y número de nódulos	48

DEDICATORIAS

A mi madre Flavia Narcisa Castellano, por su apoyo incondicional, su gran esfuerzo y sacrificio por darnos mejores oportunidades a mi hermano y a mí, por su cariño, consejos y confianza en mí.

A mi padre José Tarquino Herrera, por forjarme día a día con sus consejos, su apoyo incondicional, su gran esfuerzo y sacrificio que me han permitido estar donde hoy estoy.

A mi hermano Darwin Gerlanch Herrera Castellano, por su cariño, su apoyo incondicional, su confianza y siempre estar para mí en todas las travesías de la vida hasta el día de hoy.

A mi abuelita Luz María Palma, por su apoyo incondicional, su gran cariño, su confianza en mí, sus oraciones del día a día.

A mi padrino Miguel Saltos Delgado, quien me brindó su cariño y apoyo incondicional al iniciar mi camino como profesional y que el día de hoy está en el cielo.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el financiamiento brindado en mi formación académica en el Posgrado de Producción Animal, de la Universidad Autónoma Chapingo.

A la Universidad Autónoma Chapingo, Posgrado en Producción Animal, por darme la oportunidad de formarme en sus instalaciones, todo el apoyo incondicional y su cuerpo de docentes que forjaron mi formación profesional.

Al campo Experimental Lomas de San Juan, por el apoyo con el espacio para llevar a cabo el experimento.

A mis asesores, por su paciencia y dedicación para poder llevar a cabo con el éxito el experimento y mi formación. Especialmente al Dr. Pedro Arturo Martínez Hernández, Dr. Rafael Núñez Domínguez y Dr. Enrique Cortés Díaz por su confianza y apoyo para poder obtener el grado de Maestro en Ciencias en Innovación Ganadera.

A mis amigos, María Guadalupe, Gabriel Guerra, Deyli Vargas, Josuar Cáceres, José María Serván, por su apoyo incondicional y su confianza.

DATOS BIOGRÁFICOS



Datos personales

Nombre	José Marcelo Herrera Castellano
Fecha de nacimiento	04 de septiembre de 1996
Lugar de nacimiento	Santo Domingo, Ecuador
CURP	HECM960904HNERSR04
Profesión	Ingeniero Agrónomo

Desarrollo académico

Maestría en Ciencias (2023-2024)	Departamento de Zootecnia Posgrado en Producción Animal Universidad Autónoma Chapingo
Licenciatura (2019-2022)	Ciencia en Producción Agrícola Escuela Agrícola Panamericana Zamorano

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Los bioestimuladores son microorganismos y sustancias que los mismos sintetizan que aplicados directa o indirectamente a las plantas mejoran los mecanismos de adquisición de nutrientes: nitrógeno, fósforo y otros minerales; mayor resiliencia; favorecen un crecimiento y desarrollo más vigorosos; y, actúan como antagonistas a patógenos edáficos (Stoyanova et al., 2023).

El crecimiento inicial de las plantas es una etapa crítica desde la germinación hasta que la plántula se hace autótrofa y con masa radical suficiente, determinando el grado de éxito del establecimiento. La germinación, multiplicación y diferenciación celular primarias dependen de reservas, posteriormente la fotosíntesis y la absorción de nutrientes, determinarán la presencia y desarrollo posterior de la planta. Por tanto, el crecimiento inicial es un momento clave para fomentar una rápida transición de un estado heterótrofo a uno autótrofo y con ello asegurar el éxito del establecimiento de la planta (Taiz et al., 2023).

Juanito (*Lavatera assurgentiflora* Kellogg) es un arbusto perenne de rápido crecimiento, prolífico en la producción de semillas, adaptado a suelos secos y otros factores ambientales estresantes, y con potencial para producir forraje de calidad (Juárez, 2017).

Zarandaja (*Lablab purpureus* L), o frijol dolichos, es originario de África y Asia, es una leguminosa con diversos usos: legumbre, forraje y abono verde. Contribuye a mejorar la fertilidad del suelo mediante la fijación simbiótica de nitrógeno. Puede prosperar en suelos pobres y secos por lo que se le ha señalado como una especie además de forrajera como una mejoradora del suelo (Humphreys, 1995; Valenzuela & Smith, 2002; Sheahan, 2012).

Chávez et al. (2019) encontraron que los bioestimuladores mejoraron el crecimiento inicial de plántulas al ocasionar que éstas mostraran mayor longitud radical, área foliar y peso aéreo que plantas sin la adición de bioestimuladores.

Los bioestimuladores contribuyeron a aumentar la tasa de crecimiento relativo, la asimilación neta y la proporción de área foliar, promoviendo mayor desarrollo general de la planta, en comparación con plantas sin la adición de estos compuestos (Bashir et al., 2021). Además, los bioestimuladores pueden influir positivamente en la germinación, los rasgos bioquímicos y las concentraciones de compuestos fotosintéticos, lo que conduce a un mejor crecimiento durante las primeras etapas del desarrollo de la planta (Bhardwaj et al., 2022).

El impacto positivo de la adición de bioestimuladores sobre el crecimiento inicial ha sido validado en: tomate, fresa, pepino, calabazas, soya, chiles, algunos frutales y especies ornamentales; sin embargo, es escasa la información científica sobre el impacto en el crecimiento inicial de algunas forrajeras como juanito y zarandaja.

Por tanto, el objetivo de la investigación fue analizar características de crecimiento inicial en juanito y zarandaja con la aplicación de microorganismos bioestimuladores, evaluando la tasa de cambio diario en hojas, diámetro del tallo, altura, volumen y peso base seca de raíz, con el fin de generar bases para la toma de decisiones sobre el uso de microorganismos bioestimuladores en la etapa de crecimiento inicial de forrajeras en trasplante y sembradas.

El documento se continua con los capítulos 2 y 3. En el Capítulo 2 se presenta la revisión de literatura sobre las especies forrajeras y el impacto de los bioestimuladores. En el Capítulo 3 se presenta la investigación de campo realizada, análisis de los datos y conclusión.

Literatura citada

- Bashir, M. A., Rehim, A., Raza, Q. U. A., Raza, H. M. A., Zhai, L., Liu, H., & Wang, H. (2021). Biostimulants as plant growth stimulators in modernized agriculture and environmental sustainability. *Technology in Agriculture*, 311, 310-320. doi.org/10.5772/INTECHOPEN.98295.
- Bhardwaj, N., Kaur, M., & Kaur, J. (2022). Role of Biostimulants in Agriculture. In *Biostimulants: Exploring Sources and Applications* (pp. 239-262). Singapore: Springer Nature Singapore.
- Chávez, J. E. C., Castro, G. L. O., Tinoco, A. D. C. C., & García, G. A. C. (2019). Eficacia de bioestimulantes sobre el crecimiento inicial de plantas de fréjol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Espamciencia ISSN 1390-8103*, 10(1), 14-22.
- Humphreys, L. R. (1995). Diversity and productivity of tropical legumes. *Tropical legumes in animal nutrition*, 52(1), 1-21.
- Juárez Zebadúa, U. F. (2017). *Potencial forrajero de Juanito (Lavatera assurgentiflora Kellogg)*. (Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Chapingo, México). Consultada en: <https://repositorio.chapingo.edu.mx/items/7675fbd7-d1ef-4143-ba87-db5550436093>
- Sheahan, C. M. (2012). Plant guide for lablab (*Lablab purpureus* L.). USDA-Natural Resources Conservation Service, Cape May Plant Materials Center. *Cape May*, 8210, 245-288.
- Stoyanova, S., Petrova, I., Dyakova, G., & Mincheva, R. (2023). Influence of growth biostimulators used for the production of vine planting material. *Horticultural Science*, 50(3), 233-240. doi.org/10.17221/143/2022-HORTSCI
- Taiz, L., Møller, I., Murphy, A., & Zeiger, E. (2023). Vegetative Growth and Organogenesis: Primary Growth of the Plant Axis. *Science Trove*, 7(1), 541-550. doi.org/10.1093/hesc/9780197614204.003.0022
- Valenzuela, H., & Smith, J. (2002). Agricultura sostenible Cultivos de abono verde. (Tesis de Licenciatura, Universidad de Hawaii en Manoa, Estados Unidos). Consultada en: <https://www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/GreenManureCrops/lablab.pdf>

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Agronomía de juanito (*Lavatera assurgentiflora* Kellogg)

Juanito es un arbusto de la familia Malvaceae (Cuadro 1); el género *Lavatera* L cuenta con unas 25 especies resaltando la *Lavatera assurgentiflora* Kellogg y fue establecido por Tournefort en 1706 y dedicado a uno de los médicos y naturalistas suizos Lavater (Ray, 1998).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de juanito (*Lavatera assurgentiflora* Kellogg).

Reino	Plantae
División	Angiospermae
Clase	Eudicots
Subclase	Rosids
Orden	Malvales
Familia	Malvaceae
Subfamilia	Malvoideae
Tribu	Malveae
Género	<i>Lavatera</i>
Especie	<i>Lavatera assurgentiflora</i> Kellogg
Subespecies	<i>assurgentiflora, glabra</i> Philbrick

Fuente: Herbario Jepson (Hill, 2012).

Juanito presenta un tallo entre 1 y 4 metros de altura, puede ser decumbente a completamente erecto y con un diámetro de 20 a 40 cm, la copa es de forma redonda y alcanza hasta 5 metros de diámetro; las hojas son laminadas de 5 a 15 cm de largo y ancho, están divididas en 5 a 7 lóbulos triangulares, ovados, dentados y pilosos; el fruto es un esquizocarpo de 1.2 a 1.6 cm de diámetro, con 6 a 8 segmentos; las semillas tienen un tamaño de 1 a 4 mm de color café y en forma de arriñonada; las flores pueden ser de una a dos que salen en las axilas de las hojas, son muy vistosas de color rosa con combinaciones de púrpura y roja, presenta cinco pétalos de 2 a 4.5 cm con venas oscuras y pálidas en la base, cáliz de 1.2 a 1.5 cm y tubo del filamento de 1.5 a 2 cm; su época de floración es de febrero a julio (CNPS, 2014; Guilliams, 2019; Hill, 2012).

Las primeras referencias sobre los usos de *juanita* las publicó Behr (1981), quien observó la planta en un jardín en San Francisco, California; también se usa como planta ornamental por sus vistosas flores (Fryxell, 1993), como barrera rompe vientos y forraje para varias especies de animales (Lull, 1910; Van Dersal, 1938), y para reducir los efectos de la erosión del suelo y ayudar a su estructura (Van der Wal, 2006). En la Figura 1 se ilustra el arbusto *juanita*.



5

Juárez (2017) registró hojas con hasta 29 % de proteína cruda y digestibilidad, a 48 h de incubación, de hasta 61 %; por arriba de forrajeras como alfalfa, rastrojo de maíz y morera. Torgovitsky (2017) mencionó que juanita además de forraje contribuye directa o indirectamente a la biodiversidad del ecosistema al proveer refugio y alimento a fauna silvestre, protege al suelo contra factores erosivos y se asocia a la incorporación de nitrógeno al suelo.

2.2 Agronomía de Zarandaja (*Lablab purpureus* L)

Zarandaja es una herbácea de la familia de las Fabáceas (Cuadro 2), con distribución cosmopolita, se cultiva en México y otras regiones del mundo, por su valor nutricional y ambiental que la convierte una especie importante en la agricultura sostenible. Hay dos tipos de cultivares: *L. purpureus* var. *typicus* y var. *lignosus*, del primero se obtiene vainas suaves comestibles por el humano, del segundo se obtiene el frijol (semilla madura) y forraje (IASRI, 2023; Raghu et al., 2018).

Cuadro 2. Clasificación taxonómica de Zarandaja (*Lablab purpureus* L).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Subfamilia	Faboideae
Tribu	Phaseoleae
Subtribu	Phaseolinae
Género	<i>Lablab</i>
Especie	<i>Lablab purpureus</i>

Fuente: Feedipedia, (Heuzé et al., 2012).

Sheahan (2012) describe a zarandaja como una planta perenne de vida corta o anual; tallo vigoroso herbáceo rastrero o decumbente, con longitudes de hasta 1 a 7 m si es rastrero o trepador, respectivamente; raíz pivotante profunda; hojas alternas y trifolioladas, haz liso y envés con tricomas cortos; folíolos romboidales, de 7.5 a 15 cm de largo x 8 a 14 cm de ancho, agudos en el ápice; inflorescencias en ramo de muchas flores que nacen sobre péndulos alargados; flores color

violeta, blanco a azul, con una longitud aproximada de 1.5 cm y forma papilionácea; y sus frutos son vainas lineales que van de 4-15 cm de largo x 1-4 cm de ancho, textura lisa y picudas que contienen de 2 a 8 semillas; los frijoles o semillas tienen formas ovoides, generalmente de color blanco a marrón oscuro y algunos negros, comprimidas con un hilio lineal conspicuo.

Fuller (2003) informó que el origen de zarandaja es antiguo y se remonta al año 1500 A.C., en África y posteriormente se extendió a la India y Sudamérica, se cultiva principalmente en regiones áridas y semiáridas del mundo. Zarandaja también se conoce como frijol egipcio, frijol bonavista, frijol lablab, o frijol mantequilla indio (Singh & Abhilash, 2019). Sheahan (2012) indicó que zarandaja se ha cultivado con éxito en Florida, Georgia, Puerto Rico y Canadá, llegando a crecer desde el nivel del mar hasta una altitud de 1,982 msnm.

Por la amplitud de funciones ambientales se le ha señalado como la joya entre las leguminosas (Davari et al., 2018). Rangaiah y Dsouza (2016) señalan los beneficios como hortalizas y legumbres, cultivo de cobertura, planta ornamental por sus enredaderas y vistosas flores, buena producción de forraje, utilizado en rotación de cultivos anuales, en la medicina tradicional, mejoradora de la fertilidad del suelo al fijar nitrógeno, como abono verde y tolerante a la sequía. En la Figura 2 se ilustra la planta de zarandaja.



Figura 2. Ilustración de *Lablab purpureus* L; (Fuente: Missouri Botanical Garden, 1893).

Nord et al. (2020) indicaron que de forraje se puede esperar no menos de 2.5 t ha⁻¹, y de semilla hasta 600 kg ha⁻¹ con lluvias erráticas entre 500 a 1000 mm al año. Cáceres et al. (1992) encontraron en plantas con 64-74 d de rebrote forraje con 15.8 a 16.2 % y de 72 a 72.8 % de proteína cruda y digestibilidad de la materia orgánica, respectivamente, y energía metabolizable entre 9.80 y 11.70 MJ kg⁻¹. MS, concluyeron, a partir de estos valores, que el forraje producido por zarandaja es de alto a muy alto valor nutrimental y puede ser una excelente opción para el sostenimiento de la ganadería.

2.3 Bioestimuladores de crecimiento

El término bioestimulador de crecimiento vegetal se acuñó en la década de los noventa, a partir de artículos publicados sobre bioactivadores que influían en el crecimiento y desarrollo de plantas (Rodríguez et al., 2021). La Figura 3, es una línea de tiempo sobre el desarrollo del concepto de bioestimuladores de crecimiento vegetal.

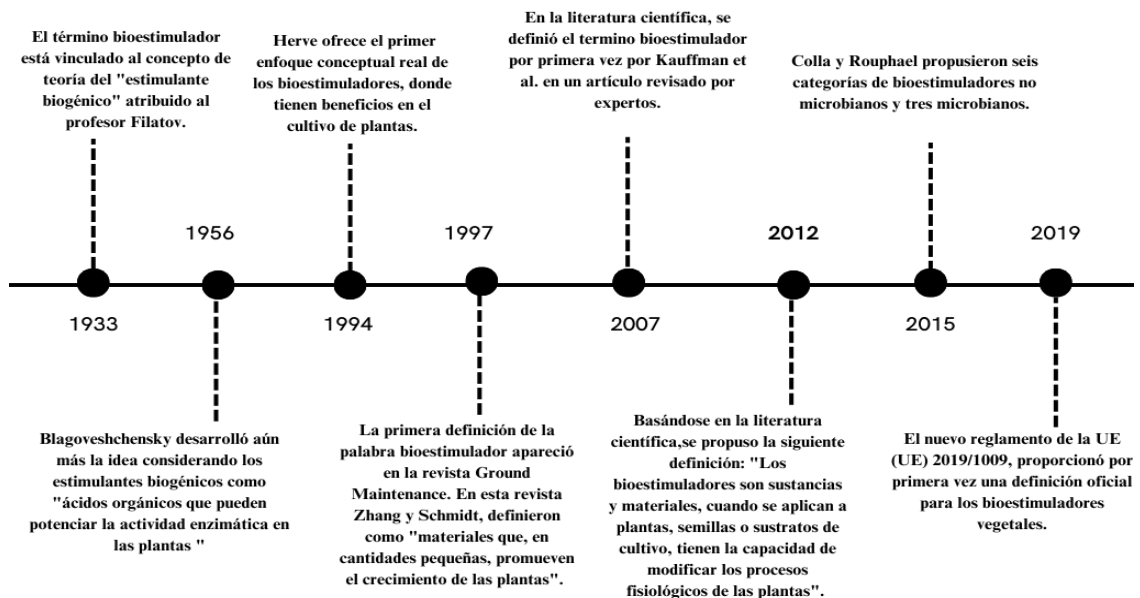


Figura 3. Línea de tiempo del concepto de bioestimuladores; (Fuente: adaptado de Jardin, 2015; Yakhin et al., 2017).

Los bioestimuladores de crecimiento vegetal se definieron como compuestos sintetizados por microorganismos que mejoran características en las plantas como tolerancia a estrés abiótico y biótico, absorción y asimilación de nutrientes y crecimiento de las plantas (Du Jardin, 2015; Echeverria-Salazaret et al., 2023). Las naturalezas químicas de los bioestimuladores pueden ser: ácidos húmicos o fúlvicos, compuestos nitrogenados, biopolímeros, entre otros; varios compuestos presentes en extractos crudos de tejidos vegetal y algas; como microorganismos están hongos, bacterias, protozoos y algas (Jiménez-Arias et al., 2022).

La aplicación semanal de 5 L de un bioestimulador/ha aumentó 83.45 y 63.65 % los pesos de hoja y vaina de las plantas de frijol, respectivamente, en comparación a las plantas sin aplicación del bioestimulante (Tahiri et al., 2024). En papa, asperjar el suelo durante ciertas etapas del cultivo con un bioestimulante comercial a dosis de 20 mL de MX42SEK al 5% (p/p) y remojo de la masa radical a la siembra, originó hasta 33 % mayor peso del tubérculo en comparación a plantas de papa sin este tratamiento (Salvage et al., 2024).

Para lograr los compuestos bioestimuladores un acercamiento comercial ha sido proveer de un núcleo de microorganismos a la siembra y en otros momentos del cultivo para que éstos una vez en el suelo o raíz de las plantas generen como parte de sus funciones de vida los compuestos o complejo de compuestos bioestimuladores al crecimiento de la planta (Khan et al., 2023). Los microorganismos bioestimuladores que se discutirán en esta revisión son: *Azospirillum*, *Azotobacter*, Micorrizas y *Rhizobium*.

2.3.1 *Azospirillum*

Las bacterias del género *Azospirillum* son comúnmente microorganismos de vida libre que pueden ser promotores del crecimiento y rendimiento de varias especies de plantas de importancia agronómica o ecológica. La promoción del crecimiento vegetal puede ser por: incorporación de N atmosférico al binomio suelo-planta, y

síntesis y liberación de fitohormonas, poliaminos y trehalosa (Cruz-Hernández, et al., 2022).

La búsqueda por producir cereales y otros cultivos no-leguminosos con una menor cantidad de fertilizante nitrogenado, llevó entre 1960 y 1970 al estudio por el equipo de investigadores liderados por la Dra. Johanna Döbereiner de las bacterias *Azospirillum brasilense* y *A. lipoferum* ambas bacterias con capacidad de incorporar N atmosférico a partir de la asociación con raíces (Hartmann y Bashan, 2009). Cruz-Hernández et al. (2022) a partir de una revisión de diferentes autores indicaron que hay registradas 25 especies de *Azospirillum*, la mayoría aisladas a partir de raíces de herbáceas silvestres y ninguna de raíces de arbustos o árboles. En el Cuadro 3 se presenta la taxonomía de *A. brasilense* y *A. lipoferum*, las dos especies de *Azospirillum* más ampliamente estudiadas.

Cuadro 3. Clasificación taxonómica de *Azospirillum brasilense* y *A. lipoferum*.

Dominio	Bacteria
División	Proteobacteria
Clase	Alphaproteobacterias
Orden	Rhodospirillales
Familia	Rhodospirillaceae
Género	<i>Azospirillum</i>
Especie	<i>A. lipoferum</i> , <i>A. brasilense</i>

Fuente: Bergey, 1994.

Azospirillum es una bacteria Gram negativa y se caracteriza por tener una forma bacilar o de varilla, con movimiento vibratorio y patrón flagelar mixto (Becking, 1985); presentan un tamaño de 2 a 4 µm de ancho y 0.8 a 1 µm de largo, presentan varios flagelos laterales e incluso tienen la capacidad de adaptar su flagelación a diferentes ambientes, abundan en regiones tropicales, templadas, frías y desérticas, y en su mayoría se pueden encontrar asociadas a raíces de cereales y pastos (Parra, 2002).

Las bacterias *Azospirillum* habitan en la rizosfera, pueden colonizar el interior y exterior de la masa radical, al interior de las raíces entran en las células, al exterior proliferan en el mucigel de la raíz; además de la fijación de nitrógeno atmosférico en su interacción con la planta hospedera puede sintetizar ácido indolacético (AIA), auxinas, citocinas, proteínas poliaminas, aminoácidos y polisacáridos (Caesar et al., 2007). La fijación biológica de nitrógeno es posible por la actividad de la nitrogenasa, con la reducción de nitrógeno y posterior incorporación a compuestos aminados (Mantilla et al., 2007).

Plántulas de jitomate (*Solanum lycopersicum* Mill.) inoculadas con *Azospirillum* mostraron mayores cantidades de biomasa aérea y radical que las plántulas sin inoculación; este efecto positivo de *Azospirillum* se explicó por la síntesis mayor de hormonas promotoras del crecimiento (Esquivel-Cote, 2017). En arroz (*Oryza sativa* L.) las plantas con *Azospirillum* mostraron mayores fijaciones de nitrógeno, síntesis de ácido indolacético, altura y cantidades de biomasa aérea y radical en comparación que plantas sin inoculación; el impacto positivo de la inoculación con *Azospirillum* proviene de la mayor disponibilidad de nitrógeno y de la síntesis de fitohormonas promotoras del crecimiento vegetal (García et al., 2010).

El AIA sintetizado por *Azospirillum* se suma a las hormonas endógenas, asemejando el efecto de realizar una aplicación exógena y de esta manera el AIA bacteriano estimula el desarrollo de raíces y el crecimiento en general (Patten & Glick, 2002). La inoculación con *Azospirillum* reduce la cantidad de fertilizante nitrogenado para un máximo rendimiento del cultivo, la fijación de nitrógeno atmosférico y mayor disponibilidad de fitohormonas del crecimiento explican esta respuesta (Sivasakthivelan & Saranraj, 2013). Okon et al. (1983) señalan que la inoculación con *Azospirillum* aumenta la cantidad de nitrógeno disponible al cultivo; sin embargo, el ambiente físico y biológico debe ser favorable para que el nitrógeno llegue a las plantas del cultivo.

La acción positiva de *Azospirillum* sobre el crecimiento vegetal puede darse aun en suelo contaminados con agroquímicos como funguicidas, esta situación abre

la posibilidad de acelerar el proceso de biorremediación de suelos agrícolas mediante el binomio planta-*Azospirillum* (Pereyra et al., 2009).

Cassán et al. (2020) registraron que el AIA adicional por la inoculación con *Azospirillum* estimula la densidad y longitud de la masa radical (Figura 4). También puede favorecer mayor resistencia al ataque por patógenos, masa radical menos afectada por suelo seco o anegado, mayor concentración de clorofila, estimulación de la tasa fotosintética y de forma indirecta la biogénesis de cloroplastos (Jiang et al., 2012; Perrig et al., 2007).

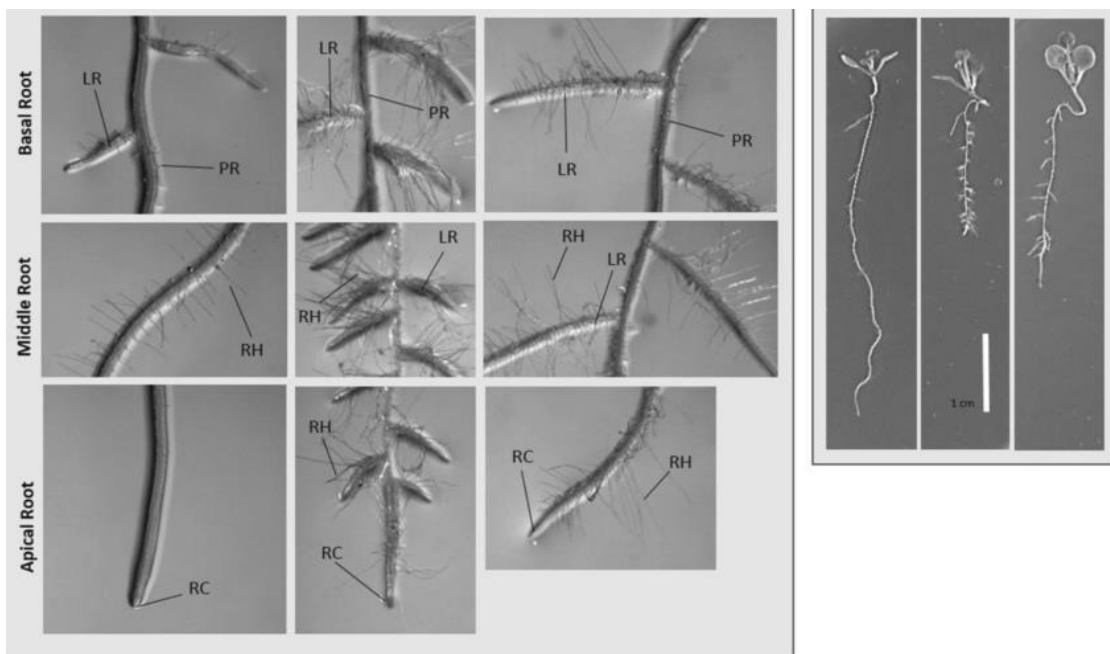


Figura 4. Cambios en la arquitectura del sistema radicular en diferentes zonas de la raíz: raíz primaria (PR), raíces laterales (LR), pelos radicales (RH), cofia (RC); (Fuente: Cassán et al., 2020).

2.3.2 Azotobacter

El género *Azotobacter* fue descubierto en el año de 1901 por Beijerinck y el primer reporte ocurrió en 1952 en el cual se nombró como *Azotobacter agilis*, luego *A. vinelandii* aislada del suelo en Nueva Jersey (Noar & Bruno-Bárcena, 2018). La clasificación taxonómica actualmente reconocida se presenta en el Cuadro 4. Frobisher (1969) menciona que desde entonces se despertó el interés de su estudio por ser bacterias fijadoras de nitrógeno (diazótrofas) y que fueron las

primeras en producirse comercialmente debido a su contribución en la nutrición nitrogenada de las plantas.

Cuadro 4. Clasificación taxonómica de *Azotobacter vinelandii*, *A. chroococcum* y *A. beijerinckii*.

Dominio	Bacteria
División	Proteobacteria
Clase	Grammaproteobacteria
Orden	Pseudomonadales
Familia	Pseudomonadaceae
Género	<i>Azotobacter</i>
Especie	<i>A. vinelandii</i> , <i>A. chroococcum</i> , <i>A. beijerinckii</i>

Fuente: Joint Genome Institute, (Sethi & Adhikary, 2012).

Las bacterias del género *Azotobacter* son usualmente móviles, son Gram negativas y relativamente grandes, 1-2 µm de diámetro; el nombre proviene del francés "azoto" que significa nitrógeno y del griego "bacter" que es bacilo, por lo general son de forma ovales, pero pueden tomar otras como esféricas o de barras, pueden formar quistes de pared gruesa, producen gran cantidad de baba capsular y sus colonias son viscosas, lisas, convexas o arrugadas y presentan pequeñas inclusiones granulares, su coloración varia en la escala de pardo, son microorganismos de vida libre y presentan una tasa respiratoria eficiente y rápida a nivel superficial, son fijadoras de nitrógeno de forma aeróbica, mejora la disponibilidad de fósforo así como la producción de giberelinas, auxinas y citoquininas (Adaya et al., 2018; Mrkovacki & Milic, 2001).

El género *Azotobacter* puede encontrarse en suelos neutros o ligeramente alcalinos, suelos tropicales y mayormente en suelos fértiles, están en la rizosfera, filósfera y cuerpos de agua dulce en todos los continentes, puede desarrollarse en temperatura desde 0 °C y a una máxima de 40-45 °C lo que las hace de naturaleza mesofílica, el rango de pH para su desarrollo óptimo es de 7 a 7.5 pero también pueden estar entre 4.5 a 9, la presencia de *Azotobacter* está estrechamente relacionado con la salud del suelo (Gauri et al., 2009; Mankar et al., 2020).

Azotobacter presenta dos tipos de nitrogenasas para el proceso de fijación de nitrógeno atmosférico: el molibdeno nitrogenasa que es la principal y más convencional y una nitrogenasa alternativa con vanadio que al no disponer de molibdeno puede ser reemplazado por este (Kumar et al., 2015). Tienen la capacidad de solubilizar fosfatos ya que excretan o liberan ácidos orgánicos (ácido cítrico, glucónico, oxálico entre otros) los cuales interfieren fuertemente para la solubilización del fósforo del suelo y luego ser utilizado en la nutrición de las plantas, así también, sintetiza la enzima fosfatasa alcalina (APasa) y acumula el polímero poli- β -hidroxibutirato (PHB) intracelularmente las cuales se encargan de degradar el fosfato en iones y pueda estar disponible para fijar nitrógeno (García-Esquivel et al., 2009; Saha et al., 2019).

Azotobacter son de las únicas procariotas productoras de este polisacárido llamado alginato (Miranda-Medina et al., 2008), tienen la capacidad de entrar en su etapa de vida llamada quiste (Figura 5), esto es posible con la participación del alginato el cual está involucrado en la estructura y proceso de enquistamiento formando una capa protectora que les permite sobrevivir al menos 10 años en condiciones de desecación (Noar & Bruno-Bárcena, 2018).

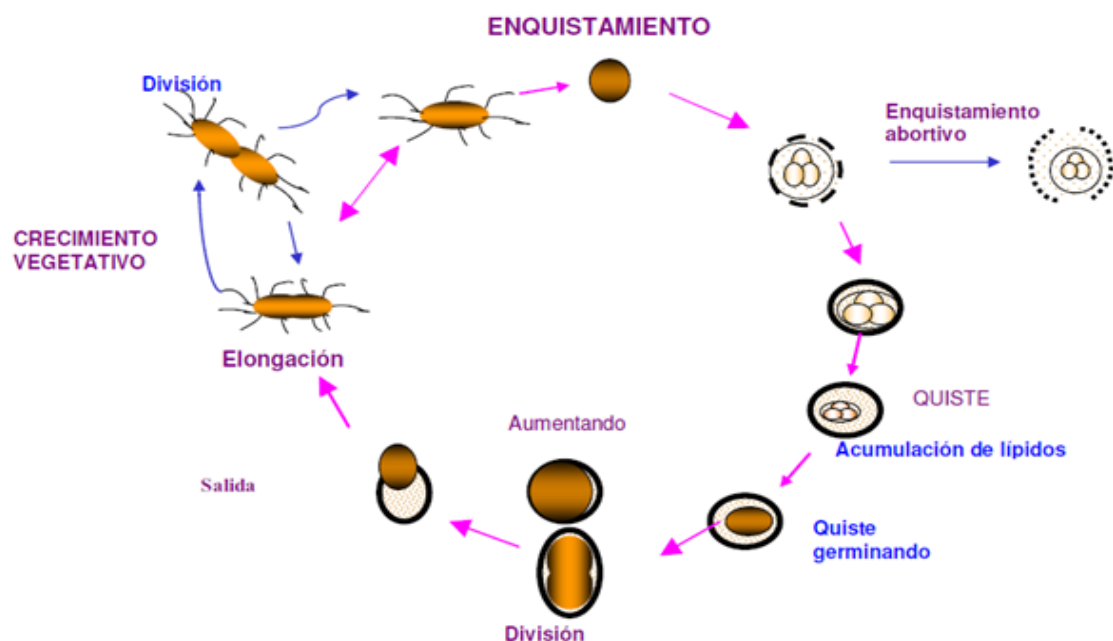


Figura 5. Proceso de enquistamiento de *Azotobacter* (Fuente: Sadoff, 1975).

El proceso de fijación de nitrógeno lo pueden realizar ya que poseen varios mecanismos para proteger el complejo nitrogenasa, uno de ellos es la producción de alginato (Figura 6) la cual forma una cápsula brindando protección a sus di-nitrogenasas frente a una alta concentración de oxígeno cuando realiza dicho proceso, también participa en la interacción entre las bacterias y la planta (Manzo et al., 2012).

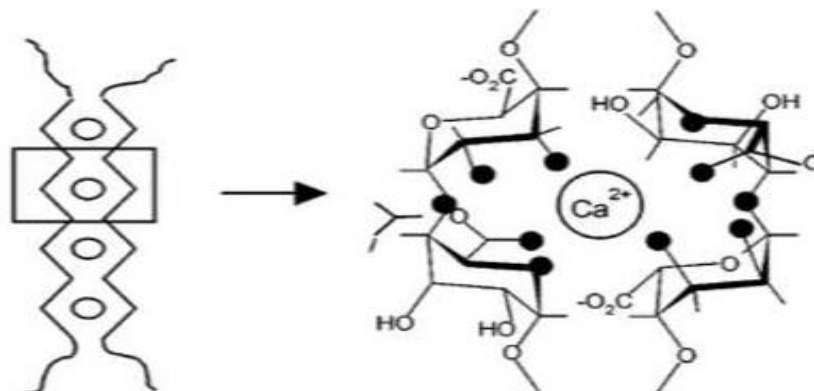


Figura 6. Alginato “Modelo caja de huevo” (Fuente: Braccini & Pérez, 2001).

Ochoa et al. (2010) señalan que las bacterias del género *Azotobacter* son capaces de producir en sus exudados sustancias estimuladoras de crecimiento como: citoquininas, auxinas, giberelinas, sideróforos y vitaminas. También colaboran para controlar patógenos en el suelo (Garrity et al., 2005; Kenneddy et al., 2005).

Kurdish et al. (2008) mencionan que *Azotobacter* en semillas de pepino en comparación a semillas sin *Azotobacter*, aceleró la germinación y el desarrollo de las plántulas. Además del impacto positivo en el desarrollo temprano del pepino la inoculación con *Azotobacter* aumentó el número y tamaño de frutos, el rendimiento y contenido de N, P, K (Saeed et al., 2015). En tomate, *Azotobacter* disminuyó los días a floración, aumentó las biomásas aérea y radical, altura,

porcentaje de germinación, longitud, ancho y número de hojas en comparación a plantas sin *Azotobacter* (Escobar et al., 2011; Mahato et al., 2009).

Semillas de café (*Coffea arabica*) con y sin *Azotobacter*, difirieron en porcentaje de germinación, altura de planta, número y peso de hojas y diámetro de tallo, las semillas con *Azotobacter* superaron en estas variables a las sin *Azotobacter*, además del efecto positivo en el crecimiento vegetal resalta que este impacto se mantiene luego de un tiempo de desarrollo de la planta (Delgado et al., 2003). León et al. (2012) concluyeron que *Azotobacter* en plántulas de tabaco negro (*Nicotiana tabacum* L.) mejoró varias características de crecimiento vegetal y con este impacto positivo, aumentó la rentabilidad del cultivo.

Sumbul et al. (2020) al revisar la inoculación de semillas y plántulas con *A. chroococcum* y *A. vinelandi* concluyen que el mayor crecimiento vegetal y resistencia de especies de interés agronómico proviene de una conjunción de acciones que estas bacterias realizan: síntesis de fitohormonas promotoras del crecimiento vegetal (AIA, auxinas, giberelinas y citoquininas); fijación de nitrógeno atmosférico; antagonismo con ciertos fitopatógenos al competir por microminerales; degradación de pesticidas como los organoclorados; y, quelación de metales pesados. Para lograr la mayor efectividad de *Azotobacter* recomiendan que se inocule junto con otros microorganismos para formar cadenas o consorcios bacterianos de mayor vigor y competencia.

2.3.3 Micorriza

Las micorrizas pueden tener una antigüedad de 400 millones de años, cuando las plantas acuáticas con las micorrizas colonizaron la corteza terrestre, inicialmente se les clasificó como hongo (Barea & Azcón-Aguilar, 1983). En 1885 Albert Bernard ilustró la estructura y describió el funcionamiento de la asociación "hongo-raíz", acuñando el término micorriza, que procede del griego mykos que significa hongo y del latín rhiza que significa raíz, denominándolo así una simbiosis entre el micelio del hongo y las raíces de las plantas (Henao & Castillo, 2021).

Esta asociación simbiótica está presente en 90 a 95 % de las plantas y es cosmopolita en suelos y climas, por lo que está presente en ecosistemas desde las dunas costeras, desiertos, selvas y bosques de coníferas; sin embargo, factores físicos y químicos del suelo pueden disminuir y restringir su distribución y simbiosis (Finlay, 2008).

Las micorrizas pueden ser una alternativa al uso de agroquímicos, labranza excesiva del suelo y fertilizaciones a altas dosis, prácticas que podrían llevar a suelos degradados física, química y biológicamente (Ricalde, 2002).

Mora y Leblanc (2012) registraron que el uso de micorrizas en el cultivo de maíz fue un factor para reducir la dosis fertilización fosfórica sin afectar el rendimiento. La masa de micelios al interior de la planta y células vegetales promovieron una extensa y rápida degradación de gránulos de fosfato y su transferencia, al mismo tiempo de sintetizar enzimas que permiten a la planta acceder a formas de fósforo orgánico normalmente inaccesibles a plantas sin micorrizas, la reducción de adición de fósforo fue hasta de 33 % con respecto de la dosis recomendada.

Guadarrama et al. (2004) señalaron que las micorrizas además de mejorar la nutrición de las plantas, mejoran las propiedades físicas y químicas del suelo, a través de la materia orgánica generada y la formación de agregados por adhesión de partículas mediante glomalina, una proteína exudada por el micelio que además de pegamento edáfico puede almacenar hasta 27 % del carbono edáfico, la acción adhesiva contribuye a que el suelo tenga mayor estabilidad y estructura, mayor retención de agua, menor riesgo de erosión y aireación adecuada; así también, la glomalina sirve como un bioindicador del mejoramiento en la calidad del suelo promoviendo la agricultura de conservación. En la Figura 7 se aprecia la función de la glomalina.



Figura 7. Función y comportamiento de la glomalina; (Fuente: Wright, S. F. & Upadhyaya, A. 1996).

Ricalde (2001) indican que además de facilitar la absorción de fósforo, la asociación micorrizas-planta proporciona otros beneficios: protección contra fitopatógenos (nematodos, hongos y parásitos) al inducir que la planta sintetice a fitoalexinas (Figura 8) compuestos protectores; y limita el riesgo de toxicidad por absorción de metales pesados (cadmio y zinc) al formar quelatos en las hifas por intervención de la glomalina.

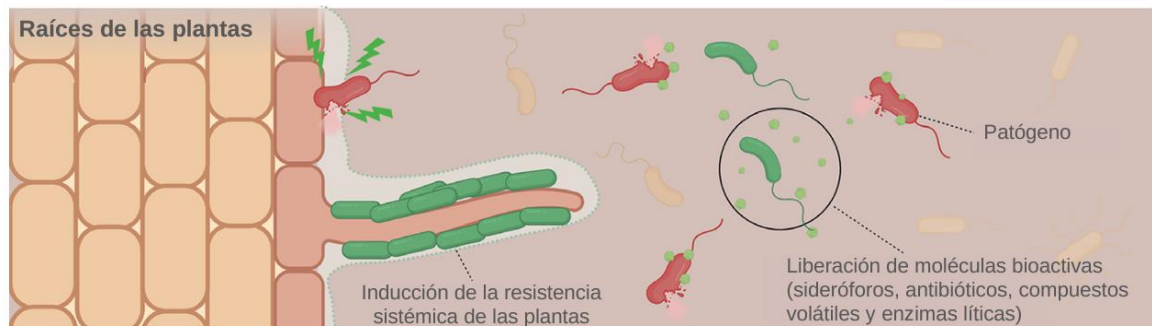


Figura 8. Resistencia de las raíces al ataque de patógenos; (Fuente: Volpiano et al., 2022).

Ochoa y Sambrano (2009) encontraron que en banano las micorrizas promovieron plantas de mayor altura, con más hojas y amplia de P en comparación a plantas sin micorrizas. Hernández y Salas (2009) registraron que semillas y trasplantes micorrizados de Ronrón (*Astronium graveolens* Jack) y Teca (*Tectona grandis* L.f) mostraron individuos de mayor altura, pesos de bioamasas aérea y radicular en comparación a individuos sin micorriza, el mejor

comportamiento lo explicaron con base en que los individuos micorrizados mostraron mayor absorción de Mn, Fe, Mg y Ca, en comparación a individuos sin micorrizas.

2.3.4 Rhizobium

Rhizobium es un microorganismo bioestimulador del crecimiento vegetal, cultivado por primera vez en Estados Unidos por Nobbe y Hiltner en 1896, quienes dueños de la patente de cultivos puros de *Rhizobium*, lo comercializaron hasta la década de 1930, con el nombre de " Nitragin" mediante una empresa privada llamada The Nitragin Company Inc., el cultivo fue en botellas de vidrio con una pequeña cantidad de gelatina sólida que servía de sustrato, este material se aplicaba a las semillas o se mezclaba con el suelo en los primeros 7.6 cm del perfil (Smith, 1992).

Las bacterias rizobianas son pequeñas a medianas (0.5-0.9 x 1.2-3.0 μm) bacilos móviles, Gram negativas, con gránulos de poli- β -hidroxibutirato, dos capas de pared celular, la primera de carbohidratos y proteínas y la segunda de lípidos y carbohidratos; estas bacterias son aeróbicas con un metabolismo de tipo respiratorio que necesita oxígeno para crecer y colonizan la parte de la rizosfera, el rizoplaneo y las propias raíces; se describe como la rizosfera el volumen de suelo que está bajo las raíces de las plantas y que la rodea, el rizoplaneo son las superficies de las raíces que están en contacto con las partículas del suelo fuertemente adheridas (Gray & Smith, 2005).

Las bacterias *Rhizobium* poseen un plásmido que codifica información vital para realizar la infección, que es inducida por la propia planta mediante la secreción de lectina y la nodulación en la planta hospedadora; fijan nitrógeno necesario para el desarrollo de la planta, facilitan directa o indirectamente el desarrollo del follaje y de la raíz de las plantas; la forma directa es la producción de hormonas, disolución y mineralización de fosfatos, la fijación simbiótica de nitrógeno atmosférico, síntesis de antibióticos y sideróforos, el ingreso del nitrógeno da lugar a la estimulación de procesos microbianos para transformar la materia

orgánica y reciclar de nutrimentos (Santillana et al., 2005; Torriente, 2010). La forma indirecta es el control biológico de fitopatógenos a través de la producción de antibióticos y compuestos orgánicos volátiles (aldehídos, alcoholes, cetonas, hidrocarburos, indoles) que inhiben los fitopatógenos transmitidos por el suelo y la inducción de la resistencia sistémica (Ajinde et al., 2024).

Vazallo et al. (2013) mencionaron que al realizar la inoculación con *Rhizobium* en Chile *Capsicum annum* var. longum. obtuvieron resultados significativos para la longitud del tallo y raíz de la plántula, se debe a que *Rhizobium* tiene la capacidad de ingresar a la corteza de las raíces y segregar sustancias a la rizósfera, como las auxinas, citocinas, giberelinas y ácido abscísico, los que influyen en su metabolismo, contribuyen al desarrollo de las plantas, permiten mayor absorción de agua y nutrientes a través de las raicillas, debido al aumento de la división celular al alargar sus raíces y favorecer la formación de pelos radiculares, repercute en la resistencia al estrés osmótico al aumentar el contenido de clorofila, calcio, potasio, contenido de proteínas y azúcares solubles, permitiendo su desarrollo.

Romero et al. (2017) determinaron que el número de nódulos se incrementó al aplicar *Rhizobium*, ya que la planta en sus células de la raíz secretan flavonoides, los cuales activan los genes nod en las bacterias e inducen la formación de nódulos, en forma de hilo infeccioso que se desarrolla en la pared celular primaria interna y crece hacia dentro en forma de invaginación; posteriormente, las células tetraploides infectadas se dividen para producir una masa de células en forma nodular, lo que demanda la secreción de ácido indolacético (AIA), factores celulares del huésped activan los genes fijadores de nitrógeno (nif) que se encuentran en las células rizobias, la nitrogenasa cataliza la conversión de gas nitrógeno en amoníaco, el nitrógeno fijado en los nódulos se convierte en aminoácidos y requiere de esqueletos de carbono, el nitrógeno orgánico se trasfiere a la planta hospedera por el xilema principalmente en asparagina, los niveles de oxígeno en el nódulo son controlados por *Rhizobium* y la proteína leghemoglobina la cual contiene hierro y tiene una función similar a la

hemoglobina, proporcionando suficiente oxígeno para desarrollar funciones metabólicas de las bacterias y evitando la acumulación de oxígeno libre que impediría la actividad de la nitrogenasa.

2.4 Fase de crecimiento inicial y su importancia en el desarrollo de cultivos

El crecimiento inicial se denomina desde la de germinación hasta el desarrollo de las partes vegetativas de la planta, la germinación puede durar desde unos pocos días hasta semanas, produce las denominadas “hojas de semilla”, requiere de niveles adecuados de oxígeno, temperatura y agua constante para poner en marcha su metabolismo, en esta etapa la plántula se respalda por el catabolismo de sus reservas de proteína y almidón acumulados durante la maduración de la semilla, estas reservas ayudan a la expansión celular, desarrollo de cloroplastos y crecimiento de raíces hasta que pueda tener un crecimiento autótrofo (Penfield, 2017).

En la etapa de crecimiento inicial de las plantas, se produce un proceso llamado brotes los cuales se desarrollan de la planta madre y crecen de forma vertical, esto se da cuando la planta comienza a crear nuevos crecimientos, como yemas, hojas, tallos, ramificaciones; en estas zonas de brotes las células se encuentran multiplicando de forma activa, para formar nuevas estructuras de crecimiento, esto ayuda a la supervivencia de la planta (Valor & Sánchez, 2003).

El desarrollo de los tallos y el crecimiento radicular son fuente importante para el crecimiento inicial de las plantas, ya que estos brindan soporte y permiten anclar la planta al suelo, absorben agua, sales minerales, y almacena sustancias de reserva; el crecimiento de los tallos se produce en diversos sitios de la planta, a diferencia del sistema radicular que se da en puntos específicos, la duración y la intensidad de estos cambios varían entre especies, el cambio climático afecta significativamente a esta etapa de crecimiento, debido a la correlación directa entre la temperatura y el desarrollo del tallo y raíces (Duval, 2006).

En la etapa vegetativa del crecimiento de la planta se caracteriza por el desarrollo de tallos fuertes y hojas verdes abundantes, la importancia de estos procesos radica en que la efectividad de la fotosíntesis está ligada a la presencia de hojas con superficies amplias para la absorción de la luz, un robusto desarrollo de las hojas a menudo ligado en un incremento vigoroso de las raíces, destacando la importancia de procurar el crecimiento inicial de las plantas, ya que de ello dependerá su desarrollo y productividad (Medina et al., 2015).

Chávez et al. (2019) afirmaron que la utilización de bioestimuladores de crecimiento fueron eficaces para promover el crecimiento inicial en plantulas de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.), donde las mayores tasas de crecimiento se alcanzó con la aplicación de tratamiento a base de aminoácidos, extractos de *Chlorella* y fitohormonas, este último presentó mayor eficiencia en el peso seco con 143 %, seguido de *Chlorella* y aminoácidos con 130 y 103 % en relación al testigo que fue de 1.29 g.

De La A (2022) informó que la aplicación de Biodyne 401 a razón de 150 ppm disuelto en 20 ml de agua dejándolo reposar por 4 horas incremento al 96 % el porcentaje de germinación, el índice de velocidad de emergencia con 19.8 % en el transcurso de 14 días posterior a la siembra, favoreció a la altura de la planta, y un mayor porcentaje de eficiencia con un 50 % a comparación de Kelpak y el testigo.

Literatura citada

- Adaya, L., Millán, M., Peña, C., Jendrossek, D., Espín, G., Tinoco-Valencia, R., & Segura, D. (2018). Inactivation of an intracellular poly-3-hydroxybutyrate depolymerase of *Azotobacter vinelandii* allows to obtain a polymer of uniform high molecular mass. *Applied microbiology and biotechnology*, 102, 2693-2707.
- Ajinde, A. O., Dayo-Olagbende, O. G., & Akpor, O. B. (2024). Direct and indirect mechanisms of growth promotion by plant growth promoting rhizobacteria. In *2024 International Conference on Science, Engineering and Business for Driving Sustainable Development Goals (SEB4SDG)* (pp. 1-16). IEEE.
- Allan Herbarium. (2000). Ngā Tipu o Aotearoa - Base de datos de nombres de plantas de Nueva Zelanda. Landcare Research, Nueva Zelanda. Sitio web: <https://www.gbif.org/es/dataset/df582950-3b58-11dc-8c19-b8a03c50a862> [15/05/2024].
- Barea, J. M., & Azcon-Aguilar, C. (1983). Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. *Advances in agronomy*, 36, 1-54. doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60351-X
- Barker, W. R. (1977). The species of *Malva* L. and *Lavatera* L. (Malvaceae) naturalized in South Australia. *Journal of the Adelaide Botanic Garden*, 1(2), 107-114.
- Becking, J. H. (1985). Pleomorphism in *Azospirillum*. In *Azospirillum III: Genetics· Physiology· Ecology Proceedings of the Third Bayreuth Azospirillum Workshop* (pp. 243-262). Springer Berlin Heidelberg.
- Behr, H. H. (1891). Reminiscencias botánicas. *Zoe*, 2, 2-6.
- Bergey, D. H. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. (9th ed.) Lippincott Williams & Wilkins.
- Braccini, I., & Pérez, S. (2001). Molecular basis of Ca²⁺-induced gelation in alginates and pectins: the egg-box model revisited. *Biomacromolecules*, 2(4), 1089-1096. doi.org/10.1021/bm010008g
- Cáceres, O., Santana, H., & Delgado, R. (1992). Valor nutritivo de dolichos, girasol y kenaf sin fertilización ni riego. *Pastos y Forrajes*, 15(3).
- Caesar-TonThat, T. C., Caesar, A. J., Gaskin, J. F., Sainju, U. M., & Busscher, W. J. (2007). Taxonomic diversity of predominant culturable bacteria associated with microaggregates from two different agroecosystems and their ability to aggregate soil in vitro. *applied soil ecology*, 36(1), 10-21.
- Cassán, F., Coniglio, A., López, G., Molina, R., Nievas, S., de Carlan, C. L. N., ... & Mora, V. (2020). Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. *Biology and Fertility of Soils*, 56, 461-479.

- Chávez, J. E. C., Castro, G. L. O., Tinoco, A. D. C., & García, G. A. C. (2019). Eficacia de bioestimulantes sobre el crecimiento inicial de plantas de fréjol común (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Espamciencia ISSN 1390-8103*, 10(1), 14-22.
- CNPS (California Native Plant Society). (2014). *Malva assurgentiflora* (Malva Rosa) California. Sitio web: [http://calcscape.org/Malva assurgentiflora-\(Malva-Rosa\)?srchcr=sc573ec80bb484a](http://calcscape.org/Malva_assurgentiflora-(Malva-Rosa)?srchcr=sc573ec80bb484a) [21/05/2024].
- Cruz-Hernández, M. A., Mendoza-Herrera, A., Bocanegra-García, V., & Rivera, G. (2022). *Azospirillum* spp. from plant growth-promoting bacteria to their use in bioremediation. *Microorganisms*, 10(5), 1057. doi.org/10.3390/microorganisms10051057
- Davari, S. A., Gokhale, N. B., Palsande, V. N., & Kasture, M. C. (2018). Wal (*Lablab purpureus* L.): An unexploited potential food legumes. *International Journal of Chemical Studies*, 6(2), 946-949.
- De La A, R. (2022). *Evaluación de dos bioestimulantes sobre el crecimiento inicial de Pimiento Capsicum annum Var. Marconi en la parroquia Anconcito, provincia de Santa Elena*. (Tesis de licenciatura, Universidad Estatal Península de Santa Elena, Ecuador). Consultada en: <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/8799>
- Delgado, Y., Cupull, R., Pérez, C., Sánchez, A., & Vilchez, M. (2003). Efecto de *Azotobacter* spp. en la estimulación de la germinación y el desarrollo de posturas de *Coffea arabica* L. *Centro agrícola*, 30(1), 26-31.
- Dobereiner, J., & Day, J. M. (1976). *Associative symbioses in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites*. U.S.: Washington State University Press.
- Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia horticulturae*, 196, 3-14. doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021
- Duval, R. (2006). Hormonas vegetales para el crecimiento y desarrollo de la planta. *Revista de industria, distribución y socioeconomía hortícola: frutas, hortalizas, flores, plantas, árboles ornamentales y viveros*, 196, 22-27.
- Echeverría-Salazar, A. J., Vega-Armijos, J. E., & Luna-Romero, A. E. (2023). Evaluación de bioestimulante orgánico en cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad nacional en etapa de vivero. *Revista Científica Agroecosistemas*, 11(1), 52-58.
- Escobar, C., Horna, Y., Carreño, C., & Mendoza, G. (2011). Caracterización de cepas nativas de *Azotobacter* spp. y su efecto en el desarrollo de *Lycopersicon esculentum* Mill. "tomate" en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 2(1), 39-49. doi.org/10.17268/sci.agropecu.2011.01.05
- Esquivel-Cote, R. (2017). Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp., y fertilización nitrogenada en el crecimiento y producción de jitomate (*Solanum lycopersicum* Mill.). *Agro Productividad*, 10(7), 88-93.

- Finlay, R. D. (2008). Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of experimental botany*, 59(5), 1115-1126. doi.org/10.1093/jxb/ern059
- Frobisher, M. (1969): Microbiología. (Ed.), Ciencia y Técnica. La Habana: Cuba.
- Fryxell, P. A. (1993). *Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán: Malvaceae AL Juss. Fascículo 1.* (Ed.) Universidad Nacional Autónoma de México. D.F: México.
- Fuller, D. Q. (2003). African crops in prehistoric South Asia: a critical review. *Food, fuel and fields: Progress in African archaeobotany*, 23(2), 239-271.
- García, F., Muñoz, H., Carreño, C., & Mendoza, G. (2010). Caracterización de cepas nativas de *Azospirillum* spp. y su efecto en el desarrollo de *Oryza sativa* L. "arroz" en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria*, 1(2), 107-116. doi.org/10.17268/sci.agropecu.2010.02.01
- García-Esquivel, G., Calva-Calva, G., Ferrera-Cerrato, R., Fernández-Linares, L. C., Vázquez, R. R., & Esparza-García, F. J. (2009). Encystment of *Azotobacter nigricans* grown diazotrophically on kerosene as sole carbon source. *Archives of microbiology*, 191, 275-281.
- Garrity, G. M., Brenner, D. J., Krieg, N. R., & Staley, J. T. (2005). *The Proeobacteria: Part C the Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria.* (Eds.) Springer.US.
- Gauri, S. S., Mandal, S. M., Mondal, K. C., Dey, S., & Pati, B. R. (2009). Enhanced production and partial characterization of an extracellular polysaccharide from newly isolated *Azotobacter* sp. SSB81. *Bioresource technology*, 100(18), 4240-4243.
- Gray, E. J., & Smith, D. L. (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil biology and biochemistry*, 37(3), 395-412.
- Guadarrama-Chávez P., Sánchez-Gallén I., Álvarez-Sánchez J., & Ramos-Zapata J. (2004). Hongos y plantas: beneficios a diferentes escalas en micorrizas arbusculares. *Ciencias*, 73, 38-45.
- Guilliams, C. M. (2019). Reconsidering northern and southern taxa of island mallow (*Malva assurgentiflora*, Malvaceae) and their conservation status on the California Channel Islands. *Phytoneuron*. ISSN 2153 733X.
- Hartmann, A., & Bashan, Y. (2009). Ecology and application of *Azospirillum* and other plant growth-promoting bacteria (PGPB)-special issue. *European Journal of Soil Biology*, 45(1), 1-2. doi.org/10.1016/j.ejsobi.2008.11.004
- Henao, M. D. V., & Castillo, H. G. C. (2021). Aportes del análisis de AB Frank para la enseñanza de las micorrizas. *Epistemología e Historia de la Ciencia*, 5(2), 20-41.

- Hernández, W., & Salas, E. (2009). La inoculación con *Glomus fasciculatum* en el crecimiento de cuatro especies forestales en vivero y campo. *Agronomía costarricense*, 30(1), 17-30. doi.org/10.15517/rac.v33i1.6732
- Hernández, Y., Sarmiento, M., & García, O. (1996). Influence of the *Azospirillum* inoculation model on grass performance. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 30, 219-226.
- Heuzé, V., Tran, G., Sauvant, D., Renaudeau, D., Bastianelli, D., Lebas, F. (2016). *Lablab* (*Lablab purpureus*). Feedipedia, a programme by INRAE, CIRAD, AFZ and FAO. Sitio web : <https://www.feedipedia.org/node/297> [09/06/2024].
- Hill, S. R. (2012), *Malva assurgentiflora*, in Jepson Flora Project (eds.) *Jepson eFlora*, Jepson Herbarium. Sitio web: https://ucjeps.berkeley.edu/eflora/eflora_display.php?tid=89039. [19/05/2024].
- IASRI. (2023). Origin, area, production, varieties, package of practices for hyacinth bean. Sitio web: <http://ecoursesonline.iasri.res.in/Courses/Production%20Technology%20of%20Vegetables%20&%20Flowers/HORT281/Data%20Files/lec20.html> [12/06/2024].
- Jardin, P. D. (2015). Bioestimulantes vegetales: Definición, concepto, principales categorías y regulación. *Scientia Horticultirae*, 6, 3-14.
- Jiang, X., Li, H., Wang, T., Peng, C., Wang, H., Wu, H., & Wang, X. (2012). Gibberellin indirectly promotes chloroplast biogenesis as a means to maintain the chloroplast population of expanded cells. *The Plant Journal*, 72(5), 768-780. doi.org/10.1111/j.1365-313X.2012.05118.x
- Jiménez-Arias, D., Hernández, A. E., Morales-Sierra, S., García-García, A. L., García-Machado, F. J., Luis, J. C., & Borges, A. A. (2022). Applying biostimulants to combat water deficit in crop plants: research and debate. *Agronomy*, 12(3), 571. doi.org/10.3390/agronomy1203057
- Juárez Zebadúa, U. F. (2017). *Potencial forrajero de Juanito (Lavatera assurgentiflora Kellogg)*. (Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma Chapingo, México). Consultada en: <https://repositorio.chapingo.edu.mx/items/7675fbd7-d1ef-4143-ba87-db5550436093>
- Kennedy, C., Rudnick, P., MacDonald, M., & Melton, T. (2005) Genus III: *Azotobacter*. En: Garrity GM (ed) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second edition. Vol. Two. The Proteobacteria. Part B. The Gammaproteobacteria. Springer, New York, pp 384-402.
- Khan, A., Singh, A. V., Gautam, S. S., Agarwal, A., Punetha, A., Upadhyay, V. K., & Goel, R. (2023). Microbial bioformulation: a microbial assisted biostimulating fertilization technique for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1270039. doi.org/10.3389/fpls.2023.1270039

- Kumar Bhuyan, S., Bandyopadhyay, P., Kumar, P., Kumar Mishra, D., Prasad, R., Kumari, A., ... & Kumar Yadava, P. (2015). Interaction of *Piriformospora indica* with *Azotobacter chroococcum*. *Scientific Reports*, 5(1), 13911.
- Kurdish, I. K., Bega, Z. T., Gordienko, A. S., & Dyrenko, D. I. (2008). The effect of *Azotobacter vinelandii* on plant seed germination and adhesion of these bacteria to cucumber roots. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 44, 400-404. doi.org/10.1134/S000368380804011X
- León González, Y., Hernández Martínez, J. M., Rodríguez López, N., & Martínez Viera, R. (2012). Aplicación de *Azotobacter chroococcum* en la producción de plántulas de tabaco negro. *Cultivos tropicales*, 33(2), 29-32.
- Lull, G. B. (1910). State board of forestry. Circular N° 2. The Forest Service, U. S. Dept. Agriculture. Sacramento California. Sitio Web: <https://foresthistory.org/research-explore/us-forest-service-history/collection-database/by-title/> [28/06/2024].
- Mahato, P., Badoni, A., & Chauhan, J. S. (2009). Effect of *Azotobacter* and nitrogen on seed germination and early seedling growth in tomato. *Researcher*, 1(4), 62-66.
- Mankar, M. K., Sahay, S., & Gothawa, R. (2020). Potential of *azotobacter* in sustainable agriculture. *Journal of Advanced Scientific Research*, 11(6), 01-09.
- Mantilla, C. L., Anaya, M. V., & Zumaqué, L. E. O. (2007). Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos. Córdoba, Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 9(2), 6-14.
- Manzo, J., Cocotl-Yañez, M., Tzontecomani, T., Martínez, V. M., Bustillos, R., Velásquez, C., & Castañeda, M. (2012). Post-transcriptional regulation of the alginate biosynthetic gene *algD* by the Gac/Rsm system in *Azotobacter vinelandii*. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 21(3-4), 147-159. doi.org/10.1159/000334244
- Medina Cano, C. I., Lobo Arias, M., Castaño Colorado, Á. A., & Cardona, L. E. (2015). Análisis del desarrollo de plantas de mortiño (*Vaccinium meridionale* Swart.) bajo dos sistemas de propagación: clonal y sexual. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 16(1), 65-77.
- Miranda-Medina, A., Peralta-Peláez, L., González-Valdés, A., García-Hernández, M., & Sánchez-García, M. (2008). Diseño de una planta productora de ácido alginico y alginatos a partir de *Azotobacter vinelandii*. *Tecnología, Ciencia, Educación*, 23(2), 91-98.
- Missouri Botanical Garden. (1893). *Missouri botanical garden*. Board of Trustees. Sitio web: <https://www.missouribotanicalgarden.org/about/additional-information/board-of-trustees> [11/06/2024].
- Mora, A. N., & Leblanc, H. (2012). Evaluación del uso de micorrizas arbusculares para disminuir la aplicación de fertilizantes fosforados en el cultivo del maíz. *Tierra Tropical*, 8(2), 245-255. doi.org/ 10.13140/RG.2.1.1345.2002

- Mrkovacki, N., & Milic, V. (2001). Use of *Azotobacter chroococcum* as potentially useful in agricultural application. *Annals of Microbiology*, 51(2), 145-158.
- Noar, J. D., & Bruno-Bárcena, J. M. (2018). *Azotobacter vinelandii*: the source of 100 years of discoveries and many more to come. *Microbiology*, 164(4), 421-436. doi.org/10.1099/mic.0.000643
- Nord, A., Miller, N. R., Mariki, W., Drinkwater, L., & Snapp, S. (2020). Investigating the diverse potential of a multi-purpose legume, *Lablab purpureus* (L.) Sweet, for smallholder production in East Africa. *PloS one*, 15(1), 22-77. doi.org/10.1371/journal.pone.0227739
- Ochoa, M. S., Madrigal, R. P., Martínez, M. T., & Carreón, A. (2010). Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones. *Biológicas*, 12(1), 65-71.
- Ochoa, S., & Sambrano, G. (2009). Efecto de la inoculación de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) sobre la absorción de nutrientes en banano y su relación con el nematodo *Radopholus similis*. (Tesis de Licenciatura, Universidad EARTH, Costa Rica). Consultada en: <https://repositorio.earth.ac.cr/items/a421fe7b-f887-4901-afd0-1618f23880ef>
- Okon, Y., Heytler, P. G., & Hardy, R. W. F. (1983). N₂ fixation by *Azospirillum brasilense* and its incorporation into host *Setaria italica*. *Applied and Environmental Microbiology*, 46(3), 694-697. doi.org/10.1128/aem.46.3.694-697.1983
- Parra, Y. (2002). Revisión bibliográfica Potencialidades de *Azospirillum* como inoculante para la agricultura. *Cultivos tropicales*, 23(3), 31-41.
- Patten, C. L., & Glick, B. R. (2002). Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and environmental microbiology*, 68(8), 3795-3801. doi.org/10.1128/AEM.68.8.3795-3801.2002
- Penfield, S. (2017). Seed dormancy and germination. *Current Biology*, 27(17), 874-878.
- Pereyra, M. A., Ballesteros, F. M., Creus, C. M., Sueldo, R. J., & Barassi, C. A. (2009). Seedlings growth promotion by *Azospirillum brasilense* under normal and drought conditions remains unaltered in Tebuconazole-treated wheat seeds. *European journal of soil biology*, 45(1), 20-27. doi.org/10.1016/j.ejsobi.2008.09.015
- Perrig, D., Boiero, M. L., Masciarelli, O. A., Penna, C., Ruiz, O. A., Cassán, F. D., & Luna, M. V. (2007). Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. *Applied microbiology and biotechnology*, 75, 1143-1150.
- Philbrick, R. N. (1972). The plants of Santa Barbara Island, California. *Madrono*, 21(5), 329-393.

- Raghu, B.R., Samuel, D.K., Mohan, N. and Aghora, T. S. (2018). Dolichos bean: an underutilized and unexplored crop with immense potential. *International Journal of Recent Advances in Multidisciplinary Research*, 5(12), 4338-4341.
- Rangaiah, D. V., & Dsouza, M. (2016). Hyacinth bean (*Lablab purpureus*): An adept adaptor to adverse environments. *Legume Perspectives*, 13, 20.
- Ray, M. F. (1998). New combinations in *Malva* (Malvaceae: Malveae). *Novon*, 8(3), 288-295.
- Ricalde, S. L. C. (2001). Some biological aspects of the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (68), 15-32.
- Ricalde, S. L. C. (2002). Dispersal, distribution and establishment of arbuscular mycorrhizal fungi: a review. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (71), 33-44.
- Rodríguez, Y. S., Martínez, J. A., & Cruz, A. G. (2021). Los bioestimulantes. Una alternativa para el desarrollo agroecológico cubano. *Ecovida: Revista científica sobre diversidad biológica y su gestión integrada*, 11(3), 225-249.
- Romero, Y. L. C., Baños, Y. S., & Izquierdo, E. M. (2017). Efecto de la inoculación de *Rhizobium* sobre el crecimiento de *Phaseolus vulgaris* (frijol) en condiciones semicontroladas. *Avances*, 19(1), 66-74.
- Sadoff, H. L. (1975). Encystment and germination in *Azotobacter vinelandii*. *Bacteriological reviews*, 39(4), 516-539.
- Saeed, K. S., Ahmed, S. A., Hassan, I. A., & Ahmed, P. H. (2015). Effect of bio-fertilizer and chemical fertilizer on growth and yield in cucumber (*Cucumis sativus*) in green house condition. *Pak J Biol Sci*, 18(3), 129-134.
- Saha, J., Saha, B. K., Pal Sarkar, M., Roy, V., Mandal, P., & Pal, A. (2019). Comparative genomic analysis of soil dwelling bacteria utilizing a combinational codon usage and molecular phylogenetic approach accentuating on key housekeeping genes. *Frontiers in microbiology*, 10, 2896.
- Salvage, R., Cannon, T., Kingsmill, P., Liu, F., & Fleming, C. C. (2024). A complex biostimulant based on plant flavonoids enhances potato growth and commercial yields. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8, 01-12. doi.org/10.3389/fsufs.2024.1368423
- Santillana, N., Arellano, C., & Zúñiga, D. (2005). Capacidad del *Rhizobium* de promover el crecimiento en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* miller). *Ecología Aplicada*, 4 (1-2), 47-51.
- Sethi, S. K., & Adhikary, S. P. (2012). *Azotobacter*: a plant growth-promoting rhizobacteria used as biofertilizer. *Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology*, 6(1), 68-74.
- Sheahan, C. M. (2012). Plant guide for lablab (*Lablab purpureus* L.). USDA-

- Natural Resources Conservation Service, Cape May Plant Materials Center. *Cape May*, 8210, 245-288.
- Singh, A., & Abhilash, P. C. (2019). Varietal dataset of nutritionally important *Lablab purpureus* (L.) sweet from Eastern Uttar Pradesh, India. *Data in brief*, 24, 01-10. doi.org/10.1016/j.dib.2019.103935
- Sivasakthivelan, P., & Saranraj, P. (2013). Azospirillum and its formulations: a review. *International Journal of Microbiological Research*, 4(3), 275-287.
- Smith, R. S. (1992). Legume inoculant formulation and application. *Canadian journal of microbiology*, 38(6), 485-492. doi.org/10.1139/m92-080
- Steenhoudt, O., & Vanderleyden, J. (2000). *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS microbiology reviews*, 24(4), 487-506. doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00552.x
- Sumbul, A., Ansari, R. A., Rizvi, R., & Mahmood, I. (2020). Azotobacter: A potential bio-fertilizer for soil and plant health management. *Saudi journal of biological sciences*, 27(12), 3634-3640. doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.08.004
- Tahiri, H., El Amraoui, K., El Oihabi, M., & Khadmaoui, A. (2024). Effect of biostimulants on growth and production parameters of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivated under North African climate. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 23, 384-391. doi.org/10.1016/j.jssas.2024.03.007
- Torgovitsky, C. (2017). Home Ground Habitats. Sitio Web: <http://www.homegroundhabitatnursery.org/plants/malva-lavatera-assurgentiflora>. [27/05/2024].
- Torriente, D. (2010). Aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de la caña de azúcar. Perspectivas de su uso en Cuba. *Cultivos Tropicales*, 31(1), 19-26.
- Valor, O., & Sánchez, J. (2003). Brotación, fertilidad de brotes laterales y ubicación del racimo en el cultivar de vid tucupita en condiciones tropicales. *Bioagro*, 15(3), 193-200.
- Van der Wal, R. (2006). The management of tree mallow and puffin habitat on Craigleith: a first proposal. *Centre for Ecology & Hydrology*, 11, 01-12.
- Van Dersal, W. R. (1938). *Native woody plants of the United States: their erosion-control and wildlife values* (303th ed.). U.S.: Government Printing Office.
- Vazallo, S. N., Ramírez, L. T., Carranza, L. T., García, B. Z., & Bernilla, B. S. (2013). Efecto de la inoculación de *Rhizobium etli* y *Trichoderma viride* sobre el crecimiento aéreo y radicular de *Capsicum annum* var. longum. *Revista Rebiolest*, 1(1), 11-21.
- Volpiano, C. G., Lisboa, B. B., São José, J. F. B. D., Beneduzi, A., Granada, C. E., & Vargas, L. K. (2022). Soil-plant-microbiota interactions to enhance

plant growth. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 46, 01-20.
doi.org/10.36783/18069657rbc20210098

- Wright, S. F., & Upadhyaya, A. (1996). Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil science*, 161(9), 575-586.
- Yakhin, O. I., Lubyantsev, A. A., Yakhin, I. A., & PH, H. B. (2017). Bioestimulantes en ciencias de las plantas: una perspectiva global. *Rev. Frontiers in Plant. Science*, 7(2049), 1-36.

3. EFECTO DE LOS BIOESTIMULADORES DE CRECIMIENTO EN LA FASE INICIAL EN JUANITO Y ZARANDAJA

3.1 Resumen

Los bioestimuladores de crecimiento vegetal han promovido en varios cultivos un crecimiento inicial más vigoroso. El objetivo de la investigación fue analizar el crecimiento inicial por trasplante en juanito y siembra en zarandaja al aplicar microorganismos bioestimuladores, para generar un banco de información sobre opciones para asegurar un establecimiento exitoso de forrajeras. En juanito se (*Lavatera assurgentiflora* Kellogg) se aplicaron 4 tratamientos: *Azospirillum*®, *Azotobacter*®, Micorriza® y testigo; en zarandaja (*Lablab purpureus* L) se aplicaron 3 tratamientos: *Rhizobium*®, *Rhizobium*®+Micorriza®, y testigo. En ambos las variables fueron: número de hojas y ramificaciones, altura de la planta, diámetro del fuste principal, biomasa aérea y radical y volumen radical; en zarandaja otras variables fueron: número y diámetro de nódulo y perfil de nodulación. El diseño experimental fue completamente al azar, con 5 y 7 repeticiones para Juanito y zarandaja, respectivamente. En ambos, la unidad experimental fue una planta, trasplantada para juanito y sembrada para zarandaja. La inoculación fue a raíz. El seguimiento fue por 3 meses, luego del trasplante o siembra. Las variables se midieron semanalmente. Para las variables de raíz se eligieron al azar dos plantas, ya que fueron mediciones destructivas. El análisis estadístico fue por análisis de varianza de las tasas diarias de cambio de las variables estimadas por regresión lineal. Juanito con *Azospirillum* aumentó 6, 5.9 y 2.5 veces la masa radical y aérea y la tasa diaria de aparición de hojas, respectivamente. En zarandaja con *Rhizobium* incrementó en 1.2, 1.7, 1.9 y 4 veces más las tasas diarias de cambio de diámetro de fuste, altura, hojas y ramificaciones, respectivamente, así también, incrementó en 2.8, 3.2, y 8.2 veces más el volumen y peso aéreo y raíz, respectivamente. El crecimiento inicial puede ser influido positivamente por el uso de microorganismos bioestimuladores.

Palabras clave: tasa diaria de la aparición de hojas, altura de la planta, diámetro de fuste.

Tesis de Maestría en Ciencias en Innovación Ganadera, Posgrado en Producción Animal,
Universidad Autónoma Chapingo
Autor: José Marcelo Herrera Castellano
Director de Tesis: Enrique Cortés Díaz

3.2 Abstract

Plant growth biostimulators have been used to promote initial growth in many crops. The objective of the research was to analyze initial growth in Juanito (transplant) and Dolichos (sown) when bioestimulator microorganisms are applied to generate information on alternatives to achieve successful forage establishment. Four treatments were compared in Juanito (*Lavatera assurgentiflora* Kellogg): *Azospirillum*®, *Azotobacter*®, *Micorriza*®, and control; in dolichos (*Lablab purpureus* L) three treatments were tested: *Rhizobium*®, *Rhizobium*®+*Micorriza*®, and control. For both, the variables measured were leaf and branch number, plant height, main stem diameter, aerial and root biomass, and root volumen; for Dolichos, additional variables were nodule number, diameter, and nodulation profile. A complete randomized design was applied, with five and seven replications for Juanito and Dolichos, respectively. For both, the experimental unit was one plant, a Juanito transplant, and a Dolichos sown. Inoculation was at the root level. Variables were measured every week for three months in a row. Root variables were done on two randomly selected plants, which were destructive measurements. Statistical analyses were done by analysis of variance in daily rate changes in variables measured and calculated by linear regression. Juanito plus *Azospirillum* showed 6, 5.9, and 2.5 times more root, aerial biomass, and daily leaf emergence rate, respectively, than control plants. For Dolichos, *Rhizobium* increased 1.2, 1.7, 1.9, 42.8, 3.2, and 8.2 times more daily change rates in main stem diameter, plant height, leaf appearance and branching, root volume, and aboveground and root weight, respectively, than control plants. Microorganism biostimulators could positively influence on the initial growth of forage species.

Keywords: daily leaf emergence rate, plant height, stem diameter.

Master Thesis in Livestock Innovation, Graduate Program in Animal Production, Universidad Autónoma Chapingo
Author: José Marcelo Herrera Castellano
Advisor: Enrique Cortés Díaz

3.3 Introducción

La utilización de bioestimuladores de crecimiento es una opción viable para el establecimiento de cultivos forrajeros, por la simbiosis que desarrollan los microorganismos con las plantas y el benéfico mutuo que obtienen, permitiendo un crecimiento robusto de los cultivos (Plana-Llerena et al., 2016).

Estos bioestimuladores son importantes en los cultivos forrajeros como juanito y zarandaja, mejorando el número de hojas, altura de la planta y otras características que determinan el crecimiento inicial, por consecuencia se logra mejorar su rendimiento entre un 27 a 30 %, esto permite tener mayor disposición de forraje destinado a la alimentación animal (Corbera & Nápoles, 2013). Sin embargo, la aplicación de bioestimuladores puede condicionar el desarrollo óptimo de los cultivos, si el bioestimulador no realiza una simbiosis adecuada para proporcionar los beneficios que esto conllevaría. Comúnmente el establecimiento de cultivos forrajeros en suelos pobres o degradados con condiciones climáticas cambiantes limita la capacidad de prosperar dichos cultivos. Bajo esta premisa de condiciones poco favorables para establecer los cultivos forrajeros, existe la necesidad de buscar fuentes alternativas para solucionar este problema.

Por otro lado, los hongos y bacterias habitan en todo el planeta, se estima que solo se conoce alrededor del 0.1 al 10 %, estos tienen la capacidad de formar simbiosis con las plantas para su beneficio mutuo (Torsvik & Øvreås, 2002), lo que los convierte en una fuente sostenible de bioestimuladores de crecimiento en los cultivos de juanito y zarandaja. Además, son una alternativa para mejorar la estructura del suelo y la fijación de nitrógeno, lo cual promueve el reciclaje de nutrientes. Sin embargo, los bioestimuladores de crecimiento inicial han sido evaluados en cultivos como soya, alfalfa, avena, chile, lechuga tomate, así como en frutales y ornamentales, pero no en los cultivos que se proponen en el presente estudio.

El objetivo de la investigación fue analizar el crecimiento inicial por trasplante en juanito y siembra en zarandaja al aplicar microorganismos bioestimuladores, para generar un banco de información sobre el potencial de dichos microorganismos en asegurar un establecimiento exitoso de forrajeras en menor tiempo.

3.4 Materiales y métodos

3.4.1 Área de estudio

El experimento se llevó a cabo entre mayo y septiembre de 2024 en la parcela J-14 del Campo Experimental Lomas de San Juan, de la Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, estado de México a 19° 30' 5'' N y 98° 51' 28'' O y 2337 msnm, en la región norte-oriental de la Cuenca del Valle de México (García, 2004). López-Santiago et al. (2008) indican para la zona un clima templado subhúmedo moderadamente lluvioso, temperatura media anual de 17.8 ° C con poca oscilación térmica, precipitación promedio anual de 596 mm, con la máxima lluvia en julio y la mínima en enero. Presenta una evaporación potencial que va de los 900 a 2300 mm al año (CONAGUA, 2015).

3.4.2 Plantas y bioestimuladores

Se utilizaron plántulas de juanito (*Lavatera assurgentiflora* Kellogg) trasplantadas y siembra directa de semillas de zarandaja (*Lablab purpureus* L). Se emplearon cuatro tipos de bioestimuladores de crecimiento pertenecientes a la casa comercial Nocon S.A., siendo estos *Rhizobium*®, *Azotobacter*®, *Azospirillum*®, los cuales son bacterias promotoras de crecimiento y fijación de nitrógeno, así como también, Micorriza® que forma una asociación simbiótica entre las raíces de plantas y las hifas.

3.4.3 Preparación, tratamientos y aplicación

Previo al trasplante y siembra, se realizó la medición de la parcela para la distribución de las plantas con la ayuda de una cinta de fibra de vidrio Toolcraft®, así también, la preparación del terreno, donde se desmalezó con la ayuda de un

azadón marca Truper®, el trasplante y siembra se realizó con la ayuda de una pala escarramán marca Truper®, posterior a esto se colocaron las identificaciones para cada tratamiento.

Los tratamientos que se aplicaron a zarandaja fueron *Rhizobium*, *Rhizobium* más Micorriza, y el testigo, se utilizaron cinco plantas por tratamiento. Para juanito se aplicaron cuatro tratamienotos *Azospirillum*, *Azotobacter*, Micorriza, y el testigo, con cinco plantas por tratamiento, donde cada planta es una unidad experimental. La aplicación de los tratamientos fue a los 10 días del trasplante y emergencia respectivamente, en forma de drench (“mojado” o disuelto), donde para cada tratamiento se disolvió 2 ml L⁻¹, de los cuales se tomaron 10 ml con la ayuda de una jeringa graduada y se realizó la inoculación en la basa de cada planta (raíz), se repitió la aplicación de los tratamientos cada mes.

3.4.4 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cinco y siete repeticiones por tratamiento para juanito y zarandaja, respectivamente, donde cada planta fue una unidad experimental, con separación de un metro entre plantas.

3.4.5 Variables evaluadas

Las variables que se evaluaron fueron diámetro de tallo, número de hojas y ramificaciones, altura de la planta, volumen y peso de raíz. Para medir el diámetro del tallo se usó un Vernier marca Stainless Hardened® a razón de 3 cm desde la base del suelo. La cuantificación de número de hojas y ramificaciones se realizó de forma visual para cada planta. Altura de planta se midió desde la base del suelo hasta la copa de la planta con la ayuda de una cinta métrica marca Toolcraft®. Todas las mediciones se realizaron semanalmente luego de la primera aplicación de los tratamientos.

El volumen y peso base seca de raíz se realizó con un análisis destructivo el cual consistió en retirar dos plantas por tratamiento, para ello se humedeció la base

del suelo donde se encontraba la planta y con la ayuda de una pala marca Truper®, se procedió a retirarla conservando toda su raíz con residuos de suelo, posteriormente se llevó al laboratorio donde se lavaron las raíces retirando cuidadosamente todo el residuo, para el volumen de raíz se empleó un matraz graduado de capacidad 1000 ml marca Pirex®, donde se colocó agua hasta 900 ml, luego se introdujo la raíz de cada planta y se cuantificó el volumen desplazado por la masa radical. Para el peso base seca se separaron raíz y aérea, se colocaron en bolsas de papel número 16, posterior se introdujo a la estufa marca Riossa® a una temperatura de 60 ° C durante 72 horas, se retiró y se pesó cada parte de la planta con la ayuda de una balanza marca Uline®. El conteo de número de nódulos se realizó de forma visual, el diámetro de los nódulos se tomaron las mediciones con la ayuda de un Vernier marca Stainless Hardened®, en los extremos más grandes de cada nódulo.

3.4.6 Manejo de datos y análisis estadístico

Los datos obtenidos en campo fueron transcritos al programa de Excel, se separó la información para cada cultivo, posterior se realizaron gráficas de los datos para cada una de las unidades experimentales tomando en cuenta los días de las mediciones y cada una de las variables analizadas, esto con el fin de observar las tendencias que se presentaron, para un mejor entendimiento de los datos y poder realizar los análisis respectivos.

Se utilizaron los datos tomados cada semana para hacer un análisis de regresión y calcular la tasa diaria de cambio en las variables de número de hojas y ramificaciones, diámetro del tallo y altura de la planta, empezando desde el día 10 al 101, donde el día 0 fue el de trasplante o siembra, a través de una regresión lineal bajo el modelo:

$$y = a + bx$$

Donde:

y: tasa diaria de cambio

a: valor al origen

b: tasa de cambio promedio, calculado por cuadrados mínimos

x: es el número de días desde el trasplante en el caso de juanito o siembra para zarandaja

Las tasas diarias de cambio fueron sujetas a un análisis de varianza (ANOVA) para los efectos de cada variable, bajo un diseño completamente al azar (DCA), con cinco y siete repeticiones para juanito y zarandaja, respectivamente, luego se realizó una separación de medias con una prueba de Tukey con ($p \leq 0.05$). El modelo que se utilizó fue:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : es la variable aleatoria que representa la respuesta de la j-ésima unidad experimental asignada al i-ésimo tratamiento.

μ : denota la media general de la población.

α_i : es el efecto del i-ésimo tratamiento sobre el promedio global.

ε_{ij} = Error aleatorio asociado a cada observación. $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$.

Por último, se realizó un análisis de correlación para determinar los coeficientes de Pearson ($Prob > |r|$).

3.5 Resultados y discusión

3.5.1 Juanito (*Lavatera assurgentiflora* Kellogg)

En el Cuadro 5 se presenta las tasas diarias de cambio en las cuatro variables medias y analizadas. De las cuatro variables solamente en la tasa diaria de aparición de hojas se encontró efecto ($p \leq 0.05$) del bioestimulador aplicado. El mayor valor se encontró con *Azospirillum* que fue 2.5 veces mayor la tasa diaria

de aparición de hojas que la de plantas sin bioestimulante. Sorpresivamente agregar micorriza dio el menor valor de tasa de aparición de hojas, pero no diferente a plantas sin bioestimulante.

Las tres variables que no mostraron efecto ($p \leq 0.05$) que fueron tasa diaria de ramificaciones, cambio de altura y diámetro del fuste, podría explicarse por la gran variabilidad que mostraron. Por ejemplo, la variación promedio en la tasa diaria de ramificaciones fue del 85 % de la media de los valores registrados mientras que en la tasa diaria de aparición de hojas la variación equivalió al 62 % de la media de los valores registrados.

Cuadro 5. Tasa diaria de cambio en variables asociadas al crecimiento inicial en juanito (*Lavatera assurgentiflora* Kellogg) con aplicación de un bioestimulador.

Bioestimulador	Variable asociada al crecimiento inicial			
	#hojas	#ramificaciones	altura (cm)	diámetro (mm)
Azospirillum	0.78 ^a	0.10	0.19	0.08
Azotobacter	0.55 ^{ab}	0.09	0.14	0.05
Micorriza	0.24 ^b	0.03	0.16	0.05
Sin	0.31 ^{ab}	0.07	0.19	0.06
Pr > F	0.042	0.340	0.799	0.240
EEM	±0.29	±0.06	±0.10	±0.03

^{a,b} medias dentro de igual columna con al menos una letra en común son iguales (Tukey, $\alpha=0.05$)

Los resultados obtenidos concuerdan con los reportados por Alvarado et al. (2011) donde la aplicación de FITOMAS-E® en una dosis de 4 ml L⁻¹ mejoró en 1.7 veces el número de hojas y área foliar en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.). Así mismo, estos resultados son similares a los reportados por Lemus-Soriano et al. (2021) donde la aplicación de Nutrisorb® L + Biofit® RTU en dosis de 3 ml + 5 g, respectivamente, mejoró en 1.7 veces en número de hojas en las plántulas de aguacate injertadas con la variedad Hass en patrón criollo. Pero estos incrementos pueden variar dependiendo del cultivo y el bioestimulador empleado. Quintero et al. (2018) reportaron incrementos del 1.3, 1.3, 1.2, 1.2, 1.1, para los bioestimuladores Biobras-16®, ME-50, ME agitado, Fitomas E, LEBAME, respectivamente, en el cultivo de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.).

Las variables que no presentaron efecto ($p \leq 0.05$), concuerdan con Baños et al. (2009) donde para la altura no se observó diferencia a la aplicación de ácido indolbutírico a una dosis de 1 ml L⁻¹ en el cultivo de *Murraya paniculata* L. Para el diámetro del tallo los resultados concuerdan con Quintero et al. (2018), donde las plántulas de aguacate tratadas con ME agitado, LEBAME y Biobras-16® no mostraron diferencias. Pero para el número de ramificaciones los resultados no concuerdan con los obtenidos por Aguilar y Pfefferkorn (2023) donde sí se observó un incremento de 1.07 veces con una aplicación de 150 ml ha⁻¹ en el cultivo de chía (*Salvia hispanica* L). Esto puede deberse a que la planta sacrificó el desarrollo de estas partes para enfocarla en el desarrollo de hojas y poder realizar la fotosíntesis siendo este un proceso vital para la conversión de materia inorgánica en materia orgánica, gracias a la energía que aporta la luz y así poder garantizar su crecimiento.

La tasa diaria de aparición de hojas que fue una variable influenciada por la aplicación de bioestimulador (Cuadro 5) mostro coeficientes positivos de correlación de altos a muy altos y todos significativos con las otras variables medidas y asociadas al crecimiento inicial de juanito, como tasa diaria de ramificaciones, incremento diario en altura e incremento diario del diámetro del fuste (Cuadro 6). Por lo que se puede indicar que el impacto de agregar *Azospirillum* sobre la tasa diaria de aparición de hojas se asoció con una tendencia a incrementar los valores de la tasa de ramificación e incremento en la altura y diámetro.

Cuadro 6. Coeficientes de correlación de Pearson y nivel de significancia (Prob > |r|) respectivo entre variables asociadas al crecimiento inicial de juanito (*Lavatera assurgentiflora* Kellogg).

Variable		Variable		
	#hojas	#ramificaciones	altura	diámetro
#hojas		0.9341	0.77728	0.89646
		<0.0001	<0.0001	<0.0001
#ramificaciones			0.77532	0.85676
			<0.0001	<0.0001
altura				0.90334

La tasa diaria de ramificación mostró una correlación alta y positiva con el incremento en altura y en diámetro, por lo que podría indicarse que promover la formación de ramas está asociada con incremento de altura y diámetro del tallo principal. El incremento en la altura también mostró un coeficiente de correlación muy alto con incremento en el diámetro, lo que asegura una mayor solidez en el crecimiento inicial de juanito (Cuadro 6).

Esta correlación concuerda con la reportada por Botero et al. (2019) en el cultivo de *Tithonia diversifolia*, donde las características de las hojas tienen una alta correlación con las demás características de crecimiento y productivas del cultivo, permitiendo su desarrollo y crecimiento.

En el Cuadro 7 se presenta las características de masa radical y aérea de juanito. De las tres variables dos presentaron efecto ($p \leq 0.05$) del bioestimulador aplicado. Siendo estas variables peso en base seco aéreo y raíz, el cual se encontró el mayor valor con *Azospirillum* que fue de 5.9 y 6 veces mayor, respectivamente. Para la relación de peso seco aéreo y raíz el mayor valor se encontró con la aplicación de *Azotobacter* que fue de 1.1 veces mayor al que no se aplicó bioestimulador.

Las variables que no mostraron efecto ($p \leq 0.05$) que fueron volumen y las relaciones entre peso seco raíz y aéreo con volumen, podrían explicarse por la variabilidad que mostraron. Siendo la variación promedio del 28, 22 y 19 % de la media de los valores registrados.

Cuadro 7. Características de masa radical y aérea variables asociadas al crecimiento inicial en juanito (*Lavatera assurgentiflora* Kellogg) con aplicación de un bioestimulador.

Bioestimulador	Variable asociada al crecimiento inicial ^z				
	volumen (ml)	peso seco aéreo (g)	peso seco raíz (g)	pa/pr	pa/vl pr/vl

Azospirillum	30.00	66.30 ^a	7.85 ^a	8.47 ^{ab}	2.21	0.26
Azotobacter	30.00	54.45 ^{ab}	5.60 ^{ab}	9.64 ^a	1.81	0.18
Micorriza	9.00	11.55 ^b	1.75 ^b	6.47 ^b	1.17	0.18
Sin	10.00	11.10 ^b	1.30 ^b	8.73 ^{ab}	1.06	0.12
Pr > F	0.030	0.017	0.018	0.047	0.051	0.150
EEM	±5.61	±11.53	±1.29	±0.72	±0.30	±0.04

^{a,b} medias dentro de igual columna con al menos una letra en común son iguales (Tukey, $\alpha=0.05$).

^z pa = peso aéreo; pr = peso radicular; vl = volumen.

Los resultados obtenidos concuerdan con los descritos por Padilla et al. (2020) con la aplicación de bioestimulantes y *Trichoderma harzianum* sobre el peso seco aéreo y raíz con un incremento del 88 y 64.3 %, respectivamente, en plántulas de maracuyá (*passiflora edulis sims*). Para la relación peso seco aéreo y raíz los resultados concuerdan con los reportados por Segovia et al. (2019) donde la aplicación de *Trichoderma* a razón de 3¹⁰ unidades formadoras de colonias (UFC), presentó una relación de 3.74 psa/psr reflejando este resultado en un mayor crecimiento y supervivencia de las plántulas de Caoba (*Swietenia macrophylla*). Estas variables pueden verse afectadas por el tipo de bioestimulador empleado, la dosis y el cultivo, así como lo menciona Borges et al. (2016) donde emplearon extractos vegetales de albahaca (*Ocimum basilicum*), chaya (*Cnidoscolus chayamansa*), malamadre (*Kalanchoe pinnata*), matarratón (*Gliricidia sepium*), poleo (*Melissa officinalis*), orégano (*Coleus amboinicus*) y sábila (*Aloe vera*), dando los mejor resultados para peso seco aéreo y raíz se dieron con orégano y matarratón incrementando en 2 y 3.5 veces su peso, respectivamente, influyendo en la relación de psa/psr.

Para las variables de volumen, relación peso aéreo y raíz sobre volumen, los resultados obtenidos no concuerdan con los reportados por Candellero et al. (2015), donde la aplicación de *Trichoderma harzianum* incrementó en un 55 % el volumen de la raíz en comparación del sin aplicación (0.12 ml) en plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense*), así también, estos resultados son similares a los reportados por Segovia et al. (2019), aplicar *Trichoderma* a dosis de 3¹⁰ UFC aumentó en un 69 % el volumen de la raíz Caoba (*Swietenia macrophylla*). Para el presente estudio esto se vio afectado debido que la planta priorizó el

crecimiento de hojas, por ende, no existió diferencia de los tratamientos en dicha variable, y por consecuencia no existió disimilitud para las relaciones de peso aéreo y raíz sobre volumen.

3.5.2 Zarandaja (*Lablab purpureus* L)

En zarandaja las cuatro variables evaluadas presentaron efecto ($p \leq 0.05$) del bioestimulador aplicado. Aplicar *Rhizobium* incrementó en 1.2, 1.7, 1.9 y 4 veces más las tasas diarias de cambio de diámetro de fuste, altura, hojas y ramificaciones, respectivamente (Cuadro 8).

Agregar *Rhizobium* con Micorriza ocasionó mejoría en el crecimiento inicial en comparación a plantas que no recibieron ningún bioestimulador, esta mejoría fue de 1.1, 1.2, 1.5 y 3.3 veces las tasas diarias de cambio en hojas, diámetro, altura y ramificaciones, respectivamente. Este patrón de respuesta colocó a la adición de *Rhizobium* con Micorriza en un lugar intermedio entre la adición exclusiva de *Rhizobium* y no adicionar ningún bioestimulador. Dejar a la zarandaja crecer en un suelo pobre como fue en este experimento, sin la adición de *Rhizobium*, puede ocasionar un pobre crecimiento inicial y hasta un posible fracaso en el establecimiento de esta.

Cuadro 8. Tasa diaria de cambio en variables asociadas al crecimiento inicial en zarandaja (*Lablab purpureus* L) con aplicación de un bioestimulador.

Bioestimulador ^z	Variable asociada al crecimiento inicial			
	#hojas	#ramificaciones	altura (cm)	diámetro (mm)
Rhizobium	1.29 ^a	0.12 ^a	0.64 ^a	0.06 ^a
Rhizo+Mico	1.14 ^b	0.10 ^b	0.55 ^b	0.06 ^a
Sin	0.67 ^c	0.03 ^c	0.36 ^c	0.05 ^b
Pr > F	<.0001	<.0001	<.0001	0.0002
EEM	±0.07	±0.01	±0.03	±0.006

^{a,b} medias dentro de igual columna con al menos una letra en común son iguales (Tukey, $\alpha=0.05$).

^z Rhizo+Mico, es la combinación de *Rhizobium* y Micorriza.

La respuesta de zarandaja a la aplicación de los tratamientos tuvo un efecto marcado en las variables de crecimiento, esto concuerda con Cabrera et al. (2022), donde la aplicación de extracto de *Clitoria ternatea* al 7 %, en el cultivo de

frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) tuvo un incremento en el número de hojas del 38 %, así también, para la altura presentó un incremento del 37 % y para el diámetro su incremento fue del 83 % con la aplicación de Giberelinas, estos datos en comparación sin aplicación de bioestimulante, 10 hojas, 40.6 cm, 14 mm, respectivamente. Para las ramificaciones los resultados concuerdan con los obtenidos por Garces y Medrano (2024), donde se incrementó 28 % (1.86, sin aplicación) el número de brotes con la aplicación de bioestimulante Bio Algas (65 ml 20L⁻¹), en el cultivo de pitahaya roja (*Hylocereus hybridum*).

La importancia de contribuir en la fase inicial de los cultivos presenta efectos positivos en el establecimiento de estos, se ve reflejado en el desarrollo y productividad, así como lo resalta García et al. (2023), donde para los cultivos de chile morrón (*Capsicum annuum*) y jitomate (*Solanum lycopersicum*), con la inoculación de bioestimulantes a base de cepas de *Trichoderma spp.* y *Bacillus spp.*, se obtuvieron efectos positivos en el diámetro, longitud y peso de frutos de chile morrón y para jitomate mejoro el tamaño y peso de frutos con un manejo mínimo. Así también, lo ratifica Corbera y Nápoles (2013), donde la aplicación de *Bradyrhizobium elkanii* y una cepa de hongos micorrízicos en una dosis de 10 mg L⁻¹ influyó positivamente en el crecimiento y rendimiento en un 27.22 y 29.75 %, respectivamente, en el cultivo de soya (*Glycine max* L.).

Todos los grados de cambio diario mostraron coeficientes de correlación positivos muy altos y significativos, lo que indica que todas estas variables tienen un patrón de respuesta de incremento en forma común (Cuadro 9).

Cuadro 9. Coeficientes de correlación de Pearson y nivel de significancia (Prob > |r|) respectivo, entre variables asociadas al crecimiento inicial de Zarandaja (*Lablab purpureus* L.).

Variable		Variable		
	#hojas	#ramificaciones	altura	diámetro
#hojas		0.91758	0.98710	0.95403
		<0.0001	<0.0001	<0.0001
			0.91163	0.85676
#ramificaciones			<0.0001	<0.0001

altura	0.95732
	<0.0001

La importancia de la tasa diaria de cambio y su alta correlación reportadas en esta investigación concuerdan con las reportadas con Cerda (2021) en el cultivo de Guapuruvú (*Schizolobium parahyba*) que al aumentar el número de hojas y altura se obtendrá mejores valores en el resto de las variables asociadas al crecimiento y desarrollo de dicho cultivo. Es por ello, que radica la importancia de mejorar esta variable para contribuir y garantizar el establecimiento del cultivo en la fase inicial de crecimiento.

En el Cuadro 10 se muestra las características de masa radical y aérea en zarandaja. Las tres variables evaluadas presentaron efecto ($p \leq 0.05$) del bioestimulador suministrado. Aplicar *Rhizobium* incrementó en 2.8, 3.2, y 8.2 veces más el volumen y peso base seco aéreo y raíz, respectivamente.

La aplicación de *Rhizobium* más Micorriza provocó un aumento en el crecimiento inicial en comparación a plantas que no recibieron ningún bioestimulador, este aumento fue de 2.2, 2.4 y 3.7 veces más el peso base seco aéreo, volumen y peso base seco de raíz, respectivamente. Este patrón de respuesta colocó a la adición de *Rhizobium* más Micorriza en un lugar intermedio que al no agregar bioestimulante para la variable peso base seco raíz, pero no diferente de la adicción exclusiva *Rhizobium* para las otras dos variables. Que zarandaja crezca en un suelo con las condiciones que presentó este experimento, sin la adición de *Rhizobium* o *Rhizobium* más Micorriza, puede provocar un escaso crecimiento inicial e inclusive el no establecimiento del cultivo.

Cuadro 10. Características de masa radical y aérea variables asociadas al crecimiento inicial en zarandaja (*Lablab purpureus* L) con aplicación de un bioestimulador.

Bioestimulador ^z	Variable asociada al crecimiento inicial ^y
-----------------------------	---

	volumen (ml)	peso seco aéreo (g)	peso seco raíz (g)	pa/pr	pa/vl	pr/vl
Rhizobium	10.00 ^a	27.50 ^a	2.90 ^a	9.48 ^b	2.75	0.29 ^a
Rhizo+Mico	8.50 ^a	18.70 ^a	1.30 ^b	14.56 ^b	2.21	0.15 ^{ab}
Sin	3.50 ^b	8.50 ^b	0.35 ^c	24.58 ^a	2.50	0.10 ^b
Pr > F	0.003	0.024	0.001	0.014	0.676	0.027
EEM	±0.57	±3.33	±0.16	±2.22	±0.56	±0.03

^{a,b} medias dentro de igual columna con al menos una letra en común son iguales (Tukey, $\alpha=0.05$).

^z Rhizo+Mico, es la combinación de *Rhizobium* y Micorriza.

^y pa = peso aéreo; pr = peso radicular; vl = volumen.

La masa aérea y radical junto con el volumen tuvieron un efecto positivo a la aplicación de los tratamientos, los resultados hallados concuerdan con los señalados por Garces y Medrano (2024), donde se incrementó 2.3 y 2, veces el volumen radical y su peso seco, respectivamente, en el cultivo de pitahaya roja (*Hylocereus hybridum*). Resultados similares fueron reportados por Cabrera et al. (2022), en el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) donde se incrementó en 1.5 y 26.7 veces el volumen radical y peso seco, respectivamente, con la aplicación del extracto de *Clitoria ternatea* al 7 %. Así también, lo menciona Márquez et al. (2024) que la aplicación de extracto *Samanea saman* 10 % *Aloe vera* 6 % *Moringa oleifera* 4 %, mejoró en un 54 % el volumen radical en plántulas de *Nicotiana tabacum* L. var. "Corojo 2012", también, lo confirma García et al. (2020) al emplear extracto de *Aloe vera* 6 % en plántulas de plátano obtuvo resultados superiores en comparación sin ninguna aplicación. Es por lo que, al mejorar las características de la masa radical y aérea, se mejora sus relaciones entre ellas, permitiendo a la planta un crecimiento vigoroso y por consiguiente un desarrollo óptimo para su establecimiento.

Las variables que no mostraron efecto ($p \leq 0.05$) que fueron número de nódulos y perfil de nodulación, podría explicarse por la gran variabilidad que mostraron. Por ejemplo, la variación promedio del perfil de nodulación y número de nódulos fue de 15 y 106 %, respectivamente, de la media de los valores registrados (Cuadro 11).

Cuadro 11. Perfil de nodulación y numero de nódulos variables asociadas al crecimiento inicial en zarandaja (*Lablab purpureus* L) con aplicación de un bioestimulador.

Bioestimulador ^z	Variables asociadas al crecimiento inicial	
	#nódulos	Perfil nodulación (cm)
<i>Rhizobium</i>	15.5	12
Rhizo+Mico	7.5	17.5
Sin	1.5	-
Pr > F	0.389	0.067
EEM	±8.66	±1.50

^{a,b} medias dentro de igual columna con al menos una letra en común son iguales (Tukey, $\alpha=0.05$).

^z Rhizo+Mico, es la combinación de *Rhizobium* y Micorriza.

Los resultados obtenidos para el numero de nódulos concuerdan con los reportados por González (2016) donde no existió diferencia significativa al aplicar Quitomax® a una concentración de 100 y 500 mg L⁻¹ en el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Pero estos resultados discrepan de los señalados por Corbera y Nápoles (2013), donde la aplicación de *Bradyrhizobium elkanii* y una cepa de hongos micorrízicos en una dosis de 10 mg L⁻¹ aumentó el número de nódulos y su masa seca de nódulos en 3.4 y 6.2 veces, respectivamente, en el cultivo de soya (*Glycine max* L.). Asimismo, este autor menciona que al aplicar micorrizas proporciona un mayor efecto sobre las bacterias de rizobios, dando como consecuencia un aumento en el número de nódulos, masa seca y perfil de nodulación de este.

Así se puede observar que para esta investigación existió una tendencia a mejorar estas características, donde la raíz más larga pertenece al tratamiento de *Rhizobium*, la siguiente pertenece al tratamiento de Rhizo+Mico y la última sin aplicación (Figura 9), es por lo que la planta se vio beneficiada al asegurar el aporte de nitrógeno atmosférico mediante el proceso de fijación simbiótica, y con ello facilitar un crecimiento inicial vigoroso.



Figura 9. Perfil de nodulación y número de nódulos

En el Cuadro 12 se muestra la longitud máxima de nódulos en zarandaja. La variable evaluada presentó efecto ($p \leq 0.05$) del bioestimulador suministrado. Donde aplicar *Rhizobium* incrementó en 14 veces más la longitud del nódulo en comparación sin aplicación.

Cuadro 12. Longitud máxima promedio de nódulos en zarandaja (*Lablab purpureus* L) con y sin aplicación de bioestimuladores.

Bioestimulador ^z	Longitud del nódulo (mm)
<i>Rhizobium</i>	9.70 ^a
RM	2.97 ^b
Sin	0.69 ^b
EEM	1.94

^{a,b} medias dentro de igual columna con al menos una letra en común son iguales (Tukey, $\alpha=0.05$).

^z RM, combinación de *Rhizobium* y Micorriza.

La diferencia documentada en esta variable concuerda con la descrita por Lara-Acosta et al. (2024) donde la aplicación de Pectimorf® en una concentración de 100 mg L⁻¹ a semillas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) mostro un incremento del 40 % en el proceso de nodulación, influyendo en la masa seca total de nódulos y su diámetro; esto contribuyo al crecimiento y desarrollo de la planta, así como, a la fijación de nitrógeno. La relación que existe entre las

leguminosas y las bacterias de *Rhizobium* son beneficiosas como para las plantas y los agricultores ya que poseen tasas de fijación de nitrógeno estimadas en 50-465 kg de nitrógeno ha⁻¹ año⁻¹, así también, mejoran el acceso a otros nutrientes, potencializa la resistencia a patógenos, plagas y el estrés abiótico que se pueda generar (Pérez & Gil, 2016).

3.6 Conclusiones

En juanito y zarandaja el crecimiento inicial puede manipularse mediante la aplicación de microorganismos bioestimuladores.

El uso de los microorganismos bioestimuladores puede ser una herramienta útil en el establecimiento de forrajeras en suelos pobres, ayudando a mejorar su estructura y por ende las propiedades para sostener una vegetación saludable.

3.7 Literatura citada

- Aguilar, E. G., & Pfefferkorn, E. O. (2023). Comportamiento productivo de la chíá salvia hispánica I. por efecto de la densidad de siembra y aplicación de bioestimulantes en el distrito de coronel oviedo. *Revista Informativa del III Jornada de socialización científica Producción Vegetal y Animal ambientalmente Sostenible*, 1, 6-11.
- Alvarado, K., Blanco, Á., & Villar, J. (2011). Influencia de un bioestimulante cubano en la obtención de posturas de café. *Hombre, Ciencia y Tecnología*, 15(4), 01-12.
- Baños, H. L., Alemán, J., Martínez, M., Ravelo, J., Surís, M., Miranda, I., & Rodríguez, H. (2009). Efecto de bioestimulantes sobre la germinación y el crecimiento de *Murraya paniculata* L. *Cultivos Tropicales*, 30(1), 01-05.
- Borges, J. A., León, M., Marturet, E., & Barrios, M. (2016). Fitoestimulación en estacas de morera (*Morus alba* L.) mediante extractos vegetales. *Bioagro*, 28(3), 215-219.
- Botero Londoño, J. M., Gómez Carabalí, A., & Botero Londoño, M. A. (2019). Rendimiento, parámetros agronómicos y calidad nutricional de la *Tithonia diversifolia* con base en diferentes niveles de fertilización. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 10(3), 789-800. doi.org/10.22319/rmcp.v10i3.4667
- Cabrera, J. A. S., Caisa, M. A. L., Buñay, T. C. G., Arias, J. P. S., & Esmeraldas, V. A. C. (2022). Evaluación del extracto de *Clitoria ternatea* como bioestimulante en el cultivo de frijol. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 6(4), 1931-1945. doi.org/10.37811/cl_rcm.v6i4.2719
- Candelero, D. J., Cristóbal, A. J., Reyes, R. A., Tun, S. J. M., Gamboa, A. M. M., & Ruíz, S. E. (2015). *Trichoderma* spp. promotoras del crecimiento en plántulas de *Capsicum chinense* Jacq. y antagónicas contra *Meloidogyne incognita*. *Phyton (Buenos Aires)*, 84(1), 113-119.
- Cerda Cruz, K. L. (2021). Modelos de germinación, crecimiento y parámetros de calidad de *Schizolobium parahybum* (Vell) en vivero bajo diferentes sustratos orgánicos (Tesis de Maestría, Universidad Estatal Amazónica, Ecuador). Consultada en : <https://repositorio.uea.edu.ec/handle/123456789/1045>
- CONAGUA. (2015). Actualización de la disponibilidad media anual de agua en el acuífero texcoco (ed. 2015). México: Estado de México.
- Corbera Gorotiza, J., & Nápoles García, M. C. (2013). Efecto de la inoculación conjunta *Bradyrhizobium elkanii*-hongos MA y la aplicación de un bioestimulador del crecimiento vegetal en soya (*Glycine max* (L.) Merrill), cultivar INCASOY-27. *Cultivos Tropicales*, 34(2), 05-11.
- Garces, R. V., & Medrano, N. C. (2024). Efecto de tres dosis de bioestimulante con dos tipos de sustrato en la propagación asexual de estacas de pitahaya roja (*Hylocereus hybridum*), bajo condiciones de invernadero, Independencia–Huaraz–Ancash. *Aporte Santiaguino*, 17(1), 69.

doi.org/10.32911/as.2024.v17.n1.1140

- García, E. 2004. *Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köpen*. (5th ed.). Instituto de Geografía-UNAM; México: D.F.
- García, J. A., Cuevas, F. D. M., Mireles, H. C., Narváez, J. V., Meza, A. E. R., & Hernández, A. V. (2023). Efecto de bioestimulantes microbianos en el tamaño y peso de frutos de chile morrón y jitomate en condiciones protegidas de macrotúnel. *Biotecnia*, 25(1), 81-87. doi.org/10.18633/biotecnia.v25i1.1772
- García, M. J., Gonzalo, R. H., & López, M. E. (2020). Extracto de Aloe vera L. en la adaptación de vitroplantas de plátano. *Avances*, 22(1), 110-122.
- González, L. M. (2016). Efecto de productos bioactivos en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) biofertilizadas. *Cultivos Tropicales*, 37(3), 165-171. doi.org/10.13140/RG.2.1.1077.0165
- Lara-Acosta, D., Nápoles-García, M. C., & Falcón-Rodríguez, A. B. (2024). Combinación de diferentes formas de aplicación de Pectimorf® en plantas de *Phaseolus vulgaris* L. biofertilizadas. *Ingeniería Agrícola*, 14(1), 01-09.
- Lemus-Soriano, B. A., Venegas-González, E., & Pérez-López, M. A. (2021). Efecto de bioestimulantes radiculares sobre el crecimiento en plantas de aguacate. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 12(6), 1139-1144. doi.org/10.29312/remexca.v12i6.2725
- López-Santiago, J., Nieto-Ángel, R., Barrientos-Priego, A. F., Rodríguez-Pérez, E., Colinas-León, M. T., Borys, M. W., & González-Andrés, F. (2008). Selección de variables morfológicas para la caracterización del tejocote (*Crataegus* spp.). *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 14(2), 97-111.
- Márquez, H. V., Martín, G. M. P., García, M. J., Gonzalo, R. H., & Domínguez, J. C. M. (2024). Efecto de extractos vegetales combinados en plántulas de *Nicotiana tabacum* L var." Corojo 2012": Efecto de extractos vegetales combinados en plántulas de tabaco. *Revista Bio Ciencias*, 11, 01-14. doi.org/10.15741/revbio.11.e1531
- Padilla, G. D., Yzquierdo, G. A. R., Montana, L., Salas, T. C. M., Basso, C., & Montesuma, M. A. A. (2020). Efecto de la aplicación de bioestimulantes y Trichoderma sobre el crecimiento en plántulas de maracuyá (*Passiflora edulis* Sims) en vivero. *Bioagro*, 32(3), 195-204.
- Pérez, J. P. L., & Gil, R. B. (2016). Aspectos básicos de la fijación de nitrógeno atmosférico por parte de bacterias. Estudio en el laboratorio de educación secundaria. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, 13(1), 203-209.
- Plana-Llerena, R. R., González-Cañizares, P. J., & Soto-Carreño, F. (2016). Uso combinado de Ecomic®, Fitomas-e® y fertilizantes minerales en la producción de forraje para la alimentación animal a base de triticale (x. Triticosecale Wittmack), cv INCA TT-7. *Cultivos Tropicales*, 37(4), 76-83. doi.org/10.13140/RG.2.2.34452.30087

- Quintero Rodríguez, E., Calero Hurtado, A., Pérez Díaz, Y., & Enríquez Gómez, L. (2018). Efecto de diferentes bioestimulantes en el rendimiento del frijol común. *Centro Agrícola*, 45(3), 73-80.
- Segovia, C. S. J., Quintana, Y. G., Rubio, J. P. G., Crespo, Y. A., Pérez, Y. L., & Morales, A. (2019). Efecto de *Trichoderma harzianum* como bioestimulante en el crecimiento de plántulas de *Swietenia macrophylla* en condiciones de vivero. *Revista Amazónica. Ciencia y Tecnología*, 8(1), 40-51. doi.org/10.59410/RACYT-v08n01ep04-0106
- Torsvik, V., & Øvreås, L. (2002). Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Current opinion in microbiology*, 5(3), 240-245. doi.org/10.1016/S1369-5274(02)00324-7