



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

**PROGRAMA
PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO**

**LOS BIOFERTILIZANTES EN LA SUSTENTABILIDAD DEL SUELO Y LAS
PLANTAS DE NARANJO AGRIO (*Citrus aurantium* L.) Y LIMÓN PERSA (*Citrus
latifolia* TAN)**

DANIEL EDUARDO ALEJO PEREYRA

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS**

**H. CARDENAS, TABASCO
JUNIO 2010**

La presente tesis titulada: **Los biofertilizantes en la sustentabilidad del suelo y las plantas de naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.) y limón persa (*Citrus latifolia* TAN)**, realizada por el alumno Daniel Eduardo Alejo Pereyra, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

CONSEJO PARTICULAR

Consejero: /



Dra. María del Carmen Rivera Cruz

Asesor:



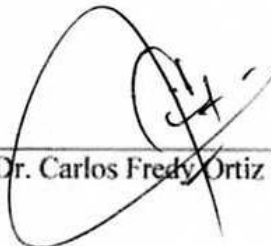
Dr. Armando Guerrero Peña

Asesor:



Dr. Alejandro Alarcón

Asesor:



Dr. Carlos Fredy Ortiz García

H. Cárdenas, Tabasco, México, 24 de junio de 2010

El presente estudio que lleva por título “**Los biofertilizantes en la sustentabilidad del suelo y las plantas de naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.) y limón persa (*Citrus latifolia* TAN)**”, se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Suelo e Invernadero, localizados en las instalaciones del Campus-Tabasco, Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. El presente trabajo fue financiado con recursos propios del Campus y el proyecto TAB-2005-C06-16416 denominado “Desarrollo de sistema de fertilización orgánico para el cultivo de limón persa (*Citrus latifolia*) en Huimanguillo Tabasco”. El estudio fue dirigido por la Dra. María del Carmen Rivera Cruz, Profesor Investigador del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco.

LOS BIOFERTILIZANTES EN LA SUSTENTABILIDAD DEL SUELO Y PLANTAS DE NARANJO AGRIO (*Citrus aurantium* L.) Y LIMÓN PERSA (*Citrus latifolia* TAN)

Daniel Eduardo Alejo Pereyra

Colegio de Postgraduados, 2010

Los biofertilizantes son una alternativa de fertilización para mejorar las propiedades químicas y biológicas del suelo que permitan la sostenibilidad de la producción de cultivos. En este trabajo se comparó la efectividad del tipo y dosis de biofertilizantes integrados con cáscara de naranja, cachaza y estiércol de pollo como acarreadores del consorcio; *Azospirillum*, *Azotobacter*, y solubilizadoras de P, para suelos plantados con naranjo agrío (*Citrus aurantium* L) y naranjo agrío injertado con limón persa (*Citrus latifolia* Tan). Se estableció un experimento con 10 tratamientos y ocho repeticiones, integrado por dos factores; tipo de biofertilizante (Bio1, Bio2 y Bio3), dosis (0, 1, 2 y 3 %) y planta de naranjo agrío. A los 12 meses se destruyeron cuatro repeticiones de cada tratamiento y se injertó el naranjo agrío con limón persa, por lo tanto el experimento siguió establecido hasta los 15 meses, con nueve tratamientos y cuatro repeticiones. Los suelos de cultivos de naranjo agrío y limón persa se les evaluó el pH, carbono orgánico, materia orgánica, nitrógeno total y fósforo disponible se realizó con las técnicas indicadas en la NOM-021-RECNAT-2000; además los contenidos de nitrógeno y fósforo en follaje (Wei-An *et al.*, 2007). La densidad de *Azospirillum*, *Azotobacter* y solubilizadoras de P en suelo y rizósfera con la técnica de cuenta viable por dilución seriada. Los resultados indican que tipo, dosis de biofertilizantes e interacciones entre ambos factores resultaron significativos $p \leq 0.05$ para C orgánico, N total, P disponible en suelo, densidad de *Azospirillum*, *Azotobacter* y solubilizadoras de P, altura de planta, biomasa radical, foliar, acumulación de N y P foliar para ambas plantas. Dosis de 1, 2 y 3 % de cáscara de naranja, cachaza como acarreadores de PGPR pueden utilizarse para enmendar suelos y mantener la sostenibilidad de naranjo agrío y naranjo agrío injertado con limón persa. Pero el estiércol de pollo (Bio3), para enmendar suelos plantados con naranjo agrío se restringe a 1 % de estiércol de pollo (Bio3), sin embargo para naranjo agrío injertado con limón persa se recomienda dosis hasta del 2 %.

Palabras claves: *Citrus aurantium* L, *Citrus latifolia*, estiércol de pollo, *Azospirillum*, *Azotobacter* y solubilizadoras de P.

THE BIOFERTILIZERS IN THE SOSTENIBILITY OF SOIL AND ORANGE PLANTS
(*Citrus aurantium* L) AND SOUR ORANGE GRAFTING WITH PERSIAN LEMON (*Citrus
latifolia* Tan)

Daniel Eduardo Alejo Pereyra

Colegio de Postgraduados, 2010

The biofertilizers are an alternative of fertilization for improving the chemical and biological properties of the ground that enable sustainability of the crops production. In this work, we compared the effectiveness of the type and dose of biofertilizers integrated with orange peel, rum and poultry manure as carriers of the consortium; *Azospirillum*, *Azotobacter*, and solubilizing of P, for grounds planted with sour orange (*Citrus aurantium* L.) and sour orange grafted with Persian lemon (*Citrus latifolia* Tan.). An experiment was established with ten treatments and eight repetitions, integrated by two factors; Biofertilizer type (Bio1, Bio2 y Bio3), doses (0, 1, 2 y 3 %) and plant of sour orange. To the twelve months, four repetitions of each element are destroyed and the sour orange is grafted with Persian lemon, therefore, the experiment kept established until fifteen months, with nine treatments and four repetitions. Crop soils sour orange and Persian lime were evaluated for pH, organic carbon, organic matter, total nitrogen and available phosphorus using the techniques listed in NOM-021-RECNAT-2000, besides the nitrogen and phosphorus in foliage (Wei-An *et al.*, 2007). The density of *Azospirillum*, *Azotobacter* and P solubilizers in soil and rhizosphere were quantified using viable count technique by serial dilution (Madigan *et al.*, 2004). The results indicate what kind, doses of biofertilizer and interactions between both factors resulted significant $p \leq 0.05$ for C organic, N total, P available in ground, density of *Azospirillum*, *Azotobacter*, and solubilizations of P, plant height, radical biomass, foliar, accumulation of foliar N and P for both plants. Doses of 1, 2 y 3 % of orange peel, rum as a carriers of PGPR can be used to amend grounds and for keeping the sustainability of sour orange and sour orange grafted with Persian lemon. But the poultry manure (Bio3), however for sour orange grafted with Persian lemon is recommended doses until 2 %.

Keywords: *Citrus aurantium* L., *Citrus latifolia*, poultry manure, *Azospirillum*, *Azotobacter*, and solubilizing of P.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento otorgado para realizar los estudios de Maestría en Ciencias.

Al Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, especialmente al área de Microbiología del Suelo y al Laboratorio de Análisis de Suelo, Plantas y Agua, por el apoyo de reactivos y equipo de laboratorio para el desarrollo del presente estudio.

Al vivero la Esperanza por la amable demostración de las actividades del vivero con fines de enriquecer la investigación.

A la Dra. María del Carmen Rivera Cruz profesora e investigadora de microbiología del suelo, por su atenta y dedicada guía, correcciones y conclusión de la presente tesis. Agradezco también su paciencia dada a este estudiante.

Al Dr. Armando Guerrero Peña por sus asesorías y contribuciones al documento de tesis.

Al Dr. Alejandro Alarcón por enriquecer con sus correcciones sugeridas el documento de tesis.

Al Dr. Carlos Fredy Ortiz García por sus contribuciones a la presente investigación.

A los profesores por la formación académica creada en mí a través de los cursos de la maestría.

A mis compañeros estudiantes de maestría que convivieron conmigo dos años de trabajo y amistad.

A los Ingenieros Rodrigo Dorantes Avelino y Apolinar González Mancillas por su amistad y el apoyo mostrado cada vez que me acerqué a ellos.

A la Dra. Gloria Alejo Solórzano por su apoyo y cariño brindado para el inicio de este postgrado.

Dedico esta tesis a:

Mi madre Hilda, a mi abuela Esther y a mis hermanos Adrián, Xochitl y Gabriela.

A mí cuñada Marta y a mi sobrina Hannia.

A mis tíos Adiel, Efraín, Reina y Gloria Alejo.

CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE CUADROS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
I. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
II. <u>OBJETIVOS</u>	3
2.1. Objetivo general.....	3
2.2. Objetivos particulares.....	3
III. <u>HIPÓTESIS</u>	4
3.1 Hipótesis general.....	4
3.2. Hipótesis particulares.....	4
IV. <u>REVISIÓN DE LITERATURA</u>	5
4.1. El sistema de producción agrícola.....	5
4.1.1. Definición del concepto sistema.....	5
4.1.2. Tipos de sistemas de producción agrícola.....	7
4.2. Componente abiótico.....	7
4.2.1. Definición y composición del suelo.....	7
4.2.2. Propiedades físicas del suelo.....	8
4.2.2.1. Textura y estructura.....	8
4.2.2.2. Humedad.....	9
4.2.3. Propiedades químicas del suelo.....	10
4.2.3.1. Potencial hidrógeno.....	10
4.2.3.2. Materia orgánica.....	10
4.2.3.3. Macronutrientes.....	11
4.2.3.3.1. Nitrógeno en el suelo.....	11
4.2.3.3.2. Fijadores de nitrógeno.....	12
4.2.3.3.2.1. Mineralización.....	13
4.2.3.3.3. Fósforo en el suelo.....	14
4.2.3.3.4. El potasio en el suelo.....	14
4.3. Componente biótico: La planta en el sistema de producción agrícola.....	15
4.3.1. Crecimiento de planta.....	15
4.3.2. Acumulación de nutrientes en planta.....	16
4.3.2.1. Nitrógeno en la planta.....	16
4.3.2.2. Fósforo en la planta.....	17
4.3.2.3. Potasio en la planta.....	18
4.4. Componente biótico.....	19
4.4.1. La rizósfera.....	19
4.4.1.1. Bacteria benéficas para las plantas.....	22
4.4.1.1.1. <i>Azospirillum</i> sp.....	22
4.4.1.1.2. <i>Azotobacter</i> sp.....	24
4.4.1.1.3. Bacterias solubilizadoras de fósforo (BSP).....	25
4.5. Entradas del sistema: fertilización.....	25
4.5.1. Concepto e importancia de la fertilización.....	25

	Pág.
4.5.1.1. Fertilización orgánica.....	26
4.5.1.1.1. Clasificación de los fertilizantes orgánicos.....	27
4.5.2. Los biofertilizantes en la sostenibilidad agrícola.....	28
4.5.2.1. Los biofertilizantes en suelo-planta.....	30
4.6. El sistema de producción en vivero de limón persa.....	32
4.6.1. Etapas del proceso de producción de limón persa en vivero.....	34
4.6.1.1. Labores culturales.....	34
V. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	36
5.1. ETAPA I: Trabajo de campo.....	37
5.1.1. Selección del sitio de muestreo y colecta de suelo.....	37
5.1.2. Selección y colecta de semillas.....	37
5.2. ETAPA II: Preparación de materiales.....	39
5.2.1. Preparación de suelo para establecimiento de bioensayo.....	39
5.2.2. Análisis físico-químico del suelo.....	39
5.2.3. Establecimiento de almácigo de naranjo agrio.....	40
5.2.3.1. Características agronómicas del naranjo agrio.....	40
5.2.3.2. Características agronómicas del limón persa.....	41
5.2.4. Característica, viabilidad y toxicidad de los biofertilizantes.....	42
5.3. ETAPA III: Establecimiento de bioensayos.....	43
5.3.1. Fase 1. Establecimiento del bioensayo con planta de naranjo agrio	45
5.3.2. Fase 2. Establecimiento del bioensayo naranjo agrio con injerto de limón persa.....	46
5.3.3. Variables evaluadas en planta de naranjo agrio sin (fase uno) y naranjo agrio con injerto de limón persa (fase dos).....	46
5.3.3.1. Variables no destructivas.....	47
5.3.3.2. Levantamiento de bioensayos.....	47
5.3.3.2.1. Muestreo de unidades experimentales en Fase uno y Fase dos.....	47
5.4. ETAPA IV: Seguimiento de variables químicas y bacteriológicas en suelo con naranjo agrio sin y con injerto de limón persa.....	48
5.4.1. Propiedades químicas en suelo-planta.....	48
5.4.2. Densidad de bacterias en suelo no rizosférico y rizósfera.....	48
5.5. FASE V. Análisis estadístico.....	49
VI. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	50
6.1. Naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa: Tipo y dosis de biofertilizantes.....	50
6.1.1. El suelo del sistema de producción de naranjo agrio.....	51
6.1.1.1. Características químicas.....	51
6.1.1.2. Densidad de bacterias <i>Azospirillum</i> , <i>Azotobacter</i> y solubilizadoras de P en suelo a distancia y rizósfera.....	54
6.1.2. La planta del sistema de producción de la naranja agria.....	57
6.1.2.1. Crecimiento de naranjo agrio.....	57
6.1.2.2. Diámetro basal de tallo.....	60
6.1.2.3. Biomasa radical, foliar y total.....	61
6.1.2.4. Nitrógeno y fósforo en follaje vegetal.....	62

	Pág.
6.1.2.4.1. Contenido y acumulación de N foliar.....	62
6.1.2.4.2. Contenido y acumulación de P.....	65
6.1.3. El suelo del sistema de producción de naranjo agrio injertado con limón persa.....	66
6.1.3.1. Características químicas.....	66
6.1.3.2. Densidad de bacterias <i>Azospirillum</i> , <i>Azotobacter</i> y solubilizadoras de P en suelo a distancia y rizósfera.....	67
6.1.4. La planta en el sistema de producción de naranjo agrio injertado con limón persa.....	72
6.1.4.1. Crecimiento de naranjo agrio con injerto de limón persa.....	72
6.1.4.2. Biomasa radical, foliar y total.....	73
6.1.4.3. Contenido y acumulación de N y P foliar.....	74
6.2. Efecto de tipos de biofertilizantes en naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa.....	76
6.2.1. Efecto de biofertilizantes en propiedades químicas del suelo.....	76
6.2.2. Efecto de tipos de biofertilizantes en la densidad de bacterias en suelo a distancia y rizósfera de naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa.....	78
6.2.3. Efecto de tipo de biofertilizantes en la altura de naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa.....	83
6.2.4. Efecto de tipo de biofertilizante en el diámetro basal de naranjo agrio sin injerto de limón persa.....	85
6.2.5. Producción de biomasa radical, aérea y total de naranjo agrio sin y con injerto de limón persa por efecto de biofertilizantes.....	86
6.2.6. Contenido y acumulación de nitrógeno por efecto de tipo de biofertilizantes (Bio1, Bio2 y Bio3) en la planta de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa.....	88
6.3. Efecto de dosis de biofertilizantes en naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa.....	89
6.3.1. Efecto de dosis de biofertilizantes en las propiedades químicas del suelo con naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa...	89
6.3.2. Efecto de dosis de biofertilizantes en las poblaciones de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en suelo a distancia de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa.....	91
6.3.3. Efecto de dosis de biofertilizantes en las poblaciones de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en la rizósfera de naranjo agrio sin y con injerto de limón persa.....	93
6.3.4. Efecto de dosis de biofertilizantes en la altura de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa.....	96
6.3.5. Efecto de dosis en el diámetro basal del naranjo agrio.....	98
6.3.6. Efecto de dosis de biofertilizantes en la producción de biomasa de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa.....	99

6.3.7.	Acumulación y concentración de nitrógeno total y de fósforo en la planta de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa por efecto de dosis.....	Pág. 100
VII.	<u>CONCLUSIONES</u>	102
VIII.	<u>LITERATURA CITADA</u>	104
IX.	<u>APÉNDICE</u>	110

ÍNDICE DE CUADROS

		Pág.
Cuadro 1.	Composición centesimal media aproximada en volumen y peso de un suelo superficial franco en buenas condiciones para el desarrollo vegetal.....	8
Cuadro 2.	Productos excretados por plantas crecidas bajo condiciones asépticas.....	21
Cuadro 3.	<i>Azospirillum</i> , <i>Azotobacter</i> y <i>Pseudomonas</i> en rizósfera de diferentes plantas.....	23
Cuadro 4.	Fertilizantes orgánicos y materiales que los integran.....	27
Cuadro 5.	Efecto de los biofertilizantes en suelo y función de microorganismos y acarreador.....	29
Cuadro 6.	Fitohormonas para el crecimiento de plantas y algunos microorganismos productores de hormonas.....	30
Cuadro 7.	Características físicas, químicas y bacteriológicas de los biofertilizantes.....	43
Cuadro 8.	Tratamientos y descripción de biofertilizantes que componen el diseño experimental con planta de naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa.....	44
Cuadro 9.	Anova de dos factores (tipo y dosis de biofertilizantes) para todos los parámetros en la rizósfera de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa.....	50
Cuadro 10.	Características químicas del suelo con naranja agrio a los 12 meses después del trasplante.....	53
Cuadro 11.	Efecto rizósfera y densidad de <i>Azospirillum</i> , <i>Azotobacter</i> en suelo a distancia y rizósfera de naranjo agrio estimulado con tipo y dosis de biofertilizante a los 12 meses después del trasplante.....	55
Cuadro 12.	Efecto rizósfera y densidad de bacterias solubilizadoras de P en suelo a distancia y rizósfera de naranjo agrio estimulado con tipo y dosis de biofertilizante a los 12 días después del trasplante.....	56
Cuadro 13.	Altura de naranjo agrio a través del tiempo (1 a 6 meses) después del trasplante.....	58
Cuadro 14.	Altura de naranjo agrio en seis tiempo sucesivos (7 a 12 meses) después del trasplante.....	59
Cuadro 15.	Contenido de N en la biomasa foliar de naranjo agrio a los 360 días después del trasplante.....	63
Cuadro 16.	Contenido y acumulación de P en follaje aéreo de naranjo agrio a los 12 meses.....	65
Cuadro 17.	Propiedades químicas del suelo plantado con naranjo agrio con injerto de limón persa tres meses después de su injerto, con tipo y dosis de biofertilizante.....	67

	Pág.
Cuadro 18. Densidad de <i>Azospirillum</i> en suelo a distancia (S) y rizósfera (R) de naranjo agrio con injerto de limón persa tres meses después de su injerto, con tipo y dosis de biofertilizante.....	69
Cuadro 19. Densidad de bacterias <i>Azotobacter</i> en suelo a distancia (S) y rizósfera (R) de naranjo agrio injertado con limón persa según tipo y dosis de biofertilizante. Tres meses después de su injerto.....	70
Cuadro 20. Densidad de bacterias solubilizadoras de P en suelo no a distancia(S) y rizósfera (R) de naranjo agrio con injerto de limón persa por efecto de tipo y dosis de biofertilizante. Tres meses después de su injerto.....	71
Cuadro 21. Producción de biomasa radical, foliar y total de limón persa tres meses después del injerto en naranjo agrio.....	73
Cuadro 22. Contenido y acumulación de nitrógeno y fósforo en la biomasa foliar de limón persa a los tres meses después de su injerto en naranjo agrio.....	75
Cuadro 23. Propiedades químicas del suelo con naranjo agrio (Na) y naranjo agrio con injerto de limón persa (NaLp) por efecto de tipos de biofertilizantes.....	77
Cuadro 24. Efecto de los tipos de biofertilizantes en la altura de naranjo agrio (Na) sin injerto de limón persa, de los 30 hasta los 360 días después del trasplante.....	83
Cuadro 25. Efecto de los tipos de biofertilizantes en altura de naranjo agrio injertado con limón persa (NaLp) desde los 30 hasta los 90 días después del injerto.....	84
Cuadro 26. Acumulación y concentración de N y P por efecto de tipo de biofertilizante en naranjo agrio (Na) y naranjo agrio con injerto de limón persa (NaLp) 15 meses después del establecimiento del bioensayo.....	89
Cuadro 27. Efecto de tipo de dosis en las propiedades físico químicas del suelo con naranjo agrio y limón persa al final del bioensayo.....	90
Cuadro 28. Efecto de los tipos de dosis en altura de la planta de naranjo agrio (Na) sin injerto de limón persa desde los 30 hasta los 360 días después del trasplante.....	97
Cuadro 29. Variación del diámetro de tallo de naranjo agrio sin injerto de limón persa de acuerdo con el tipo de dosis 12 meses después del trasplante.....	99
Cuadro 30. Efectos de tipos de dosis de biofertilizantes en la producción de biomasa radical, foliar y total de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa.....	100
Cuadro 31. Efectos de dosis de biofertilizantes el contenido y acumulación de N y P foliar de naranjo agrio (Na) y naranjo agrio con injerto de limón persa (NaLp).....	101

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	Elementos de un sistema abierto.....	6
Figura 2.	Estructura de una raíz y la rizósfera correspondiente.....	20
Figura 3.	Flujo grama de trabajo.....	36
Figura 4.	Ubicación geográfica del sitio de colecta de suelo en el rancho los Migueles, municipio de Huimanguillo, Tabasco.....	38
Figura 5.	Preparación de suelo: secado, molienda y tamizado para utilizarlo en el bioensayos.....	39
Figura 6.	Bioensayo con naranjo agrio: a) secado, molienda y tamizado de suelo, b) Plántulas, c) unidad experimental, d) trasplante de naranjo agrio, e) Distribución de unidades experimentales del bioensayos...	45
Figura 7.	Diámetro de tallo de naranjo agrio sin injerto de limón persa a 360 días después del trasplante. Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$, $n=6$).....	60
Figura 8.	Biomasa radical, foliar y total en naranjo agrio a 12 mese después del trasplante en suelo con tipo y dosis de biofertilizante. Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$, $n=6$)....	61
Figura 9.	Acumulación de N en la biomasa seca aérea de naranjo agrio a los 12 meses después del trasplante. Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$, $n=6$). El porcentaje de acumulación de nutrientes fue calculado por la siguiente relación: $\frac{\text{Biomasa inoculada} \times \text{Contenido mineral en biomasa inoculada}}{\text{Biomasa no inoculada} \times \text{Contenido mineral en biomasa no inoculada}} \times 100$ inoculada.....	64
Figura 10.	Altura de limón persa injertado en naranjo agrio a los 30, 60 y 90 días (d) después de su injerto por efecto de tratamientos con tres tipos de biofertilizantes y tres tipos de dosis.....	72
Figura 11.	Densidad de bacterias <i>Azospirillum</i> en suelo a distancia de naranjo agrio sin (\square AzosNa) y naranjo agrio con injerto de limón persa (\blacksquare AzosNaLp) a 12 y 15 meses respectivamente de iniciado el experimento. Barras con la misma letra son iguales estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$).....	79
Figura 12.	Densidad de <i>Azotobacter</i> en suelo a distancia de naranjo agrio (\square AzotNa) y naranjo agrio con injerto de limón persa (\blacksquare AzotNaLp) 12 y 15 meses respectivamente de iniciado el experimento. Barras con las mismas letras son iguales estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$). 79	79
Figura 13.	Densidad de bacterias solubilizadoras de fósforo en suelo a distancia de naranjo agrio (\square BSPNa) y naranjo agrio con injerto de limón persa (\blacksquare BSPNaLp) 12 y 15 meses respectivamente de iniciado el experimento. Barras con las mismas letras son iguales estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$).....	80

Pág.

Figura 14.	Densidad de bacterias <i>Azospirillum</i> en la rizósfera de naranjo agrio (\square AzosNa) y naranjo agrio injertado con limón persa (\blacksquare AzosNaLp) 12 y 15 meses respectivamente de iniciado el experimento. Barras con las mismas letras son iguales estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$).....	81
Figura 15.	Densidad de bacterias <i>Azotobacter</i> en la rizósfera de naranjo agrio sin (\square AzotNa) y con injerto de limón persa (\blacksquare AzotNaLp) 360 y 450 días respectivamente de iniciado el experimento. Barras con las mismas letras son iguales estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$).....	81
Figura 16.	Densidad de bacterias solubilizadoras de fósforo en rizósfera de naranjo agrio sin (\square BSPNa) y con injerto de limón persa (\blacksquare BSPNaLp) 360 y 450 días respectivamente de iniciado el experimento. Barras con las mismas letras son iguales estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$).....	82
Figura 17.	Diámetro basal de plantas de naranjo agrio por efecto de tipo de biofertilizante. Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).....	85
Figura 18.	Biomasa seca radical de naranjo agrio (\square Na) y naranjo agrio con injerto de limón persa (\blacksquare NaLp) al final del bioensayo. Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).	86
Figura 19.	Biomasa seca aérea de naranjo agrio sin (\square Na) y con injerto de limón persa (\blacksquare NaLp) al final del bioensayo. Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).	87
Figura 20.	Biomasa seca total de naranjo agrio sin (\square Na) y con injerto de limón persa (\blacksquare NaLp) al final del bioensayo. Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).....	87
Figura 21.	Efecto de dosis de biofertilizantes en la densidad de <i>Azospirillum</i> en suelo no rizosférico de naranjo agrio sin (\square AzosNa) y con injerto de limón persa (\blacksquare AzosNaLp). Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).....	91
Figura 22.	Efecto de dosis de biofertilizantes en la densidad de <i>Azotobacter</i> en suelo no rizosférico de naranjo agrio sin (\square AzotNa) y con injerto de limón persa (\blacksquare AzotNaLp). Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).....	92
Figura 23.	Efecto de dosis de biofertilizantes en la densidad de bacterias solubilizadoras de fósforo (BSP) en suelo no rizosférico de naranjo agrio sin (\square BSPNa) y con injerto de limón persa (\blacksquare BSPNaLp). Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).....	93
Figura 24.	Efecto de dosis de biofertilizantes en la densidad de <i>Azospirillum</i> en la rizósfera de naranjo agrio sin (\square AzosNa) y con injerto de limón persa (\blacksquare AzosNaLp). Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).....	94

Figura 25.	Efecto de dosis de biofertilizantes en la densidad de <i>Azotobacter</i> en la rizósfera de naranjo agrio sin (\square AzotNa) y con injerto de limón persa (\blacksquare AzotNaLp). Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).....	95
Figura 26.	Efecto de dosis de biofertilizantes en la densidad de bacterias solubilizadoras de fósforo (BSP) en la rizósfera de naranjo agrio sin (\square BSPNa) y con injerto de limón persa (\blacksquare BSPNaLp). Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$)...	96
Figura 27.	Efecto de dosis de biofertilizantes en la altura de naranjo agrio con injerto de limón persa. Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).....	98

I. INTRODUCCIÓN

El limón persa (*Citrus latifolia* Tan) es un cítrico importante en la fruticultura nacional y en áreas tropicales de México, con 146 396 ha y una producción anual de 1873,099 Tm. En el estado de Tabasco hay 7120 ha (Siap.gob.mx. 2009). Tradicionalmente, en la producción de planta de limón persa en vivero, se utiliza al naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.) como portainjerto. En México existen 344 viveros con una producción de planta terminada de 5 688 587 (Contreras, 2007). El sistema de producción en vivero está basado en un intensivo uso de fertilizantes inorgánicos y pesticidas, se requiere 50 g/árbol⁻¹/año⁻¹ de N usando urea como fuente (Rodríguez *et al.*, 2006); ello puede disminuir los contenidos de materia orgánica, reducir la capacidad de retención de agua, estabilidad de agregados y un incremento en acidificación y alcalinidad del suelo (Roldán *et al.*, 2005); además se reduce la fauna y la flora del suelo, sus componentes minerales son fácilmente lixiviados y costosos (Gliessman *et al.*, 2002).

Los biofertilizantes basados en microorganismos benéficos de la rizosfera son una alternativa de fertilización química para incrementar la fertilidad y producción de cultivos en un sistema de producción sostenible (Wu *et al.*, 2005). Las bacterias de vida libre son usualmente referidas como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal o PGPR (Meunchang *et al.*, 2006). Las PGPR participan en diferentes procesos del ecosistema, e involucra el control biológico de patógenos, fijación de N, solubilización de nutrientes y síntesis de fitohormonas (Vessey, 2003; Canbolat *et al.*, 2006); ellas sirven para contribuir a la sostenibilidad de la agricultura. Los PGPR son un componente importante en el sistema de producción agrícola porque no solamente pueden contribuir a la disponibilidad de nutrientes en el suelo, dado que ellas pueden mejorar la estructura del suelo y reducir la erosión potencial (Kohler *et al.*, 2006).

Los microorganismos se incorporan al suelo con acarreadores en diferentes países del mundo entre estos acarreadores; incluyen (arcillas, estiércoles, residuos vegetales), ha resultado positiva la supervivencia de PGPR y se han integrado biofertilizantes que probados en suelo con plantas causan una respuesta positiva en el incremento de las propiedades físicas, químicas y bacteriológicas del suelo (Stephens y Rask, 2000), y en la productividad de la planta (Rivera-Cruz *et al.*, 2008).

La elaboración de biofertilizantes con PGPR sostenidas en acarreadores orgánicos como estiércol de pollo, residuos de caña de azúcar (cachaza) y cáscara de naranja, nativos de regiones plantadas con naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa, resulta en una alternativa de mejora para los suelos. Los acarreadores al incorporarse al suelo en ciertas dosis, agregan patógenos y antibióticos que según las condiciones del suelo pueden ser fitotóxicos para las plantas (Rivera-Cruz, *et al.*, 2008).

El uso de biofertilizantes en la nutrición de la planta en vivero, es una alternativa para incrementar la oferta en el mercado de limón persa injertado en naranjo agrio y establecer las bondades de tipo y dosis de biofertilizantes para la sostenibilidad. El objetivo del presente estudio fue evaluar tipo y dosis de biofertilizantes en la mejora del suelo-planta, respecto al pH, carbón orgánico, N total y P en suelo, densidad de bacterias en suelo a distancia y rizósfera, así como la altura, biomasa radical, foliar, acumulación de N y P en follaje de naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa, para contribuir en la sostenibilidad del sistema de producción en vivero.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Evaluar y analizar el efecto del tipo y dosis de biofertilizantes en las propiedades químicas y bacteriológicas del suelo, acumulación y contenido de N y P en planta, así como también el crecimiento sucesivo de naranjo agrio (*Citrus aurantium* K.) sin injerto y con injerto de limón persa (*Citrus latifolia* L.), que permita contribuir en una recomendación de fertilización orgánica en vivero.

2.1.1. Objetivos particulares

1. Determinar en suelo plantado con naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa sometido a diferentes tipos y dosis de biofertilizante el potencial hidrógeno, contenido de materia orgánica, C orgánico, N y P; en follaje la acumulación y contenido de N y P.
2. Estimar la densidad de bacterias de los géneros *Azospirillum*, *Azotobacter* y solubilizadoras de P en suelo no rizosférico y rizósfera de naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa sometido a diferentes tipos y dosis de biofertilizantes.
3. Cuantificar la altura, diámetro basal de tallo, biomasa radical, foliar y total de la planta de naranjo agrio y naranjo agrio injertado con injerto de limón persa sometidos a diferentes tipos y dosis de biofertilizantes.
4. Analizar las propiedades químicas y bacteriológicas en suelo plantado con naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa.
5. Realizar análisis comparativo de crecimiento, acumulación y contenido de N y P en naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa.

III. HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis General

Los tipos y dosis de biofertilizantes influyen directamente en las propiedades químicas y bacteriológicas del suelo, así como en el crecimiento, acumulación de N y P en naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa, en su conjunto determinan el biofertilizante apropiado para sostener la producción de planta en vivero.

3.1.1. Hipótesis particulares

1. Los tipos y dosis de biofertilizantes mejoran las propiedades químicas y bacteriológicas del suelo con naranjo agrio sin y con injerto de limón persa.
2. La densidad de bacterias del género *Azospirillum*, *Azotobacter* y bacterias solubilizadoras de P en suelo no rizosférico y en la rizósfera de naranjo agrio sin y con injerto de limón persa es afectada positivamente cuando la planta se somete a tipo y dosis de biofertilizantes.
3. Los tipos y dosis de biofertilizantes aumentan la altura, diámetro basal de tallo, biomasa radical, foliar y total de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa al final del ciclo agrícola.
4. El análisis comparativo evalúa los efectos del tipo y dosis de biofertilizantes en las propiedades químicas y bacteriológicas del suelo con naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa.
5. La comparación en el crecimiento, acumulación y contenido de N y P de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa demuestra efectos positivos y/o negativos del tipo y dosis de biofertilizantes.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. El sistema de producción agrícola

La agricultura es el arte que el hombre realiza para cultivar la tierra y controlar los factores ambientales que le permita producir alimentos básicos. El sistema de producción agrícola requiere la modificación de los componentes del ecosistema para maximizar la producción deseada y minimizar las pérdidas de energía a lo largo de las cadenas tróficas (Villalobos *et al.*, 2002). Los estudios sobre la producción agrícola tradicional y convencional involucran diversos factores. Gliessman (1978), Hernández y Padilla (1980) y Rivera-Cruz y Trujillo (1986) mencionan que existen factores como el medio ecológico, socioeconómico y la interacción de ambos forma el factor tecnológico. Este factor es el producto del conocimiento empírico y científico de una sociedad, que le ha permitido en la explotación agrícola obtener los satisfactores para cubrir las necesidades básicas del hombre básicas en su desarrollo cultural, social y económico.

4.1.1. Definición del concepto sistema

El concepto sistema según el diccionario enciclopédico (1997) es definido como el conjunto de elementos interrelacionados, entre los que existe una cierta cohesión y unidad de propósito, esta definición es similar a la establecida por Nova (1972). Así mismo Spedding (1979) menciona que un sistema es un conjunto de componentes como una entidad completa. La definición integradora, es la que menciona Hart (1979), que dice que existen dos tipos de sistemas: sistema cerrado y sistema abierto. El primero puramente teórico, no existe en la realidad; el segundo se denomina sistema abierto porque interactúa con el medio circundante, por lo tanto es un sistema real. Todo sistema abierto tiene los siguientes elementos (Figura 1): Componentes, interacción entre componentes, entradas, salidas y límites.

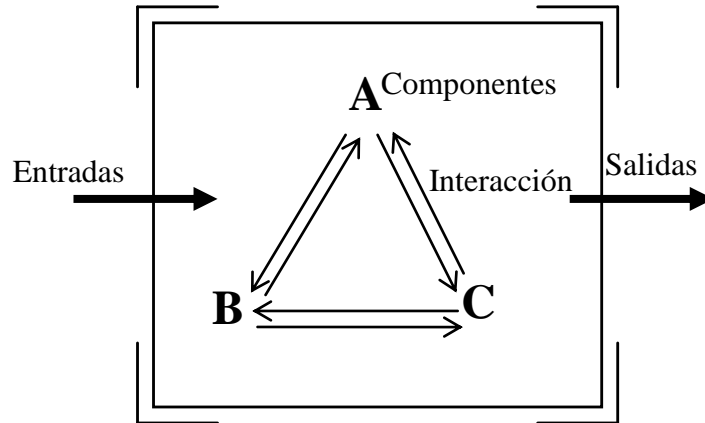


Figura 1. Elementos de un sistema abierto (Hart, 1979).

En un sistema de cultivo agrícola, los componentes son los elementos básicos del sistema mencionado anteriormente. Sin embargo se puede mencionar que existen componentes bióticos (planta, microfauna, microflora) y abióticos (suelo y nutrientes, agua). Las interacciones entre componentes de un sistema abierto es lo que proporciona las características de estructura de una unidad (Rivera-Cruz y Trujillo 1986).

Las entradas son componentes que integran al sistema: radiación solar, precipitación pluvial, energía, plagas etc. Las entradas y salidas de un sistema son los flujos de entrada y salida de la unidad. El proceso de recibir entradas y producir salidas es lo que da función a un sistema. Un cultivo utiliza entradas de nutrientes, agua, radiación solar, etc. y produce la salida que en su caso, es el producto agrícola (cosecha) (Rivera-Cruz y Trujillo 1986).

Respecto a los límites de un sistema, generalmente existe dificultad para precisarlo. Para ello es necesario considerar dos pautas: tipo de interacción entre componentes y nivel de control sobre flujos, entradas y salidas. Si tomamos como ejemplo la interacción de los componentes de los cultivos, existen entradas que el agricultor puede controlar: tipo de semillas, insumos agrícolas, etc. En cambio existen otras entradas que no pueden controlar al mismo nivel que los anteriores, solamente los regula: radiación solar, precipitación pluvial, plagas, enfermedades, etc. (Rivera-Cruz y Trujillo 1986).

Los sistemas agrícolas están inmersos en un medio ecológico y condiciones socioeconómicas que originan en su continua interacción el surgimiento de la cultura, en la cual el aspecto tecnológico es importante para el entendimiento de la producción agrícola, ya que las etapas de la sociedad no se caracterizan por el volumen producido sino por la forma en que se produce. Pero las mejoras a los sistemas de producción se miden por la maximización de la producción con fines económicos (Gliessman, 2002).

4.1.2. Tipos de sistemas de producción agrícola

Existen tres tipos principales de sistema de producción agrícola, esta clasificación surge por el tipo de prácticas y la tecnología que se utilice: tradicional, convencional y orgánica o conservacionista. La tradicional consiste en realizar las labores culturales de manera manual, con mucha mano de obra, labranza mecánica mínima, sin fertilizantes inorgánicos, ni plaguicidas, con rendimientos bajos pero estables. La convencional o moderna se caracteriza en que todas las actividades del proceso están basadas en labranza intensiva, monocultivo, irrigación, aplicación de fertilizantes inorgánicos, control químico de plagas y manipulación genética de los cultivos; cada una de estas prácticas como un conjunto, forman un sistema en el cual cada una depende de la otra reforzando la necesidad de usar todas las prácticas (Gliessman, 2002). La orgánica, biológica y ecológica representa un sistema de producción basado en la conservación de los componentes del sistema e involucra el uso de fertilizantes y plaguicidas de origen orgánico, las labores culturales pueden ser de manera manual u orgánica (Villalobos *et al.*, 2002).

4.2. Componente abiótico

4.2.1. Definición y composición del suelo

El suelo es definido como un cuerpo natural formado por sólidos (minerales y materia orgánica), líquidos y gases que ocurren sobre la superficie de las tierras, ocupa un espacio y tiene una o ambas de las siguientes características: horizontes o capas que se diferencian del material inicial como resultado de adiciones, pérdidas, transferencia y transformaciones de energía y materia, o por la habilidad de soportar raíces de plantas en un ambiente natural (Soil Survey Staff, 2006).

Los suelos están constituido por tres fases: sólida, líquida y gaseosa. Se pueden distinguir cuatro componentes: materia mineral, materia orgánica, agua y aire, íntimamente ligados, mezclados entre sí y originando un medio ideal para el crecimiento de los seres vivos como son las plantas (Navarro y Navarro, 2003) y organismos. Según el mismo autor, es lógico que la composición de estos componentes variara con el tiempo y de un lugar a otro (Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición centesimal media aproximada en volumen y peso de un suelo superficial franco en buenas condiciones para el desarrollo vegetal.

Componentes del suelo	Volumen (%)	Peso (%)
Materia mineral	45	81
Materia orgánica	5	2
Agua	25	17
Aire	25	-

Fuente: Navarro y Navarro, 2003.

Los elementos sólidos de los suelos están representados por las pequeñas partículas minerales y por la materia orgánica. Las pequeñas partículas minerales proceden de la intemperización de las rocas. La materia orgánica es materia vegetal y animal, ambos proceden de los seres vivos y muertos o en estado de descomposición. Una mínima parte de esta materia orgánica está representada por microorganismos.

4.2.2. Propiedades físicas del suelo

Las propiedades físicas del suelo son rasgos que permiten la rigidez y la fuerza de sostenimiento, la capacidad de drenaje y de almacenamiento de agua, la plasticidad, la facilidad para la penetración de las raíces, la aireación y la retención de nutrientes para las plantas (Millar *et al.*, 1981). Entre estas propiedades se localizan a la textura, estructura, porosidad, consistencia, por ciento de humedad, etc. (Porta *et al.*, 2003).

4.2.2.1. Textura y estructura

Las propiedades físicas del suelo son importantes porque tienen la responsabilidad del transporte del aire, del calor, del agua, de las sustancias solubles a través del suelo e intervenir en las reacciones físicas, químicas y biológicas (Sánchez, 1981). Tanto la textura como la estructura

son las características más importantes del suelo, la textura es la propiedad más permanente de un suelo y la estructura modifica la influencia de la textura respecto a las relaciones de humedad y aire, disponibilidad de nutrimentos para la planta, acción de los microorganismos y desarrollo de la raíz (Millar *et al.*, 1981).

Los beneficios de las propiedades físicas del suelo, se relaciona con el desarrollo de los microorganismos y el crecimiento de las raíces. Lo anterior debido a que las partículas no forman una masa continua, sino que al unirse crea un espacio de huecos que se comunican entre sí. Dichos huecos permiten la transferencia tanto de aire como de agua, en ellos por lo tanto, los microorganismos pueden desarrollar sus actividades (Porta *et al.*, 2003).

La textura se refiere al grado de finura o al grosor. Más específicamente, la textura es la proporción relativa de arena, limo y arcilla. La proporción y magnitud de muchas reacciones físicas y químicas en los suelos están gobernadas por la textura, debido a que ésta determina el tamaño de la superficie sobre la cual ocurren las reacciones (Millar *et al.*, 1981; Porta *et al.*, 2003).

La estructura describe la forma de agregarse las partículas individuales del suelo en unidades de mayor tamaño (agregados) y el espacio de huecos asociados a ellas (Porta *et al.*, 2003). La forma de los agregados puede ser laminar, prismática o en bloques (angulares, subangulares, granular compuesta y migajosa (granular porosa)).

4.2.2.2. Humedad

El término humedad se refiere al contenido de humedad, generada por la cantidad de agua presente en el suelo. El primer término tiene unas connotaciones de intensidad, mientras que en el segundo implica únicamente cantidad de agua (Hillel, 1980 cit. por Porta *et al.*, 2003). El contenido de humedad de un suelo es la relación del cociente del peso de las partículas sólidas y el peso del agua que guarda, esto se expresa en términos de porcentaje.

4.2.3. Propiedades químicas del suelo

Las propiedades químicas del suelo nos permiten conocer cualidades del suelo que ayudan a que los organismos vivos se establezcan en él. Las cualidades proceden de cambios químicos o reacciones que permiten la expresión de la propiedad y su influencia sobre los seres vivos. De las propiedades químicas del suelo las más importantes son la acidez, materia orgánica, carbón orgánico y elementos minerales (macronutrientes y micronutrientes) (Porta *et al.*, 2003).

4.2.3.1. Potencial hidrógeno

La forma más usual de diagnosticar las condiciones de acidez o de basicidad de un horizonte de un suelo, se basa por su rapidez y facilidad, en la medida del pH en una suspensión suelo-agua (1:2) (Porta *et al.*, 2003). El pH (potencial hidrógeno) es el grado de acidez o alcalinidad de un suelo, expresado en términos de la escala de pH, de 0 a 14 (DOF, 2002).

En suelos ácidos se recomienda evaluar el potencial hidrogeno utilizando una solución de KCl 1 M, dado que el K promueve la floculación del suelo y desplaza los H^+ de los sitios de intercambio hacia la solución del suelo; además aumenta la hidrólisis de Al^{3+} y Fe^{2+} incrementando la concentración de H^+ en la solución, lo cual promueve una mayor acidez. La relación suelo solución utilizada para realizar las mediciones debe ser 1:2.

4.2.3.2. Materia orgánica

La materia orgánica del suelo procede de procesos de mineralización de los restos vegetales y de animales que se acumulan en el suelo (Fuentes, 2002). El contenido de materia orgánica del suelo oscila entre 1-2 % en seco y 2-4 % en regadío (Coyne, 2000). Sin embargo, no es la cantidad de materia orgánica que interesa, sino la velocidad con que la materia orgánica se transforma (Fuentes, 2002). Las diferentes cantidades de materia orgánica en el suelo, se debe a las distintas temperaturas y a los niveles de descomposición (Coyne, 2000).

En la descomposición de la materia orgánica intervienen los microorganismos, que incluyen bacterias, hongos, actinomicetos, algas y protozoos. Éstos los utilizan como fuente de carbono y energía, produciendo minerales, CO_2 y agua (Coyne, 2000). La descomposición de la materia orgánica implica tanto procesos abióticos como bióticos, que resultan en tres fenómenos:

lixiviación (liberación de compuestos simples solubles), fragmentación y catabolismo. Las sustancias solubles (azúcares, aminoazúcares, fenoles, aminoácidos, etc.) liberadas durante la descomposición pueden ser lixiviadas rápidamente de los residuos, ser utilizadas como nutrientes por los organismos heterótrofos del suelo o pasar a formar parte de la estructura de sustancias húmicas en formación (Porta *et al.*, 2003).

La materia orgánica en el suelo pasa por una etapa muy activa que corresponde a la liberación de materiales orgánicos lábiles (azúcares, aminoazúcares, aminoácidos y ácidos orgánicos), seguida de una segunda etapa en la que la actividad biológica es decreciente. En ella se mineralizan la celulosa, hemicelulosa quedando los materiales recalcitrantes. Los procesos de mineralización dan lugar a productos inorgánicos, tales como: H_2O , CO_2 , NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , etc. (Porta *et al.*, 2003).

4.2.3.3. Macronutrientes

El N, P y el K se clasifican como los elementos nutritivos mayores (Tisdale y Nelson, 1982).

4.2.3.3.1. Nitrógeno en el suelo

El N es el macronutriente que en mayor cantidad requieren los organismos vivos sobre la Tierra. Un 78 % de la atmósfera está formado por N_2 , si bien el nitrógeno atmosférico representa tan sólo un 1.2 % del nitrógeno que hay en el planeta (Coyne, 2000). Se localiza principalmente en forma molecular, N_2 , cuyo triple enlace $N\equiv N$ le confiere una alta estabilidad. En la litosfera existe como NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ etc., mientras que en la hidrosfera es abundante como N_2 disuelto y en la forma NO_3^- (Castells, 2005).

La atmósfera es en consecuencia fuente original del N que consumen los cultivos (Villalobos *et al.*, 2002). Su importancia se debe a que es el elemento que limita más frecuentemente la producción del cultivo y el que demanda más habilidad en el manejo (Loomis y Connor, 2002). El N del suelo se encuentra bajo las formas de N orgánico y N inorgánico (Fuentes, 2002), siendo el porcentaje de N orgánico del orden del 95 % (Villalobos *et al.*, 2002).

El N orgánico forma parte de la materia orgánica del suelo (Fuentes, 2002), se presenta como proteínas, aminoácidos, aminoazúcares u otros compuestos de N (Villalobos *et al.*, 2002). Este N debe transformarse a N inorgánico para ser asimilable por la planta (Fuentes, 2002). Las formas inorgánicas incluyen amonio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-), óxido nitroso (N_2O), óxido nítrico (NO) y N_2 . Las tres primeras formas son las importantes desde el punto de vista de la fertilidad y provienen de los fertilizantes o de la descomposición de la materia orgánica (Villalobos *et al.*, 2002).

Las plantas superiores absorben y utilizan el N de los suelos tanto en forma amoniacal como en forma de nitrato. Los iones de nitrato son la forma dominante en la nutrición de los cultivos porque son muy abundantes (en suelo labrado) y más móviles que los iones de amonio (Loomis y Connor, 2002).

4.2.3.3.2. Fijadores de Nitrógeno

El N que se localiza en el suelo procede de la atmósfera, pero el N_2 atmosférico no puede ser utilizado directamente por los seres vivos, salvo en el caso de algunos microorganismos. Para que el nitrógeno atmosférico sea absorbido por las plantas y la mayoría de los microorganismos, éste tiene que formar parte de otros compuestos químicos, este proceso se llama fijación (Fuentes, 2002).

Como las plantas no pueden metabolizar el N_2 a proteínas, antes debe transformarse a N asimilable siguiendo uno de estos caminos: Fijación por microorganismos que viven en simbiosis con las raíces de leguminosas, fijación por microorganismos libres del suelo, Fijación como óxidos por descargas eléctricas en la atmósfera y fijaciones como NH_3 , NO_3^- o CN_2^{2-} por los fabricantes de fertilizantes nitrogenados (Villalobos *et al.*, 2002).

Hay cuatro grupos importantes de organismos implicados en el proceso del N: bacteria, hongos, cianobacterias (algas verde-azules) y algas. Cada grupo es diverso (Loomis y Connor, 2002) y se pueden clasificar en fijadores libres y en los que se hallan en asociaciones simbióticas (Loomis y Connor, 2002; Coyne, 2000).

4.2.3.3.2.1. Mineralización

La mineralización es el proceso en que el N fijado por los microorganismos o el N de la materia orgánica es transformado a amonio y a nitratos. Estas transformaciones se realizan en dos etapas: Amonificación y nitrificación.

La liberación de NH_4^+ y NH_3 de las formas orgánicas se denomina amonificación. La amonificación la realizan poblaciones microbianas durante su ataque a bacterias muertas, residuos y humus y por medio de enzimas hidrolíticas extracelulares incluyendo las proteasas, peptidasas y ureasas. Las enzimas se liberan de la materia vegetal en descomposición y de las bacterias, y pueden existir libres en las soluciones del suelo o adsorbidas a los coloides del suelo (Loomis y Connor, 2002).

En general la amonificación depende principalmente de las bacterias aerobias y se favorece con un pH neutro, humedad, una buena aireación y un sustrato de carbono adecuado. La muerte de esas bacterias contribuye al flujo de la amonificación. La mayoría del NH_4^+ proviene de los residuos (y de las enmiendas orgánicas), de la biomasa microbiana, y de la materia orgánica activa (H_a). La mineralización varía con el clima y laboreo, con las cantidades y tipo de residuos y estiércoles que se incorporan al suelo.

La nitrificación consiste en la oxidación del amonio a nitrato, que principalmente tiene lugar en suelos aireados y de pH neutro por la acción de un número muy limitado de bacterias autótrofas, denominadas nitrificantes. La adición a los suelos de materia orgánica rica en proteínas, como el estiércol, aumenta la tasa de nitrificación (Castillo y Roldan, 2005) la cual se realiza por medio de las bacterias quimioautótrofas de la familia de las Nitrobacteraceae. Esta bacteria obtiene la energía de la oxidación del amoniaco y la utiliza en la fijación y la reducción de bicarbonato a materia orgánica. La nitrificación tiene lugar en dos etapas. En la primera las bacterias de los grupos *Nitrosolobus* y *Nitrosomonas* oxidan el amonio a nitrito (NO_2^-). En la segunda los iones de nitrito se oxidan a nitrato, principalmente por *Nitrobacter*. En contraste con el NH_4^+ , el NO_2^- y el NO_3^- son móviles en las soluciones del suelo y son atraídos a las raíces de las plantas junto con el flujo de la transpiración o se lixivian gradualmente desde el perfil del suelo a las aguas del drenaje (Loomis y Connor, 2002).

4.2.3.3.3. Fósforo en el suelo

En el suelo el P existe en forma de fosfato y nunca en forma libre, y puede encontrarse en forma orgánica o mineral en la solución del suelo o en la fracción sólida. Éste proviene de la meteorización de rocas, residuos y desechos orgánicos. La mineralización del P es activada por la enzima de la fosfatasa que abunda en las raíces de las plantas y en algunos microorganismos del suelo (Villalobos *et al.*, 2002). Para que el P sea aprovechado por las plantas debe encontrarse en forma inorgánica soluble, la fosfatasa cataliza la reacción:



Al separar el P de los sustratos orgánicos las enzimas lo ponen a disposición de las plantas en forma de ácido fosfórico, el cual es utilizado como una fuente de energía en todos los procesos bioquímicos (Fassbender y Bornemisza, 1987). Sólo los fosfatos mono y dicálcico son fácilmente asimilables por las plantas.

4.2.3.3.4. El potasio en el suelo

El K es un componente de los minerales feldespato y mica. El K en esta forma es liberado muy lentamente por meteorización. La fracción más activa del K se encuentra en minerales secundarios de la arcilla y en mucha menor proporción, en la materia orgánica, ocupando una posición fijada o fácilmente intercambiable con la solución (Villalobos *et al.*, 2002). En la mayoría de los suelos existe suficiente cantidad de K, sobre todo en los suelos arcillosos; pero para que pueda ser asimilado por las plantas tiene que estar solubilizado en la solución del suelo. La planta lo absorbe bajo la forma de ión potasio (K^+) (Fuentes, 2002). En general el K se desplaza muy poco en el suelo, y las pérdidas por lixiviación son pequeñas o muy pequeñas en suelos con alto contenido de arcilla. Una vez absorbido es transportado principalmente hacia los tejidos jóvenes en crecimiento (Villalobos *et al.*, 2002). Desde el punto de vista de su aprovechamiento por las plantas, el K del suelo puede clasificarse de la forma siguiente (Fuentes, 2002):

K no asimilable. Parte del potasio contenido en el suelo no disponible para la planta, ya que se encuentra formando parte de las estructuras de ciertos minerales. Con el paso del tiempo estos minerales se descomponen y se hacen solubles en la solución del suelo.

K asimilable con rapidez. Se asimila con rapidez el potasio contenido en la solución del suelo y el potasio adsorbido en el complejo de cambio del suelo.

K asimilable lentamente. En algunas circunstancias, los iones potasio contenidos en la solución del suelo quedan atrapados entre las capas de algunas arcillas cristalinas (proceso de fijación). Sin embargo, este potasio retenido entre las capas de las arcillas no se pierden definitivamente para la planta, sino que al cabo del tiempo, bajo determinadas condiciones, queda liberado (proceso de regeneración), pasando de nuevo a la solución del suelo.

4.3. Componente biótico: La planta en el sistema de producción agrícola

La planta es un componente vivo del sistema de producción agrícola y según el ciclo de vida se clasifica como perennes y anuales.

4.3.1. Crecimiento de planta

El crecimiento es un proceso por el cual aumenta el peso, el volumen, el área o la longitud de uno o varios órganos de la planta (Villalobos *et al.*, 2002). En teoría, se podría medir cualquiera de las características del crecimiento mencionadas, pero existen dos medidas que son las más habituales: las que cuantifican los aumentos en volumen o en masa. Los aumentos de volumen (tamaño) a veces se calculan en forma aproximada midiendo la expansión en sólo una o en dos direcciones, tal como la altura, el diámetro (por ejemplo, del tronco) o el área (por ejemplo, de una hoja). Las medidas de volumen pueden ser no destructivas, de manera que se pueden efectuar varias medidas iguales en la misma planta (Salisbury y Ross, 2000).

El tamaño o el peso de un organismo puede representarse en función del tiempo obteniendo la curva de crecimiento (Salisbury y Ross, 2000); al respecto Salisbury y Ross (2000) mencionan que la curva puede ajustarse con una función matemática sencilla, como una curva simple en

forma de S también llamada curva de crecimiento sigmoideal. Numerosas plantas anuales y partes individuales tanto de plantas anuales como perennes tienen curvas similares. La curva presenta el tamaño acumulado en función del tiempo. En general, se pueden detectar tres fases principales: una logarítmica, una lineal y una de senescencia.

En la fase logarítmica, el tamaño (V) aumenta en forma exponencial con el tiempo (t). Es proporcional al tamaño del organismo; cuanto mayor sea éste, tanto más rápido crece. Este crecimiento logarítmico se da en algunas células individuales y en poblaciones de organismos unicelulares, como bacterias y levaduras, en las que cada producto de la división es capaz de crecer y dividirse. Durante la fase lineal, el aumento de tamaño mantiene una velocidad constante, máxima durante algún tiempo. La fase de senescencia se caracteriza por una tasa decreciente a medida que la planta alcanza su madurez y comienza a envejecer.

4.3.2. Acumulación de nutrientes en planta

La planta requiere de nutrimentos esenciales como el N, P y K para su crecimiento y producción. La concentración de los elementos minerales en las plantas varía según las especies, pues algunos están en mayor proporción que otros. En los árboles frutales como en otras plantas se pueden reconocer los macroelementos de los microelementos al comparar la cantidad de elementos contenidos en los tejidos y que tienen cierta equivalencia con lo extraído del suelo. A los macroelementos (N, P y K) se les encuentra en unidades de kg ha^{-1} en los tejidos, mientras que a los microelementos se les encuentra sólo en fracciones decimales de kg ha^{-1} (Díaz, 2002).

Díaz (2002) menciona que la presencia de los nutrientes en los tejidos vegetales es relevante, ya que puede ser parte de estructuras químicas o bien pueden participar en diversas reacciones químicas del metabolismo vegetal.

4.3.2.1. Nitrógeno en la planta

La planta absorbe el N en formas de compuestos amónicos, nitrosos y nítricos. Bajo estas formas, y mediante su sistema radicular, la planta absorbe el nitrógeno que le es necesario para la síntesis de sus tejidos. Aproximadamente se considera que este elemento constituye el 2 % en peso seco de las plantas. Los mayores contenidos de N en las plantas se encuentran en las hojas

jóvenes, el porcentaje oscila entre 5.5 y 6.5 % en peso seco. En la planta el N se encuentra en forma orgánica (purinas, pirimidinas, porfirinas, vitaminas, alcaloides y enzimas), proteica y de compuestos más simples. (Navarro y Navarro, 2003).

El 90 % del N absorbido por la planta se acumula en la parte aérea, del cual más del 41 % se encuentra en las hojas y el 20 % en el fruto, entra como componente de las proteínas, clorofila y aminoácidos (Trocme y Gras, 1979; Amorós, 2003). Es parte de las hormonas citocinina y auxinas, por lo que estimulará el crecimiento de las hojas, frutos, tallos, etcétera. Se ha establecido que entre mayor sea el contenido de N en la hoja, más alto resulta el contenido de clorofila y, por lo tanto, aumenta la capacidad fotosintética (Díaz, 2002).

4.3.2.2. Fósforo en la planta

El P se encuentra en todos los tejidos de la planta en una concentración variable, según el órgano vegetativo que se considere y su valor medio, expresado en pentóxido de P (P_2O_5), puede situarse entre 0.5 y 1 % de materia seca (Navarro y Navarro, 2003). El mismo autor menciona que la mayor parte lo absorben las plantas en forma de $PO_4H_2^-$, y en menor proporción como PO_4H^{-2} .

Además se halla formando parte de una gran variedad de combinaciones orgánicas integradas en los grupos: fosfolípidos, fosfoprotéidos y fosfoglicídicos. También se encuentra como constituyente esencial de numerosos coenzimas como: NAD (nicotinamida-adenin-dinucleótido), NADP (nicotinamida-dinucleótidofosfato), FAD (flavin-adenin-dinucleótido), CoASH (coenzima A), LIPS₂ (ácido lipóico), UDP (uridin-difosfato), TPP (pirofosfato de tiamina), PAL (fosfato de piridoxal).

Otros compuestos con P en la planta son los compuestos fosforilados encargados del almacenamiento y transporte de la energía necesaria para la realización de sus procesos vitales. Estas sustancias son el monofosfato de adenosina (AMP), el difosfato de adenosina (ADP) y el trifosfato de adenosina (ATP) (Díaz, 2002). Por su parte, Amorós (2003) menciona que el nivel foliar óptimo de P se encuentra entre 0,12 y 0,16 %. El 57 % se encuentra formando parte de las

raíces y el 28 % del fruto. Además interviene en la formación de las raíces y flores, en las hojas jóvenes se encuentra en mayores concentraciones.

4.3.2.3. Potasio en la planta

El K absorbido por las raíces bajo la forma de K^+ es el principal catión presente en los jugos vegetales, pudiendo encontrarse bajo la forma de sales orgánicas (oxalatos, tartratos), sales minerales (fosfatos, nitratos) y de combinaciones complejas inestables con los coloides celulares. En las hojas de las plantas superiores, un 30 % se encuentra en los coloides del citoplasma y un 70 % en sus vacuolas. Los tejidos jóvenes y sanos lo retienen bastante energicamente, y en estas condiciones se difunde lentamente en agua fría; pero en los tejidos viejos o alterados, puede haber pérdidas por lavado de los órganos aéreos bajo la acción de las lluvias (Navarro y Navarro, 2003).

El nivel foliar óptimo se encuentra en el 1,2 y 1,7 %. El 37 % está en las raíces, el 31 % en las ramas y el 20 % en el fruto. El 60 % del potasio de toda la planta puede ir al fruto, lo que significa que en la cosecha deberá incrementarse la aportación normal calculada (Amorós, 2003).

En la planta la función del K es variada, debido a su gran movilidad actúa neutralizando los ácidos orgánicos resultantes del metabolismo, y asegura así la constancia en H^+ de los jugos celulares. También desempeña una importante función en la fotosíntesis, en la economía hídrica de la planta y muy especialmente como activador enzimático (Navarro y Navarro, 2003).

En la fotosíntesis estimula la fijación del bióxido de carbono, con lo que aumenta la eficiencia fotosintética. En la respiración actúa como activador enzimático en varias reacciones al igual que el Mg (Díaz, 2002). De acuerdo con el mismo autor, el potasio participa en la activación de varias enzimas y en particular en la que induce la formación de glucosa a almidón; también resulta necesario en la síntesis de proteínas.

Estimula también la movilización de fotosintatos desde la zona productora hacia los tejidos conductores y su presencia acelera la velocidad del flujo de esos compuestos. Se conoce también que al aumentar la cantidad de K en las células “guarda” de los estomas hay una absorción de

agua de las células adyacentes, lo que incrementa la turgencia de las mismas y con ello la apertura estomatal (Díaz, 2002).

4.4. Componente biótico

El suelo contiene una comunidad microbiana de gran diversidad (Atlas y Bartha, 2002), el cual le proporciona una superficie en donde se pueden fijar para formar microcolonias (Coyne, 2000) y de esta manera realizar sus actividades metabólicas y fisiológicas propias de cada especie. Los microorganismos en el suelo contribuyen en gran manera a la fertilidad del suelo, es decir, a su capacidad de sostener el crecimiento vegetal. Participan en la mayor parte de los ciclos biogeoquímicos de los ecosistemas terrestres (mineralización de la materia orgánica, nitrificación, fijación de nitrógeno, solubilización de nutrientes y oxidación de metano, entre otros procesos).

Existe una relación trifásica, es decir una interacción entre el sistema radicular de las plantas (microflora), las propiedades físicas y químicas del suelo y una vasta comunidad de microorganismos metabólicamente activos (Alexander, 1980). Las raíces de las plantas proporcionan un hábitat único para los microorganismos del suelo; a su vez la planta es marcadamente afectada por las poblaciones que ha estimulado. Este medio único que está bajo la influencia de las plantas es llamado rizósfera (Alexander 1980; Bowen and Rovira, 1999, citado por Reyes *et al.*, 2006).

4.4.1. La rizósfera

La rizosfera es una zona ecológica del suelo y ha sido utilizada por diferentes investigadores en el mundo para estudiar el comportamiento de microorganismos benéficos y patógenos para las plantas, también para las interacciones entre microorganismos-planta y microorganismo-microorganismo. En estos estudios se considera tres regiones de estudio; la rizósfera, el rizoplano y el suelo a distancia.

La rizósfera es el volumen de suelo adyacente al sistema de raíces de las plantas, es influenciado por los exudados de raíz y mide cinco milímetros (Raina *et al.*, 2000., Kennedy, 2005) y en el que se desarrolla una población microbiana muy superior a la del resto del suelo

(Fuentes, 2007). Esta constituida por dos regiones; el rizoplano y el suelo adherido (Figura 2). En la practica cuando se muestreo en campo se colecta la raíz con suelo adherido a ella. Rizoplano. Es la raíz sin suelo adherido, en ella se establecer principalmente microorganismos que establecer asociación simbiótica y mutualista con la planta. El suelo a distancia, es considerado al suelo sin influencia de raíces, puede ser más allá de los 5 mm de la raíz primaria, secundaria o terciaria.

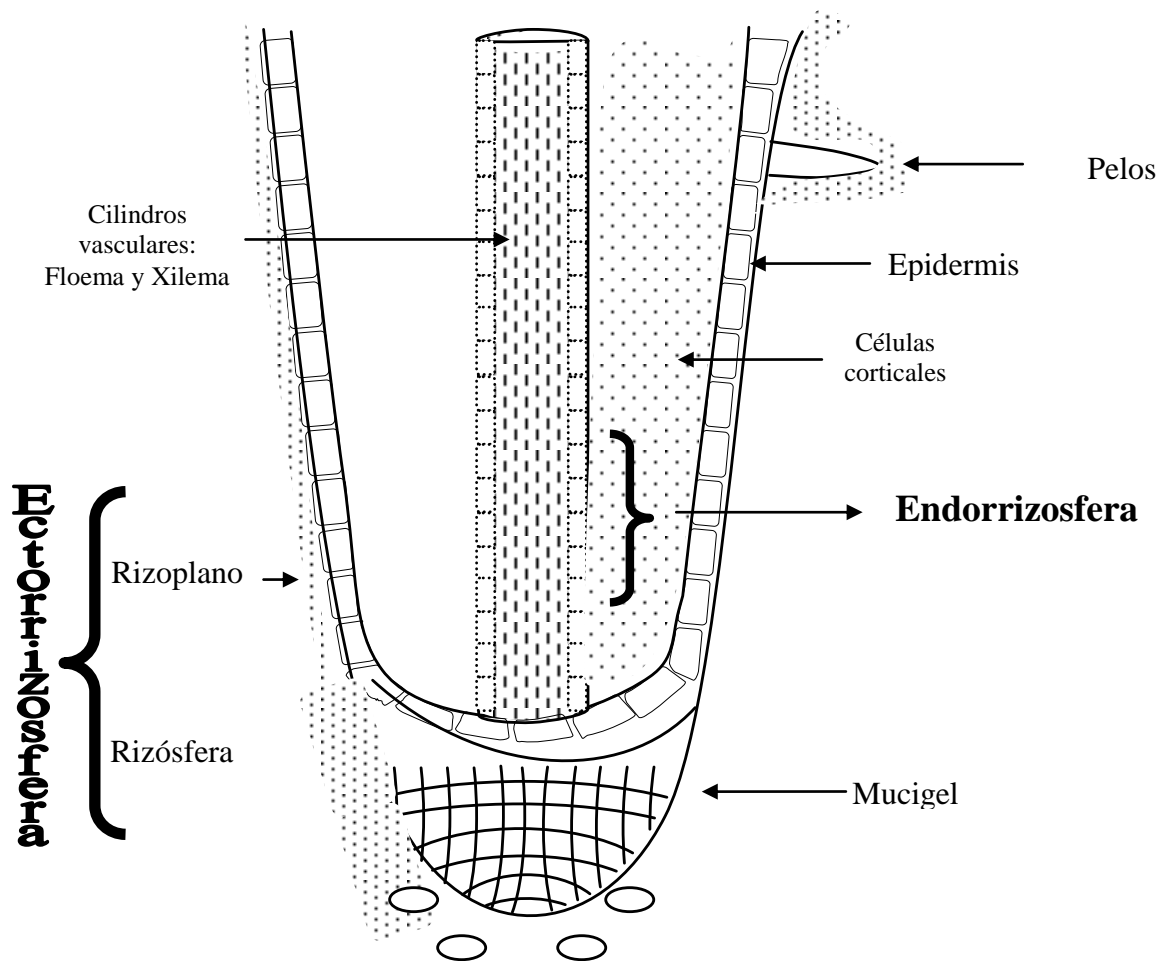


Figura 2. Estructura de una raíz y la rizósfera correspondiente. Fuente: adaptado, Brimecombe *et al.*, 2001.

El efecto de estimulación sobre los microorganismos se denomina el efecto rizósfera, es un indicador de proporción de relación de la rizósfera y el suelo a distancia. La naturaleza física y química de la zona alrededor de la raíz y las diferencias biológicas con el suelo han sido estudiadas extensamente, por diferentes investigadores. El fenómeno de acumulación de microorganismos alrededor de la zona de la raíz ha sido reportado en una gran cantidad de trabajos (Manoharachary y Mukerji 2006). Lo que hace diferente a estas zonas son los exudados de las raíces que se depositan en el espacio de la rizósfera entre estos, secreciones, lisados, mucílagos de plantas y mucigel (Alexander, 1980; Raina *et al.*, 2000). Se han identificado también algunos compuestos en la composición de los exudados (Cuadro 2).

Cuadro 2. Productos excretados por plantas crecidas bajo condiciones asépticas.

Aminoácidos	Esencialmente todos los aminoácidos que existen naturalmente.
Ácidos orgánicos	Acético, butírico, cítrico fumárico, glicólico, láctico, málico, oxálico, propiónico, succínico, tartárico, valérico.
Carbohidratos Derivados de ácidos nucleicos	Arabinosa, desoxirribosa, fructosa, galactosa, glucosa, maltosa, manos, oligosacáridos, rafinosa, ramnosa, ribosa, sacarosa, xilosa.
Factores de crecimiento	Adenina, citidina, guanina, uridina p-Aminobenzoato, biotina, colina, inositol, ácido nicotínico, pantotenato.
Enzimas	Amilasa, invertasa, fosfatasa, proteasa
Otros compuestos	Auxinas, glutamina, glicósidos, HCN, p-hidrobenzoato, péptidos, saponina, escopoletina.

Fuente: Alexander, 1980. Atlas y Bartha, 2002.

Las poblaciones de microorganismos presentes en la rizósfera de las plantas dependen de la especie vegetal, suelo y factores ambientales. Las bacterias, hongos y actinomicetos son los habitantes en mayor número de la rizósfera (Raina *et al.*, 2000).

4.4.1.1. Bacterias benéficas para las plantas

Los microbios que habitan en la zona de la rizósfera son organismos benéficos, neutros y dañinos para las plantas (Atlas y Bartha, 2002; Narula *et al.*, 2005). Los microorganismos tienen funciones específicas para mejorar la productividad de la planta, incluyendo fijación de N, solubilización de P, promoción del crecimiento vegetal y control biológico de patógenos de la planta (Canbolat *et al.*, 2006). Las bacterias que ejercen efectos benéficos en el desarrollo y producción de la planta son llamadas rizobacterias promotoras del crecimiento (PGPR) (Canbolat *et al.*, 2006; Kloepper, 1993). Este tipo de bacterias son capaces de colonizar las raíces, convertir el N atmosférico a amonio, solubilizar el P inorgánico insoluble a P soluble y disponible para las plantas (Rivera-Cruz y Trujillo, 2008). A las bacterias fijadoras de N se les llama diazotróficas y se les clasifica como *Azospirillum*, *Azotobacter* o *Pseudomonas* ssp. (Marschner, 1995). Dentro de las bacterias solubilizadoras de P se ha reportado a *Pseudomonas*, *Flabobacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium* y *Bacillus* (Alexander, 1980).

4.4.1.1.1. *Azospirillum* sp

Azospirillum es reportada por primera vez en 1982 y existen hasta la actualidad seis especies *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) Comb. nov., *A. brasilense* sp. nov. (Rao, 1982), *A. amazonense* (Magalhães *et al.*, 1983), *A. halopraeferans* (Reinhold *et al.*, 1985), *A. irakense* (Khammas *et al.*, 1989) y *A. largomobile* (Ben Dekhil *et al.*, 1997), esta especie se corrigió a *A. largimobile* (Sly y Stackebrandt, 1999).

El género *Azospirillum* es una bacteria fijadora de N de vida libre, produce fitohormonas y sideróforos, solubiliza el P, promueve la síntesis de enzimas que modifican los niveles de fitohormonas (Díaz y Ortégón, 2006). Son Gram negativo, tiene gránulos de polihidroxibutarato (Rao, 1982). Las células tienen una media espiral doblada y muestran movimiento. *Azospirillum* coloniza la superficie de las raíces de las plantas (Mostajeran *et al.*, 2007). Se han localizado densidades hasta de 6.8×10^6 UFC g⁻¹ de suelo rizosférico en plantas de tomate (*Lycopersicon*

esculentum, Mill.), 11 y 10×10^5 UFC g^{-1} en *Citrus latifolia* L. y en *Lactuca sativa* L., respectivamente. Las plantas de importancia agrícola en donde se hospeda *Azospirillum* son trigo, maíz, sorgo, arroz, cebada, avena (Mostajeran *et al.*, 2007) y en cultivos perennes como el café, limón persa (Silva, 2007) y banano (Rivera-Cruz *et al.*, 2008). Estos atributos han sido probados en la planta de trigo, al inocular 50 mg L^{-1} de Zinc e inóculo de *A. brasilense*, la planta mostró un incremento en su crecimiento, en la tasa fotosintética y la productividad (Mohsen y Magda, 2004).

Azospirillum se ha localizado en diferentes sistemas rizosféricos, variando en densidades, en el Cuadro 3 se especifican seis especies vegetales, se ha probado su potencial para liberación N, entre estas se reporta que *Azospirillum* al inocularlo en estiércol de pollo a los sesenta días produce una liberación de 4.18% de N (Córdova *et al.*, 2009).

Cuadro 3. *Azospirillum*, *Azotobacter* y *Pseudomonas* en rizósfera de diferentes plantas.

Planta	Bacterias en rizosfera (UFC g^{-1} s.s)			Fuente
	<i>Azospirillum</i>	<i>Azotobacter</i>	<i>Pseudomonas</i>	
<i>Lactuca sativa</i> L.	10×10^5			Lai <i>et al.</i> , 2008
<i>Musa paradisiaca</i> AAA Simmonds	140×10^3	80×10^3	42×10^3	Rivera-Cruz <i>et al.</i> , 2008
<i>Musa AAA simmonds</i>	15×10^4	28×10^4	50×10^5	Córdova, 2007.
<i>Lycopersicon</i> <i>esculentum</i> , Mill.	6.8×10^6	6.4×10^6	1.5×10^6	Terry <i>et al.</i> , 2005
<i>Citrus latifolia</i> L.	11×10^5	97×10^3	35×10^2	Silva, 2007.
<i>Triticum aestivum</i> L.		59×10^1		Katznelson, 1961.

4.4.1.1.2. *Azotobacter* sp

Azotobacter pertenece a la familia Azotobacteriaceae. Beijerinck fue el primero en aislar del suelo y describir bacterias de este género. Los géneros que se han reportado en suelo y rizósfera son: *A. chroococum*, *A. agilis*, *A. vinelandii*, *A. beijerinckii*, *A. insignis*, *A. macrocytogenes* and *A. asipaspali*. *A. chroococum* (Rao, 1982).

Las principales características de este género bacteriano se relacionan con la inclusión de bacterias aerobias estrictas, polimórficas, forma microscópica alargada, el tamaño de las células jóvenes varían de $2-7 \times 1-2.5 \mu\text{m}$ y ocasionalmente en estado adulto las células pueden medir de 10 a $12 \mu\text{m}$ (Rao, 1982). Las células jóvenes tienen flagelos que sirven como órganos de locomoción. *Azotobacter* es un organismo aeróbico y requiere oxígeno para formar ATP, pero para fijar N actúa en procesos anaeróbicos. La morfología de las células depende de la composición del medio. Las formas pueden ser puntiformes, circulares o amiboides, bordes enteros, elevación elevada y mucilaginosa (Rivera-Cruz, 2008).

Las bacterias del género *Azotobacter* crecen bien en medios de cultivo que contengan como fuente de carbono manitol, glucosa, sacarosa o ácidos orgánicos (Rao, 1984). El medio utilizado en el cultivo de *Azotobacter* son Ashby's, Jensen's, Burk's, Beijerinckia y Derxia (Rao, 1982). Las células de *Azotobacter* sp normalmente no se presentan en el rizoplano (superficie de la raíz), sino que son abundantes en la rizósfera (el suelo que rodea las raíces). El dominio de *Azotobacter* en la rizósfera se ha mostrado en diferentes resultados de investigaciones, en el Cuadro 3 se observan densidades desde 10^3 hasta 10^6 UFC g^{-1} s.s en rizósfera de plantas cultivadas por el hombre.

La función de *Azotobacter* primeramente es fijar N molecular, pero especies como *A. chroococum* tienen la habilidad para sintetizar auxinas, vitaminas, sustancias de crecimiento y antibióticos antifúngicos. El rango de fijación es de 2-15 mg N fijado g^{-1} de fuente de carbón utilizado, aunque se han reportado valores más altos (Rao, 1982). Por lo tanto, estos atributos de *Azotobacter* pueden explicar los efectos benéficos de la bacteria en la germinación de semillas (Rao, 1982).

4.4.1.1.3. Bacterias Solubilizadoras de fósforo (BSP)

Las bacterias solubilizadoras de P, conforman un grupo integrado por los géneros *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium* y *Bacillus* (Rivera-Cruz, 2008). Estas bacterias son las responsables de la conversión de los compuestos inorgánicos insolubles de fósforo a formas solubles y disponibles para las plantas.

La solubilización de P la realizan las bacterias por medio de la secreción de ácidos orgánicos; tales como ácidos fórmico, acético, propiónico, láctico, glicólico, fumárico y ácido succínico (Rao, 1984). Estos ácidos disminuyen el pH y logran la disolución de las formas de fosfato. Algunos de los ácidos hidroxilo pueden quelatar con calcio y hierro resultando en efectiva solubilización y utilización de fosfato (Rao, 1982).

Existen tres mecanismos básicos para solubilizar el P mineral y hacer que resulte más disponible: la quelatación, la reducción del hierro y la acidificación. Todos estos métodos desestabilizan los minerales en los que se encuentra el fósforo (Coyne, 2000).

Estas bacterias son las responsables de la conversión de los compuestos inorgánicos insolubles de fósforo que no están disponibles para las plantas a formas solubles. Suelen ser abundantes en la rizósfera de las plantas. Estas bacterias utilizan fuentes minerales fosfatadas, satisfacen sus necesidades nutrimentales y la otra parte del fósforo disponible, no utilizada por la bacteria, se acumula en la solución del suelo (Rivera-Cruz, 2008).

4.5. Entradas del sistema: fertilización

4.5.1. Concepto e importancia de la fertilización

La fertilización es definida como la aplicación al suelo de cualquier material orgánico e inorgánico de origen natural o sintético para el suministro de uno o más de los elementos nutritivos esenciales y que estén disponibles en un plazo más o menos corto para el crecimiento y multiplicación de los organismos que lo habitan (Fuentes, 2002).

La importancia de adicionar al suelo compuestos inorgánicos y orgánicos es incrementar elementos nutritivos y/o favorecer la capacidad del suelo para retener temporalmente esos elementos y disponerlos para los organismos y plantas. La fertilización según el tipo de producto utilizado, se le clasifica en inorgánica y orgánica. Un fertilizante inorgánico es aquel producto natural o sintético que no es de origen animal o vegetal (Salgado *et al.*, 2006), sino que es obtenido de diversos minerales (Tyler, 2007), que el planeta viviente posee.

La fertilización inorgánica es la aplicación al suelo-planta de productos sintéticos minerales que contienen macronutrientes y micronutrientes y que en poco tiempo están disponibles, entre los primeros se localizan los siguientes: N, P, K, S, Ca y Mg, entre los segundos al Fe, Mn, B, Cu, Zn, Mb (Navarro y Navarro 2003).

4.5.1.1. Fertilización orgánica

Un fertilizante orgánico es un producto de origen animal y/o vegetal, éste puede estar descompuesto o en proceso de descomposición, también puede ser un producto integrado con células vivas, los cuales al adicionarlos al suelo incorpora altos contenidos de carbón orgánico. Los fertilizantes orgánicos tienen la particularidad de ser económicos; se pueden obtener y fabricar con técnicas tradicionales, se ha demostrado que su uso beneficia simultáneamente las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Meléndez, 2003). Además es fuente importante de micro y macronutrientes especialmente N, P, y S, siendo particularmente elemental el P orgánico en los suelos ácidos. La fertilización orgánica ayuda a la estabilización de la acidez del suelo y actúa como agente quelatante del aluminio y micronutrientes previniendo su lixiviación, evita la toxicidad de los mismos, regula los fenómenos de adsorción especialmente la inactivación de plaguicidas, mejora la capacidad de intercambio del suelo, cohesión y estabilidad de los agregados del suelo, disminuye la densidad aparente, aumenta la capacidad del suelo para retener agua, es fuente energética de los microorganismos especialmente por sus compuestos de carbono, estimula el desarrollo radicular y la actividad de los macro y microorganismos del suelo (Meléndez, 2003).

4.5.1.1.1. Clasificación de los fertilizantes orgánicos

Los fertilizantes orgánicos también se conocen como abonos orgánicos, e incluyen un grupo muy variado de materiales (Uribe, 2003). En ellos se localizan a los estiércoles, abonos verdes y compostas. Los estiércoles son deyecciones de los animales de granja y los abonos verdes se refieren a las plantas verdes preferentemente en estado de floración que se entierran en el suelo (Salgado *et al.*, 2006). La composta es la conversión biológica controlada y conversión de material orgánico sólido a sustancias húmicas estables, obtenidos de un proceso oxidativo aerobio. Además de los fertilizantes orgánicos ya citados están los biofertilizantes, éstos son inoculaciones microbianas o grupos de microorganismos, los cuales, de una forma u otra, proveen y mejoran la disponibilidad de nutrientes cuando se aplican a los cultivos (Acuña *et al.*, 2003). En el Cuadro 4, se muestran cuatro tipos de fertilizantes orgánicos (estiércol, residuos vegetales, composta y biofertilizantes) y los respectivos materiales que se utilizan para en su elaboración.

Cuadro 4. Fertilizantes orgánicos y materiales que los integran.

Tipo de fertilizante orgánico	Materiales	Fuente
Estiércol	Conejo, caballos, gallinas ponedoras y de engorda, ovejas, cerdos, bovinos	Salgado <i>et al.</i> , 2006
Abonos verdes	Trébol rojo, alfalfa, chicharo forrajero, maíz forrajero, garbanzo, haba común (Chica), lupino blanco, soya, fríjol	Acuña <i>et al.</i> , 2003.
Compostas	Orgánicos como: residuos orgánicos vegetales y animales, fermentadores vivos, agua, suelo.	Soto, 2003
Biofertilizante	Acarreadores sólidos y/o líquidos que sostienen organismos vivos reguladores del crecimiento vegetativo (bacterias fijadores de N, bacterias solubilizadoras de P, bacterias de asociación simbiótica y hongos mutualistas) y microorganismos celulíticos.	(Vessey, 2003, Soto, 2003)

4.5.2. Los biofertilizantes en la sostenibilidad agrícola

Los biofertilizantes se han identificado como una alternativa de fertilización química para incrementar la fertilidad del suelo y la producción de cosecha en granjas sustentables (Wu *et al.*, 2005). Existen diferentes definiciones del concepto, pero la mayoría coinciden que es un producto que contiene como elemento central células vivas de diferentes tipos de microorganismos, con habilidad para convertir elementos no disponibles a disponibles a través de procesos biológicos. Así mismo en su elaboración se utilizan acarreadores orgánicos e inertes para facilitar la supervivencia de los microorganismos hasta el momento de incorporarlos al suelo (Rao, 1982; Vessey, 2003; Wu *et al.*, 2005; Rivera-Cruz, 2008).

El efecto de los biofertilizantes en el sistema de la producción agrícola es muy variado, depende de las características del mismo, esto es de los microorganismos y acarreadores que lo integran. Del biofertilizante se manifiesta no solamente un efecto en el suelo, sino, en muchas ocasiones, varios efectos en forma conjunta. En el Cuadro 5, se especifican los diferentes efectos del biofertilizante, la función de los microorganismos y acarreadores orgánicos en el suelo.

Cuadro 5. Efecto de los biofertilizantes en suelo y función de microorganismos y acarreador.

Efecto en suelo	Función	
	Microorganismos	Acarreador orgánico
Descomposición de materia orgánica	<ul style="list-style-type: none"> • Aceleración de compostaje • Descomposición de materia orgánica en el suelo 	<ul style="list-style-type: none"> • Aumento de materia orgánica y carbón orgánico.
Mejoramiento de suelo	<ul style="list-style-type: none"> • Formación de suelo agregado, • Cambio de pH 	<ul style="list-style-type: none"> • Aumento de macronutrientes y macronutrientes. • Quelatación
Efecto nutricional para las plantas	<ul style="list-style-type: none"> • Fijación N • Mineralización (N inorgánico, etc) • Nitrificación • Biomasa N y P 	
Crecimiento de plantas	<ul style="list-style-type: none"> • Producción de hormonas, • vitaminas, enzimas, etc. 	
Control de enfermedades y plagas	<ul style="list-style-type: none"> • Efecto supresivo a patógenos, nematodos 	
Estimulación de microflora	<ul style="list-style-type: none"> • Aumento de densidad microbiana 	<ul style="list-style-type: none"> • bioestimulación de microflora

Okumoto, 2003.

Además de vitaminas, los microorganismos producen sustancias bio-activas como fitohormonas (Cuadro 6) y antibióticos. Muchos patógenos de plantas son bastante sensibles a los antibióticos tales como estreptomina, griseofulvina, cicloheximida, tetraciclina, penicilina. Es conocido que muchos de estos antibióticos son producidos por *Streptomyces*, *Bacillus*, *Penicillium* y otros (Okumoto, 2003).

Cuadro 6. Fitohormonas para el crecimiento de plantas y algunos microorganismos productores de hormonas.

Fitohormona	Efecto	Microorganismos
Auxina	Crecimiento	<i>Azotobacter, Rhizopus,</i>
	Ramificación de raíces	<i>Plasmodiophora, Pseudomonas,</i>
Giberelina	Crecimiento de plantas	<i>Rhizobium, Azospirillum, Franckia,</i>
	Floración	<i>Gibberella, Azotobacter, Arthrobacter</i>
Citocininas	División celular	<i>Azotobacter, Agrobacterium,</i>
	Crecimiento de raíces	<i>Arthrobacter</i>
Etileno	Efecto supresivo del suelo	<i>Pseudomonas, Mucor</i>

Okumoto, 2003.

4.5.2.1. Los biofertilizantes en suelo-planta

En años recientes los biofertilizantes son fertilizantes orgánicos, integrados con organismos reguladores del crecimiento vegetativo sostenidos en acarreadores orgánicos y minerales, han emergido como un importante componente de los sistemas de suministro de nutrientes integrados y tienen el objetivo de mejorar el suelo en sus propiedades físicas, químicas y biológicas, que le permita sostener a largo plazo el desarrollo de la planta y rendimiento de cosecha.

Existen avances significativos en el uso de biofertilizantes en la mejora del suelo y producción de cultivos. En suelo se ha localiza mejora en propiedades físicas y química, según Rivera-Cruz *et al.*, (2008) el suelo plantado con banano e inoculado con biofertilizantes integrados con acarreadores orgánicos y consorcio de bacterias reguladoras del crecimiento vegetal (PGPR), el por ciento de agregados, los contenidos de carbono soluble, carbohidratos, P disponible en suelo incrementan con la adición de biofertilizantes. Así mismo en suelo plantado con naranjo agrio (*Citrus aurantifolia* L) sometidos a tipo y dosis de biofertilizantes se mejoran los contenidos de C orgánico, N total, P disponible en suelo (Rivera-Cruz *et al.*, 2010).

En producción de cultivos se reporta que los biofertilizantes la aumentan, Aguirre *et al.*, (2007) menciona el efectos de biofertilizantes (integrados con la bacteria *Azospirillum brasilense* y el hongo *Glomus intraradices*) en el desarrollo vegetal y nutrimental de plántulas de cacao en dos condiciones de suelo (suelo tratado con bromurazo y suelo no tratado) en vivero durante seis meses. Los resultados mostraron que la planta creció 9 cm más cuando estuvo biofertilizada; a los 180 días de la siembra las plantas biofertilizadas produjeron en promedio 12.4 % más materia seca que el testigo. La materia seca radical fue 2 % mayor que en suelo tratado, con relación al peso seco del tallo, la mayor asignación de materia seca fue con *Glomus* y cuando se combinó con *Azospirillum*.

En cuanto al N foliar, a los 150 días de la siembra se encontró el mayor contenido de N₂ (0.236 %) en plantas cultivada en suelo con biofertilizante, el contenido de P y Ca fue también mayor en los tratamientos en donde se utilizó biofertilizante.

En banano, Rivera-Cruz *et al.*, (2008) encontró que el crecimiento de la planta (altura) fue mayor cuando se incrementó la dosis de biofertilizante aplicada. Los biofertilizantes integrados con residuo de banano (pinzote) como sustrato y 4 % de dosis, aumentaron 159 y 421 g de materia seca aérea y radical respectivamente que en suelo testigo. El N foliar en banano fue mayor (18.4, 26.5, 27.3 y 28.6 g kg⁻¹) por efecto de los biofertilizantes con estiércol de ave en las cuatro dosis (1, 2, 3 y 4 %) en comparación con el biofertilizante con sustrato residuo de banano. Conforme se aumentaban las dosis de biofertilizantes preparados con residuos de banano, el P foliar incrementó 169 % respecto al testigo.

Estudios realizados por Wu *et al.*, (2005) revelan que la aplicación de biofertilizante conteniendo hongo micorrízicos y tres especies de bacterias, al aplicarlos en la planta de maíz incrementan significativamente el desarrollo de la planta. La biomasa seca acumulada por efecto de los biofertilizantes fue 8.46 g más que en suelo testigo, asimismo la altura del maíz incrementó hasta los 102 cm en comparación de los más de 40 cm obtenidos en suelo testigo. El uso de biofertilizante en el estudio produjo biomasa y altura mayores en la planta de maíz. El estudio indicó también que parte del aumento de la aplicación del biofertilizante tenía efectos similares cuando lo comparaban con tratamientos de fertilizantes orgánicos o fertilizantes

químicos. Los inoculantes microbianos no sólo aumentaron la asimilación nutritiva de la planta (N total, P y K), sino que mejoraron las propiedades del suelo, como el contenido de materia orgánica y N total.

4.6. El sistema de producción en vivero del limón persa

El sistema de producción de plantas en el vivero, es una actividad productiva básica para el desarrollo de la fruticultura y en especial para las plantaciones de limón persa (*Citrus latifolia* Tan), en ella el hombre establece claras relaciones de interacción con la naturaleza, con el desarrollo tecnológico, desarrollar a la planta, aumentar la productividad de follaje y frutos. El uso de plántulas con raíces y follaje vigoroso, proveniente de vivero, permite que una plantación en campo se establezca y adapte en menor tiempo, desarrolle un sistema radicular y sea productiva en corto tiempo.

La producción de plantas en vivero consiste de dos fases; la primera el desarrollo de porta injertos y la segunda el desarrollo del injerto. El tiempo en que el porta injerto como es el naranjo agrio, alcanza el estado fisiológico para injertarlo es de ocho meses. Después del injerto del naranjo agrio con limón persa, en el periodo de tres a seis meses el injerto desarrollo el proceso de crecimiento, a esta edad la planta puede ser transplantada a campo (Curti-Díaz *et al.*, 2000). Según la Comisión Veracruzana de Comercialización Agropecuaria el tiempo para que las plantas de limón persa este en su punto terminal para el trasplante en campo es de 18 a 24 meses, cuando el injerto este arriba de los 40 cm (Vanegas, 2002).

Las plantaciones de limón persa en el campo mexicano, desde los años setenta hasta la actualidad, utilizan como patrones tradicionales a variedades criollas como el naranjo agrio, el cual es un principio básico de respecto y conservación al germoplasma nativo (De la Osa y De la Osa, 2005). Sin embargo a partir del 2001 en México, las plantaciones de limón persa con el objetivo de diversificar y lograr tolerancia a enfermedades, han sido diversificados los patrones, y se reportan 14 especies diversas de porta injertos, entre éstos se encuentran citrange Carrizo, citrange Morton, citrange Troyer, citrange Yuma, citrange C-32, citrange C-35, citrumelo Swingle, *Citrus volkameriana*, flying dragón, lima Rangpur, limón rugoso, mandarina Cleopatra, mandarina Sunki y *Poncirus trifoliata*. Se destacan por ser a la fecha los más solicitados *Citrus*

volkameriana (42 %), citrange Carrizo (16 %), *Citrus microphylla* (12 %), mandarina Cleopatra (7 %) y citrange Troyer (6 %) (Robles *et al.*, 2008).

La producción de plantas de limón persa en vivero, injertadas en naranjo agrio (*Citrus aurantifolia* L) reportó su auge en los años noventas cuando se establecieron las primeras plantaciones en México. Actualmente ha disminuido su uso, sin embargo en el campo, los productores mencionan que prefieren al limón persa injertado en naranjo agrio, debido a que la planta es mas productiva (información directa de campo, Ing. Noriega 2007).

La producción de plántulas de limón persa en vivero no certificados y en producción procede de 18 estados de la republica mexicana, con una producción promedio de 5,688, 587 plantas anuales (Contreras, 2007). La característica de estos procesos es que presentan un sistema de producción tecnificado, en donde se utilizan plaguicidas químicos y fertilizantes inorgánicos para el control de enfermedades y arvenses.

En el sistema de producción en vivero de cítricos, ubicados en el sureste de México se utiliza un paquete tecnológico a base de insumos químicos: herbicidas, plaguicidas (fungicidas e insecticidas), fertilizantes inorgánicos al suelo y al follaje. Las aplicaciones de fertilizantes inorgánicos al suelo y al follaje se realizan cada 30 días. Así mismo, la producción de plantas en vivero esta basado en la certificación de yemas, porta injertos nativos y no nativos de la región. Entre los no nativos; [carrizo (*Citrus volkameriana*), dragón volador (*Citrus microphylla*), y Troyer (*Poncirus trifoliata* x *C. Sinensis*)] y entre los nativos de la región [naranjo agrio (*Citrus aurantifolia* L)].

4.6.1. Etapas del proceso de producción de limón persa en vivero

El proceso de producción de limón persa injertado en naranjo agrio consta de tres etapas sucesivas:

- 1) Producción de patrones a nivel plántula. La etapa involucra las siguientes actividades; preparación de suelos, selección de semillas, establecimiento de almácigo, labores culturales y corte de plántulas.
- 2) Producción de patrones a nivel de planta. Se requiere realizar la preparación de suelo, trasplante a contenedores, labores culturales y producción de plantas.
- 3) Producción de plantas injertadas. Requiere que se realicen actividades como la producción de yemas, injerto de patrones, labores culturales y producción de plantas injertadas.

Los patrones desarrollados se injertan a la edad de seis a ocho meses, cuando tienen una altura de 30 ó 40 centímetros y un diámetro basal de tallo promedio de dos centímetros (Vanegas, 2002). Obtenidas las yemas de limón que se desean injertar, se eliminan las ramas laterales y las espinas del área del patrón donde se hará el corte del injerto. La técnica de injerto que se utiliza es de yema tipo escudete o también llamado injerto de "T", inmediatamente posterior al injerto se elimina la copa del patrón y se sella el corte con pintura de aceite color azul.

4.6.1.1. Labores culturales

A los 15 días posterior al injerto de los patrones de cítricos se realiza la fertilización, los fertilizantes que se utilizan son; urea (5 gramos al suelo ó 25 kg diluido en 200 litros de agua), Biogreen y Fertimex (1 kg de cada uno en 200 litros de agua). Estos fertilizantes se aplican cada 15 días hasta que la planta sale del vivero, aproximadamente por 18 mese. El control de plagas (pulgones y arañas) se realiza aplicando dos productos, Lorsban 480EM se preparan 500 ml diluido en 200 litros de agua y Kirio*7 con 250 g diluida en 200 litros de agua. Estos productos solo se utilizan cuando existe una incidencia mayor al 10% de la enfermedad y se presenta principalmente en retoños del injerto.

Las hiervas que aparecen dentro de las plantas injertadas se eliminan manualmente cada 30 días. El riego se realiza por goteo y micro-aspersión y se realiza diariamente a partir de las 18:00 horas hasta las 6:00 a.m. por intervalos de 90 minutos entre tablas, sobre todo en temporada de seca (abril y mayo).

Después del injerto las plantas permanecen dos meses hasta cuatro meses en el vivero, durante este tiempo la planta logra la altura y madurez. Se seleccionan las plantas mas vigorosas y libres de plagas o enfermedades las cuales estas disponibles para su venta y traslado para plantarlas en la huerta.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el área de Ciencia Ambiental, Laboratorio de Microbiología Ambiental del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, en la ciudad de H. Cárdenas Tabasco. Se desarrolló en cinco etapas secuenciales (Figura 3): Etapa I. Trabajo de campo. Etapa II. Prebioensayo. Etapa III. Establecimiento de bioensayo. Etapa IV. Seguimiento de variables y Etapa V. Análisis estadísticos.

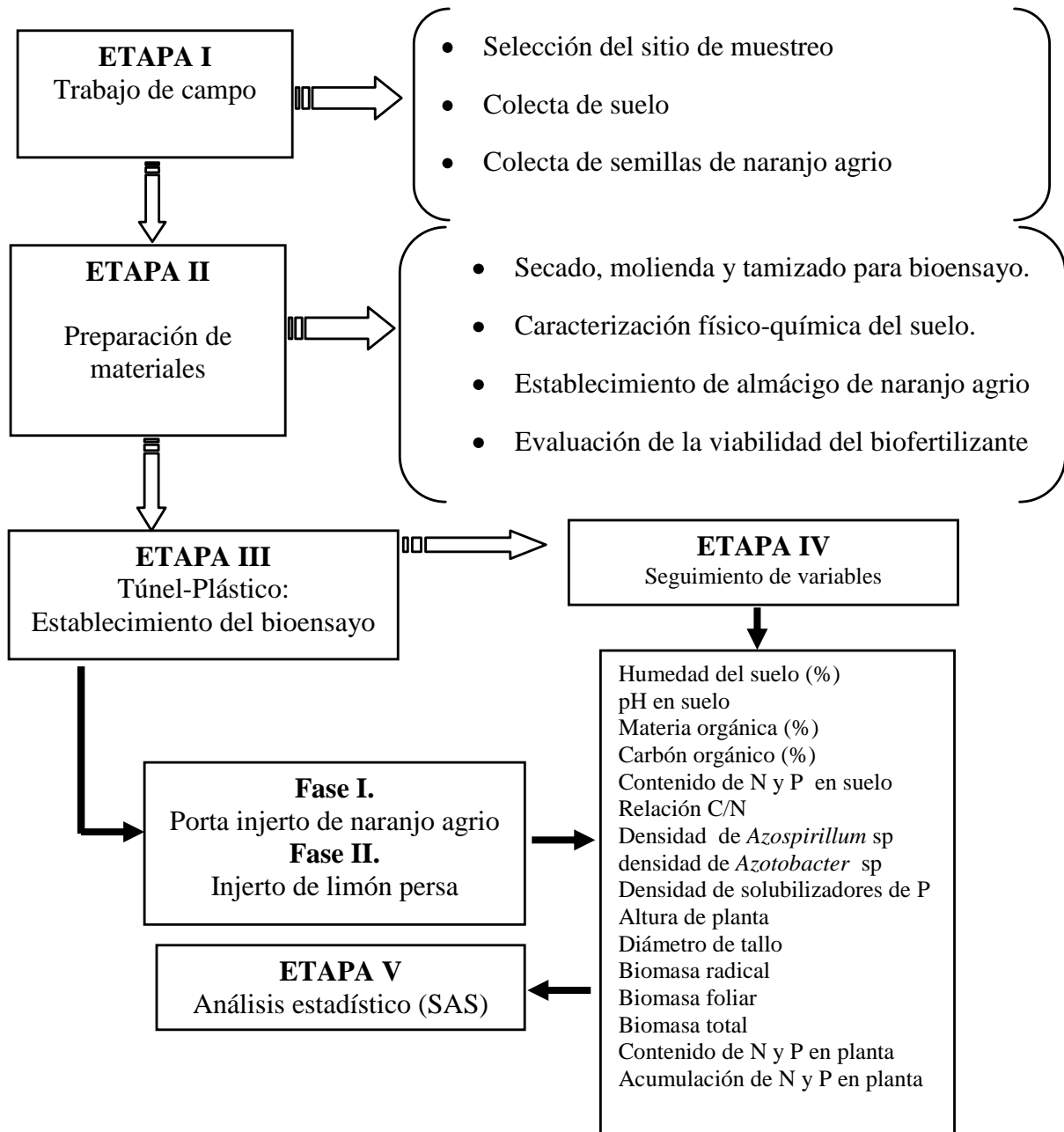


Figura 3. Flujo grama de trabajo

5.1. ETAPA I: Trabajo de campo

Consistió en la selección del sitio de muestreo para la colecta de suelo y selección de plantas de naranjo agrio para obtener semilla de calidad y viables.

5.1.1. Selección del sitio de muestreo y colecta de suelo

Se seleccionó un suelo con cultivo de limón persa que se ha utilizado en investigaciones recientes (Rivera-Cruz *et al.*, 2006^a; Rivera-Cruz *et al.*, 2006^b; Rivera-Cruz *et al.*, 2007; Silva, 2007; Rivon, 2008) en la línea de investigación desarrollo de sistema de fertilización orgánico para el cultivo del limón persa (*Citrus latifolia* T.) en Huimanguillo, Tabasco (TAB-2005-C-06-16416). Fondos Mixtos-CONACYT. El suelo en la capa superficial (0-20 cm) es Acrisoles Vético cutánico Umbrico (Silva, 2007) localizado en el rancho Los Migueles, ejido Tierra Nueva tercera sección, municipio de Huimanguillo, Estación Chontalpa, al suroeste de la ciudad de Huimanguillo, Tabasco. Las coordenadas geográficas del sitio son 17° 43' 11.17" de latitud norte y 93° 28' 43.31" de longitud oeste (Figura 4).

Se colectó 300 kg de suelo (muestra compuesta) y se introdujo en bolsas de plástico negro, posteriormente se transportó a las instalaciones del Laboratorio de Microbiología del Colegio de Postgraduados, Campus-Tabasco.

5.1.2. Selección y colecta de semillas

Las semillas se colectaron de frutos fisiológicamente maduros de plantas de naranjo agrio con 12 años de edad y libres del virus de la tristeza de los cítricos, cultivadas en el rancho los Migueles. Las semillas se extrajeron de los frutos, y se les realizó la prueba de densidad, para esto se introdujeron en un vaso de precipitado con agua, las semillas que flotaron poseen baja densidad las cuales se desecharon y las semillas que se precipitaron tienen alta densidad debido al contenido (presencia) de endospermo, por lo cual fueron seleccionadas y almacenadas frescas en frascos de vidrio a 4 °C por 48 horas, hasta la siembra.

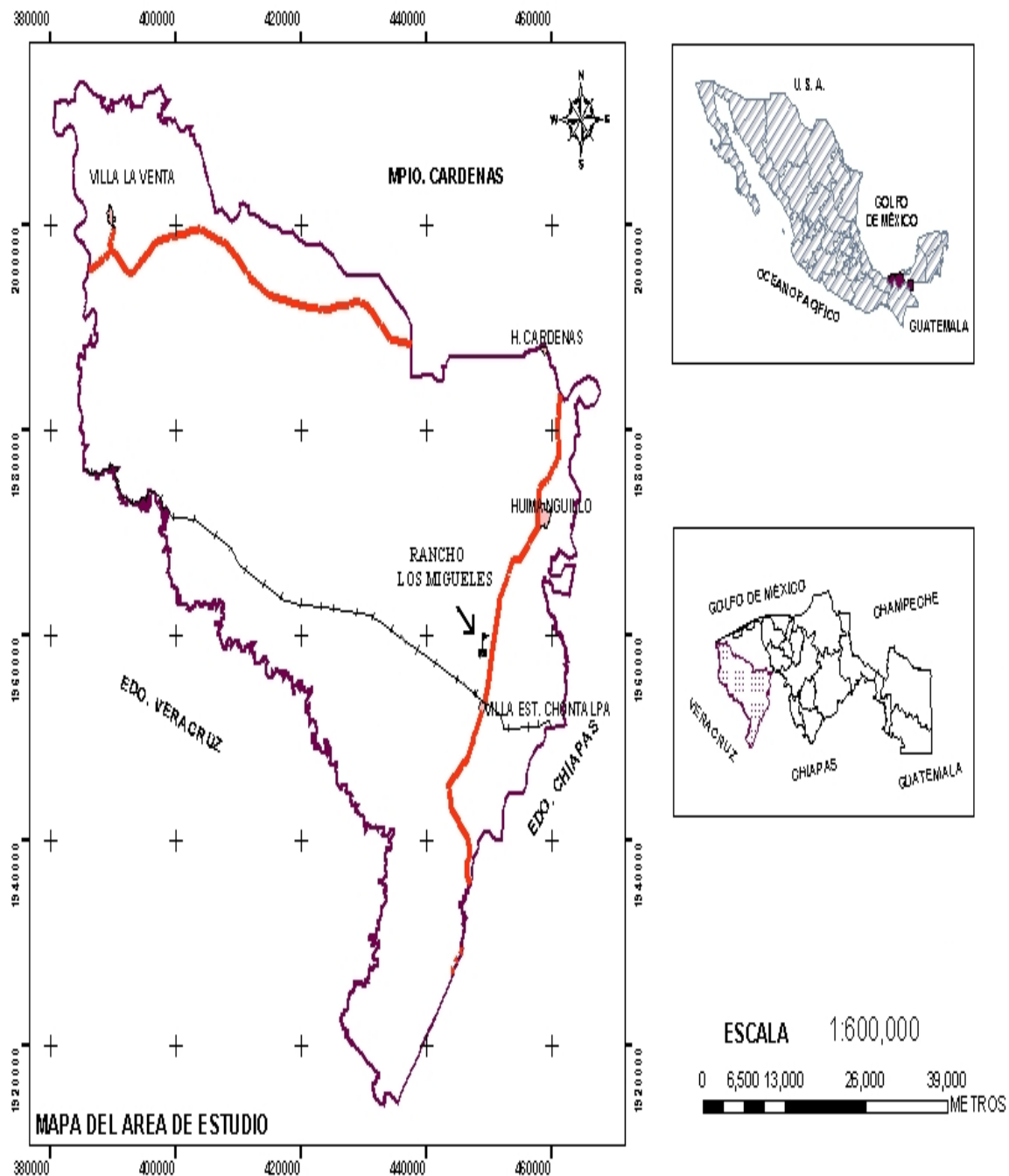


Figura 4. Ubicación geográfica del sitio de colecta de suelo en el rancho los Migueles, municipio de Huimanguillo, Tabasco.

5.2. ETAPA II: Preparación de materiales

Esta fase consistió en la preparación del suelo para el establecimiento del bioensayo, caracterización físico-químico del suelo, establecimiento de almacigo de naranjo agrio y evaluación de la viabilidad de los biofertilizantes.

5.2.1. Preparación de suelo para establecimiento de bioensayo

El secado del suelo se realizó de acuerdo al procedimiento indicado por Alcántar *et al.*, 1992 de la siguiente manera: El suelo se extendió sobre un plástico ubicado bajo sombra a temperatura ambiente. El suelo se fragmentó en forma manual, eliminándose con las manos raíces y materia orgánica. El suelo se revolvió dos veces al día para facilitar la pérdida de humedad, hasta alcanzar un 12 % de humedad. Una vez seco el suelo, se molió y se tamizó en una malla metálica galvanizada de 5 y 2 mm de abertura (Figura 5), según NOM-021-RECNAT-2000 (DOF, 2002)



Figura 5. Preparación de suelo: secado, molienda y tamizado para utilizarlo en el bioensayo.

5.2.2. Análisis físico-químico del suelo

Se determinó el pH en agua relación 2:1 v/p, la acidez intercambiable (Barnhisel y Bertsch), la textura (método hidrómetro de Bouyoucos), el por ciento de materia orgánica (Walkley y Black), la capacidad de intercambio catiónico (método por extracción con acetato de amonio 1N pH 7 y cuantificación por destilación y titulación), la textura (método de hidrómetro de Bouyoucos), el N_{total} (micro-Kjeldahl), el $P_{disponible}$ (Olsen), y el K intercambiable (método por extracción con acetato de amonio 1N pH 7 y cuantificación por absorción y emisión atómica). Los métodos analíticos utilizados están indicados en la NOM-021-RECNAT-2000 (DOF, 2002). El análisis se realizó en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas y Aguas (LASPA) del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco y en el Laboratorio de suelo y agua del INIFAP Huimanguillo, Tabasco.

Las propiedades físicas y químicas del suelo fueron interpretadas tomando como referencia los rangos indicados en la NOM-021-RENAT-2000 (DOF, 2002), la NOM-021 indica que el suelo posee una textura migajón arcillo arenosa, con un pH en agua 1:2 (4.8) fuertemente ácido, 2.24 de acidez intercambiable, CE 0.27 dS m⁻¹, 5.90 % de MOrg, 3.43 % de C. O., 27.67 mg kg⁻¹ de P (Bray y Kurtz), 0.11% Ntotal, 0.71 cmol kg⁻¹ de K, 9.4 Cmol+ kg⁻¹ de CIC (Silva, 2007).

5.2.3. Establecimiento de almácigo de naranjo agrio

La producción de plántulas de naranjo agrio fue establecida en un túnel-plástico. Los contenedores que se utilizaron fueron charolas de unicel con compartimientos de 5 cm de ancho por 15 cm de profundidad. Las charolas se llenaron con el suelo mencionado, se humedeció a capacidad de campo y se sembraron las semillas de naranjo agrio previamente seleccionadas. Se aplicó riego diariamente durante dos meses hasta que la planta alcanzó una altura de seis centímetros, manteniendo una humedad del 33 %.

5.2.3.1. Características agronómicas del naranjo agrio

El naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.), es una Rutaceae nativa de la India, los árabes lo introdujeron a la región del Mediterráneo europeo en el siglo XI. El naranjo agrio es apropiado para zonas subtropicales, tropicales y mediterráneas (Amorós, 2003).

Descripción. Es un cítrico que en el campo presenta un porte mediano hasta 10 metros de alto, pero en vivero alcanza una altura de un metro, y se injerta con una variedad de cítricos mejorado. Es un árbol erecto y espinoso. Las hojas presentan pecíolos con alas estrechas y puntiagudas, la base en forma de V (Amorós, 2003). El sistema radicular es axonomorfo con un vigoroso y extenso sistema radical, caracterizado por la presencia de abundantes raíces fines o de absorción, muchas veces laterales. La raíz principal está presente, pero frecuentemente dividida en varias raíces, después de penetrar unos 30 cm o más del suelo (Avilán *et al*, 1986). El naranjo agrio es utilizado como porta injerto de cítricos agrios y dulces y es preferido por los productores debido a su porte más vigoroso y precoz respecto a Volkameriana y Troyer, lo cual asegura los intereses de la producción estimada (Chávez-Vela *et al.*, 2003; Palacios, 1978; Curti-Díaz *et al.*, 2000).

Hábitat. Una característica del naranjo agrio es su adaptación a suelos pesados, ácidos y alcalinos. Es tolerante a la sequía, heladas, resiste a las enfermedades de la raíz, del cuello y troncos como gomosis, exocortis, xiloporosis y psorosis (Chávez-Vela *et al.*, 2003; Curti-Díaz *et al.*, 2000). Se ha detectado que es muy susceptible al virus de la tristeza, pero también se menciona que árboles de limón sobre naranjo amargo, sin chupones pueden sobrevivir en áreas afectadas con virus de la tristeza (Curti-Díaz *et al.*, 2000). Así mismo se menciona que la muerte por tristeza en naranjo agrio en campo, se presenta a los 10 o 12 años a partir de su infección por este virus, en ese periodo es continua.

5.2.3.2. Características agronómicas del limón persa

El limón persa pertenece a la familia de las Rutaceae género *Citrus*, su origen es desconocido. Se considera un híbrido entre lima mexicana (*Citrus aurantifolia* Swingle) y la cidra (*Citrus medica* Linn) puesto que las flores están desprovistas de granos de polen u óvulos viables y los frutos raras veces tienen semillas (Vanegas, 2002; Bernal *et al.*, 2001). Se cultiva en áreas tropicales y subtropicales húmedas y calurosas (Agustí, 2003). Es una planta que se propaga por yemas y requiere porta injerto para su desarrollo y producción.

Descripción. Es una variedad de árbol vigoroso de porte variado dependiendo del porta injerto utilizado, llega a medir hasta 6 metros de alto, pero en vivero alcanza una altura de 1.30 metros. Es un árbol erecto y espinoso. Sus hojas son oblongas-ovales o elípticas ovales, de 2.5 a 9 centímetros de largo, 1.5 a 5.5 centímetros de ancho, con la base redondeada, obtusa, el ápice ligeramente recortado, los márgenes crenuladas; los pecíolos son alados, pero angostos y espatulados (Vanegas, 2002). El sistema radicular es similar al del naranjo agrio dado que se injerta sobre él. El limón persa es de interés comercial para la mayoría de los productores, el fruto es ligeramente ovalado, de 5-7 centímetros de largo y de 4-6 centímetros de diámetro, tiene un peso mínimo de 55 gramos y máximo de 75 gramos, es de cáscara fina y la pulpa no presenta semillas.

Hábitat. Se le localiza desde el nivel del mar hasta los 2200 metros de altitud, en México se cultiva principalmente en la costa del Golfo en los estados de Veracruz, Tabasco y Oaxaca que contribuyendo con el 90 % de la producción nacional (Curti-Díaz *et al.*, 2000) (Rindermann y Gómez, 2005). Se adapta a suelos ácidos y se recomiendan suelos de textura franca, franco arenoso, estructura permeable y de fácil drenaje, temperaturas de los 17 °C hasta los 28 °C, es tolerante al virus de la tristeza (VTC), al respecto la Sociedad de Fitopatología Americana (2002) hace mención de la capacidad de las limas persas a tolerar el VTC a diferencia de la lima mexicana que es más susceptible.

5.2.4. Características, viabilidad y toxicidad de los biofertilizantes

Los biofertilizantes empleados en esta investigación presentan la característica de estar integrados por un acarreador orgánico sólido y un consorcio de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, ambos elementos nativos de la región citrícola del estado de Tabasco: el Bio1 (cáscara de limón más consorcio bacteriano). Bio2 (cachaza más consorcio bacteriano) y Bio3 (pollinaza más consorcio bacteriano). El consorcio bacteriano estuvo integrado por: *Azospirillum* (110S1A1, 123S3A), *Azotobacter* (197S1D1 y 215S2D), y bacterias solubilizadoras de P (201S2P y 550S2P). Los biofertilizante se elaboraron en el Laboratorio de Microbiología del Suelo siguiendo el procedimiento que plantea Silva, (2007). Las características físicas, químicas y bacteriológicas de cada biofertilizante se especifican en el Cuadro 7.

Los biofertilizantes antes de utilizarse en el establecimiento del bioensayo (Etapa III), se les realizó dos pruebas: la primera consistió en evaluar la viabilidad del biofertilizante, es decir determinar la densidad bacteriana, y la segunda prueba de dosis-respuesta de planta.

Los resultados de la densidad de cada tipo de bacterias se observan en el Cuadro 7, e indican densidades diferentes según el tipo de biofertilizante, las densidades mayores de los tres tipos de bacterias se presentan en el Bio3. La prueba de dosis-respuesta de planta a biofertilizante, se estableció en condiciones de túnel-plástico por un tiempo de tres meses. Las plántulas se expusieron a tipo (tres) y dosis (seis; 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 %) de biofertilizantes, los resultados de esta prueba piloto se publican en Rivera-Cruz *et al.*, (2007), indican que dosis de 4, 5 y 6 % causan a los tres meses inhibición en planta de naranjo agrio (toxicidad).

Cuadro 7. Características físicas, químicas y bacteriológicas de los biofertilizantes.

Característica	Biofertilizante		
	Bio1 [§]	Bio2 [¶]	Bio3 [¶]
pH	3.7	8.4	6.3
Materia orgánica (%)	68.9	45.8	98.4
Carbono orgánico (%)	40.05	26.62	57.20
Nitrógeno total (%)	1.2	3.2	5.2
Fósforo disponible (mg kg ⁻¹)	1450	2089	2869
Potasio (Cmol(+) kg ⁻¹)	0.34	16.9	34.58
<i>Azospirillum</i> sp (UFC [†] g ⁻¹ suelo seco)	11x10 ³	25x10 ⁴	48x10 ⁵
<i>Azotobacter</i> sp (UFC g ⁻¹ suelo seco)	32x10 ³	24x10 ⁵	17x10 ⁵
Solubilizadoras de P (UFC g ⁻¹ suelo seco)	11x10 ³	12x10 ⁵	26x10 ⁵

UFC[†]: Unidades formadoras de colonias. Bio1[§]: sustrato cáscara de limón + Consorcio de bacterias Promotoras del crecimiento vegetal (CBRCV) (*Azospirillum*+*Azotobacter*+Solubilizadoras de P.). Bio2[¶]: Sustrato cachaza + (CBRCV). Bio3[¶]: Sustrato pollinaza + (CBRCV).

5.3. ETAPA III: Establecimiento de bioensayo

El bioensayo de respuesta de la planta a tipo y dosis de biofertilizante se realizó sobre mesas metálicas instaladas bajo un túnel invernadero de plástico ubicado en el espacio que ocupa el área de Ciencia Ambiental, Colegio de Postgraduados, Campus-Tabasco, el cual tuvo una duración de 15 meses. Dividido en dos fases; fase 1. Establecimiento de porta injerto naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.) (12 meses) y fase 2. Establecimiento de naranjo agrio injertado con limón persa (*Citrus latifolia* T.) (3 meses).

Se utilizó un experimento con factores, distribuido completamente al azar. Para la fase uno, los factores fueron (3x3); tres tipos de biofertilizantes (Bio1, Bio2 y Bio3) y tres dosis (1, 2 y 3 %) nueve tratamientos y un testigo, en total 10 tratamientos con seis repeticiones, cada uno. Se establecieron 60 unidades experimentales (Cuadro 8). Para la fase dos, los factores fueron (3x3); tres tipos de biofertilizantes (Bio1, Bio2 y Bio3) y dos dosis (1 y 2 %), con nueve tratamientos, 27 unidades experimentales (Cuadro 8). Se eliminó la dosis del 3% con Bio3, debido a que la planta de naranjo agrio plantada en la fase una, no alcanzó el diámetro basal para injertarlo.

Cuadro 8. Tratamientos y descripción de biofertilizantes que componen el diseño experimental con planta de naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa.

Tratamientos	Biofertilizantes (factores)		Cultivo	
	Tipo	Dosis (%)	Naranjo agrio	Naranjo agrio injertado con limón persa
1	Bio	0	Si	Si
2	Bio1 [§]	1	Si	Si
3	Bio1	2	Si	Si
4	Bio1	3	Si	Si
5	Bio2 [¶]	1	Si	Si
6	Bio2	2	Si	Si
7	Bio2	3	Si	Si
8	Bio3 ^{¶¶}	1	Si	Si
9	Bio3	2	Si	Si
10	Bio3	3	Si	No

Bio1[§]: acarreador cáscara de limón+Consortio de bacterias reguladoras del crecimiento vegetal (PGPR)

(*Azospirillum*+*Azotobacter*+Solubilizadoras de P.). Bio2[¶]: Acarreador cachaza + (PGPR).

Bio3^{¶¶}: Acarreador pollinaza + (PGPR).

5.3.1. Fase 1. Establecimiento del bioensayo con planta de naranjo agrio

La fase uno consistió en la preparación de las unidades experimentales. La unidad experimental fue de una bolsa de polietileno con capacidad de 5 kg de suelo seco-molido (Figura 6a) con su correspondiente tipo y dosis de biofertilizante. Para las concentraciones 1, 2, y 3 % de biofertilizante, se pesaron respectivamente, 40, 80 y 120 gramos en una balanza digital marca Ohaus (200g de capacidad) (Figura 6b).

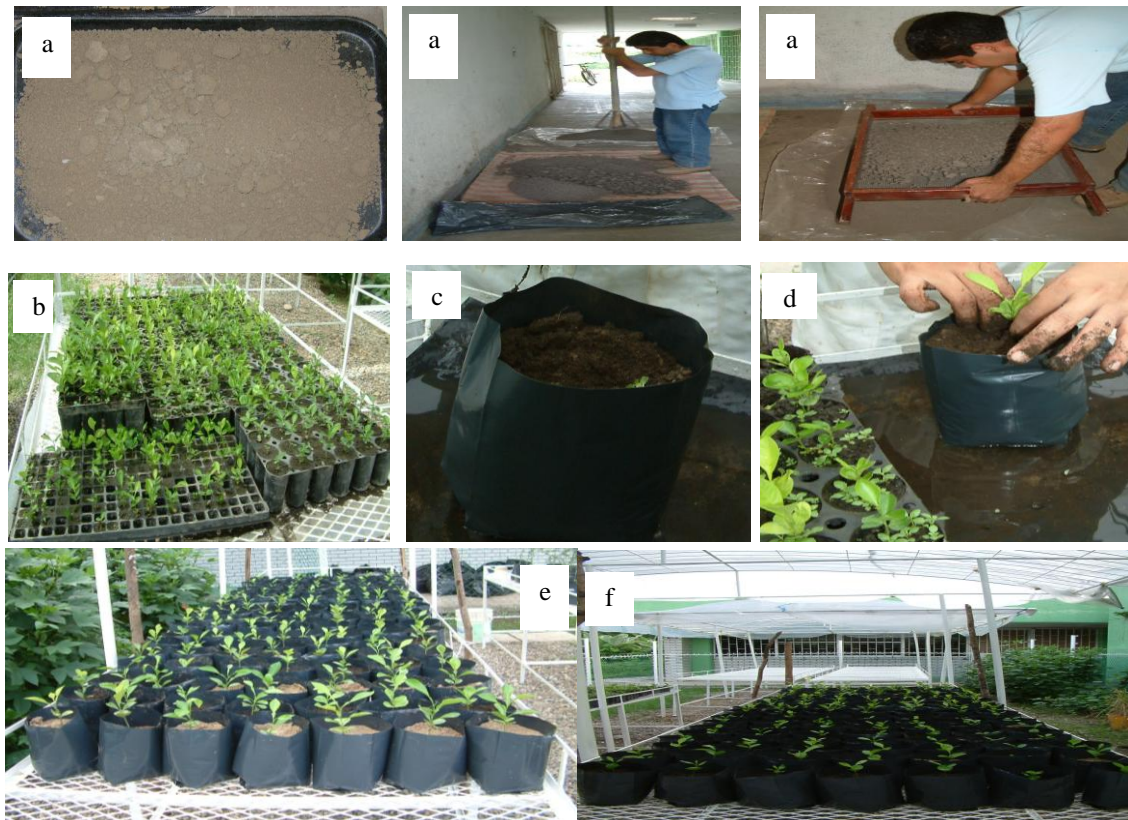


Figura 6. Bioensayo con naranjo agrio: a) secado, molienda y tamizado de suelo, b) Plántulas, c) unidad experimental, d) trasplante de naranjo agrio, e) Distribución de unidades experimentales del bioensayo.

El biofertilizante se adicionó al suelo dentro de una charola de aluminio, con una varilla de vidrio se mezcló hasta lograr una distribución homogénea y se depositó en la bolsa de plástico negra (Figura 6c).

Se aplicó riego con agua filtrada al suelo hasta un 33 % de humedad de campo, posteriormente se sembraron las plántulas de naranjo agrio (con una altura promedio de 5.9 cm), (Figura 6d). Las unidades experimentales se colocaron sobre la mesa ubicada en el túnel plástico y se distribuyeron de manera aleatoria (Figura 6ef).

5.3.2. Fase dos. Establecimiento del bioensayo naranjo agrio con injerto de limón persa

La fase dos consistió en el desarrollo por tres meses del portainjerto naranjo agrio injertado con limón persa. Esta fase inicia cuando se injerta la planta de naranja agrio con yema de limón persa. A los 12 meses de edad de las 60 planta de naranjo agria, producto de la fase uno, se seleccionaron al azar y se cosecharon 30 unidades experimentales, 27 plantas de naranjo agrio correspondientes a los primeros nueve tratamientos se injertaron con limón persa. Las plantas del tratamiento 10 no fueron injertadas debido a que el tallo no alcanzó el grosor de diámetro basal requerido (Cuadro 8). El criterio para injertar al naranjo agrio fue el grosor de tallo de la planta en el tratamiento testigo, esto es un diámetro aceptable (5.8 ± 0.2) criterio para que el injerto se adaptara y desarrollara.

5.3.3. Variables evaluadas en planta de naranjo agrio sin (fase uno) y naranjo agrio con injerto de limón persa (fase dos)

Las variables evaluadas en las dos fases experimentales fueron: a) En suelo; pH, materia orgánica (M_{Org}), carbono orgánico (C_{Org}), nitrógeno total (N_{total}), fósforo disponible ($P_{disponible}$), relación C/N, densidad de bacterias del género *Azospirillum*, *Azotobacter* y solubilizadoras de fósforo en suelo a distancia y rizósfera; b) En planta; altura, diámetro basal de tallo, biomasa radical, foliar y total, contenido de N foliar, contenido de P foliar, acumulación de N foliar y acumulación de P foliar. La variable diámetro basal de tallo no fue incluida en la fase dos.

5.3.3.1. Variables no destructivas

Altura de planta y diámetro basal de tallo. La altura de planta consistió en medir con una regla graduada en mm, a partir de la base del tallo de la planta de naranjo agrio sin injerto de limón persa, hasta el primordio foliar. El diámetro basal se evaluó a la altura de la cuarta hoja de la planta y se utilizó un vernier electrónico. Ambas variables se evaluaron cada 30 d hasta los 360 d. después del trasplante. En naranjo agrio injertado con injerto de limón persa, la altura se midió a partir de donde inicia la elongación de injerto y se evaluó a partir de los 60 d. después del injerto, cada 30 d. hasta los 90 días.

5.3.3.2. Levantamiento de bioensayo

A los 12 meses después de establecido la planta en el bioensayo, se procedió a cosechar 30 unidades experimentales con naranjo agrio sin injerto de limón persa, y a los 15 meses o tres meses después del injerto, se cosecharon las 27 unidades experimentales con plantas de naranjo agrio injertadas con limón persa.

5.3.3.2.1. Muestreo de unidades experimentales en Fase uno y Fase dos

El muestreo de suelo para evaluar las propiedades químicas y microbiológicas se realizó a los 12 y 15 meses después del trasplante. Se colectaron muestras compuestas de cada unidad experimental para determinar pH, M_{Org} , C_{Org} , N_{total} , $P_{disponible}$, las muestras se colocaron en bolsas de plástico, se secaron bajo sombra, se molieron y tamizaron para su procesamiento.

Las muestras de suelo a distancia (fueron colectadas a una distancia mayor a 5 mm de la raíz) y rizósfera (raíz mas suelo adherido), para evaluar densidad de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), se mantuvieron en refrigeración a 4 °C, hasta su procesamiento.

Para determinar la biomasa radical, aérea y total de naranjo agrio sin y con injerto de limón persa, se muestreó material aéreo (raíces y parte aérea vegetal). El muestreo aéreo se realizó separando raíz y material aéreo (tallos-hojas). Se depositaron en bolsas de papel estraza y se sometieron a desecado en un horno con temperatura de 70 °C durante 48 horas (Figura 8) y por método gravimétrico se realizó el cálculo de biomasa radical, aérea y total.

5.4. ETAPA IV. Seguimiento de variables químicas y bacteriológicas en suelo con naranjo agrio sin y con injerto de limón persa

5.4.1. Propiedades químicas en suelo-planta

El pH se determinó por medio del método (AS-02) del potenciómetro en una relación 1:2 H₂O. El porcentaje de humedad por el método gravimétrico (AS-05), y consistió en pesar 10 gramos de suelo húmedo, secarlo a 105°C por 48 horas. La determinación de materia orgánica del suelo se evaluó a través del contenido de carbono orgánico con el método de Walkley y Black (AS-07). Además se determinó el % de nitrógeno total (N_{total}) de suelo y planta por medio del procedimiento (AS-25) micro-Kjeldahl. El fósforo disponible (P_{disponible}) en suelo y planta se determinó por el procedimiento Olsen (AS-10) con bicarbonato de sodio (NaHCO₃) 0.5 de acuerdo a la NOM-021 (DOF, 2002).

5.4.2. Densidad de bacterias en suelo no rizosférico y rizósfera

La densidad de *Azospirillum*, *Azotobacter* y BSP (UFC g⁻¹ s. s.) se determinaron por el método de cuenta viable por dilución seriada (Figura 9) en medios de cultivos sólidos específicos (Madigan *et al.*, 2004). El método consiste en pesar 10 gramos de suelo rizosférico y/o no rizosférico, preparar solución madre diluyendo los 10 gramos de suelo y agitando en 90 mL de agua destilada. Para las diluciones seriadas se utilizó un mL de la solución madre y 9 mL de agua destilada estéril en tubos de ensayo previamente esterilizados, adicionándole una alícuota de un mL de muestra, se realizaron tres diluciones sucesivas. Antes de tomar la alícuota de 1 mL de cada tubo, se agita la dilución en vortex. La siembra del inóculo se realizó con una micropipeta, se pipeteó 0.1 mL de las diluciones seriadas y se introdujo en el centro de la caja Petri, y con una varilla de vidrio se distribuyó homogéneamente en toda la caja. Las cajas se incubaron a 28°C durante 72 horas.

El conteo de bacterias se arregla con un factor de ajuste según la dilución seleccionada para determinar la población de bacterias, en forma de unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de muestra seca. La densidad de población de los géneros *Azotobacter*, *Azospirillum* y solubilizadoras de fósforo, se evaluaron a los 12 meses en los diez tratamientos y a los 15 meses en los nueve tratamientos seleccionando tres repeticiones por cada uno de ellos.

Se utilizó el medio de cultivo selectivo agar rojo congo para *Azospirillum* (Rodríguez, 1982) el cual consta de los siguientes componentes: Ácido málico (5 g L^{-1}), K_2HPO_4 10% (5.0 ml), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (2.0 ml), NaCl (0.2g), FeCl (0.002g), KOH (4.8g), extracto de levadura (0.5g), rojo congo 1:400 (15.0 ml), agar (18.0g) y H_2O destilada (1000 ml). Para *Azotobacter*, el medio de cultivo utilizado fue Ashby's (Rao, 1999) y está constituido de los siguientes reactivos: manitol (20g), K_2HPO_4 (0.2g), KH_2PO_4 (0.2g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.2g), NaCl (0.2g), K_2SO_4 (0.1 g), CaCO_3 (5.0g), Agar (15g) y H_2O destilada (1000 mL). El medio de cultivo utilizado para determinar bacterias solubilizadoras de fósforo fue Pikovaskaya's (Rao, 1982), y se compuso de sacarosa (20g), K_2HPO_4 (0.8g), KH_2PO_4 (0.2g), $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (30g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.5g), $\text{FeCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.05), $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.05g), Agar (15g), H_2O destilada (1000 ml).

5.5. FASE V. Análisis estadístico

Se efectuó análisis de varianza (ANOVA) para cada una de las variables evaluadas. La comparación de medias se realizó de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Se realizó análisis de los factores tipo de biofertilizante y de dosis, se efectuaron además correlaciones entre variables. Los datos fueron analizados en el software SAS versión 9.0 (SAS, 2002).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Naranja agrario y naranja agrario injertado con limón persa: Tipo y dosis de biofertilizantes

El sistema de producción de naranja agrario y naranja agrario injertado con limón persa en condiciones de túnel plástico, bioaumentado con tipo y dosis de biofertilizante al suelo, manifestó efectos significativos de factores e interacciones de factores en la mayoría de los parámetros evaluados a los 12 y 15 meses respectivamente. (Cuadro 9). En particular en el cultivo de naranja agrario injertado con limón persa, las BSP en suelo rizosférico no presentaron el efecto significativo por factores individuales, factor biofertilizante y dosis, pero sí en la interacción de factores. En el N foliar no hubo efecto por dosis e interacciones y el P foliar no presentó significancia por interacciones de factores.

Cuadro 9. Anova de dos factores (tipo y dosis de biofertilizantes) para todos los parámetros en la rizósfera de naranja agrario y naranja agrario con injerto de limón persa.

	Naranja agrario sin injerto de limón persa			Naranja agrario con injerto limón persa		
	Biofertilizante (B)	Dosis (D)	Interacción (BxD)	Biofertilizante (B)	Dosis (D)	Interacción (BxD)
Altura	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Biomasa radical	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Biomasa foliar	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<i>Azospirillum</i>	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
<i>Azotobacter</i>	<.0001	<.0001	<.0001	0.0002	0.0002	0.0002
BSP	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
C. Orgánico	.0001	.0001	.0001	0.0011	0.0011	0.0011
Nsuelo	.0001	.0001	.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Psuelo	.0001	.0001	.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Nfoliar	<.0001	<.0001	<.0001	0.0003	0.0003	0.0003
Pfoliar	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

6.1.1. El suelo del sistema de producción de naranja agrario

6.1.1.1. Características químicas

El pH en suelo presentó diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p \leq 0.05$) (Cuadro 10) (Apéndice, Cuadro 1) entre las medias de tratamientos por efecto del tipo y dosis de biofertilizantes, observándose un aumento de pH en nueve tratamientos respecto al tratamiento testigo. Los diferentes tipos y dosis de biofertilizantes indujeron estos cambios, el mayor pH (5.8) se localizó en el suelo sometido al tratamiento Bio3-2 %. La incorporación al suelo del 2 % de Bio3 integrado con estiércol de pollo como acarreador de los PGPR indujo un aumento (1.2) en iones OH, respecto al suelo testigo, por lo tanto el pH cambió de fuertemente ácido a moderadamente ácido.

Los contenidos de materia orgánica y C orgánico en suelo plantado con naranjo agrio sometido a diferentes tipos y dosis de biofertilizantes manifestaron cambios positivos. Estos cambios según las medias de tratamiento de ambas variables fueron estadísticamente significativos (Cuadro 10) (Tukey, $p \leq 0.05$) (Apéndice, Cuadro 2 y Cuadro 3).

Los mayores contenidos de materia orgánica (6.7 %) y C orgánico (3.9 %) se observaron en el suelo inoculado con Bio3-3 %. El aumento en el contenido de materia orgánica y C orgánico en el suelo con el tratamiento Bio3-3 % fue de 1.1 % y 0.7 % respectivamente, respecto al suelo del tratamiento testigo con 5.6 % y 3.2 % (Cuadro 10). De acuerdo al término del parámetro materia orgánica establecido para suelos no volcánicos en la norma oficial mexicana NOM-021 SEMARNAT-2000 (DOF, 2002), puede mencionarse que el suelo mejoró dado, que de contener en el suelo testigo niveles altos de materia orgánica pasó a muy alto. Al respecto Ortiz y Ortiz, (1998), menciona que un suelo con altos contenidos de materia orgánica induce mejora en las propiedades químicas y constituye una reserva nutrimental para las plantas y microorganismos.

Los contenidos de N_{total} en suelo a los 12 meses después del trasplante, registraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Cuadro 10) (Tukey, $p \leq 0.05$) (Apéndice, Cuadro 4)

por efecto de tipo y dosis de biofertilizantes aplicados. El suelo con aplicación del tratamiento Bio3-3 % registró 0.3 % de N_{total} , y fue estadísticamente el mayor respecto a los otros tratamientos. El contenido de 0.3 % N_{total} , encontrado en el tratamiento Bio3-3 %, indica una concentración muy alta respecto a los parámetros establecidos en la norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 (DOF, 2002). El aumento de 0.1 % de N_{total} respecto a los contenidos en suelo testigo, por efecto de Bio3-3 %, permitió que al suelo se le clasifique con contenidos muy altos, respecto al suelo sin biofertilizante el cual se clasifica como alto.

El P disponible en el suelo, estimula el desarrollo radicular inicial y ayuda en el establecimiento rápido de las plantas (Ortiz y Ortiz, 1998). Respecto al contenido de P disponible, se observó que los tratamientos con biofertilizante integrado con cachaza y pollinaza como acarreador de PGPR aumentaron el contenido de P en el suelo (Tukey, $p \leq 0.05$) (Apéndice, Cuadro 6). El P fue mayor en el tratamiento Bio3-3 % (Cuadro 10) y se clasifica como muy alto de acuerdo a la norma oficial mexicana NOM- 021-SEMARNAT-2000 (DOF, 2002) con un contenido mayor de 43 mg kg^{-1} y superior al encontrado en el suelo testigo (7.8 mg kg^{-1}) clasificado como contenido medio.

Cuadro 10. Características químicas del suelo con naranja agrio a los 12 meses después del trasplante.

Tratamientos		pH 1:2 H ₂ O	M _{Org}	C. O. %	N _{total}	C/N	P _{disponible} mg kg ⁻¹
Biofertilizante	Dosis						
Testigo		4.6f†	4.2b	2.2d	0.2b	22a	7.8f
Bio1	1%	4.9ef	5.6b	3.2bc	0.2b	16ab	6.8f
Bio1	2%	5.3bcd	5.6b	3.3bc	0.2b	16ab	8.3f
Bio1	3%	5.3bcd	5.8b	3.4bc	0.2b	17b	8.1f
Bio2	1%	5.1cde	5.8b	3.4bc	0.2b	17b	15.9e
Bio2	2%	5.4bc	5.6b	3.2bc	0.2b	16ab	17.8d
Bio2	3%	5.5ab	5.4b	3.2c	0.2b	16b	29.1c
Bio3	1%	5.5ab	5.8b	3.4b	0.2b	17a	18.8d
Bio3	2%	5.8a	5.4b	3.2c	0.2b	16b	32.9b
Bio3	3%	5def	6.7a	3.9a	0.3a	13c	43.8a
*Biofertilizante		.0001	.0001	.0001	.0001	.0001	.0001
*Dosis		.0001	.0001	.0001	.0001	.0001	.0001
*Biofertilizante x Dosis		.0001	.0001	.0001	.0001	.0001	.0001

M_{org}= Materia orgánica, C_{org}= Carbono orgánico, N_{total}=Nitrógeno total, C/N= relación carbono nitrógeno y P= fósforo disponible. †En cada columna, letras distintas indican diferencias estadísticamente entre medias (Tukey, p≤0.05, n=6). *Diferencia significativa.

La relación C/N en los diez tratamientos según la media estadísticas muestra diferencias estadísticas significativas (Tukey, p≤0.05) (Cuadro 10) (Apéndice, Cuadro 5). La mayor relación C/N se localizó en el tratamiento testigo (22) y la menor (13) en suelo inoculado con dosis del 3% de Bio3. La relación de C/N es mayor en suelo sin biofertilizante indicador de que la mineralización del C orgánico es menor. La relación menor se localizó en suelos inoculados con biofertilizantes, principalmente cuando se incorporó 3% de Bio3, lo que indica mayor mineralización de los materiales orgánicos, provocando la liberación de productos inorgánicos tales como H₂O, CO₂, NH₄⁺, NO₃⁻, PO₄³⁻, SO₄²⁻, etc., los cuales son nutrimentos que se localizan en la solución del suelo que pueden ser aprovechables pero también tóxicos para las plantas y los microorganismos (Porta *et al.*, 2003; Navarro y Navarro, 2003).

6.1.1.2. Densidad de bacterias *Azospirillum*, *Azotobacter* y solubilizadoras de P en suelo a distancia y rizósfera

La densidad de PGPR se determinó 12 meses después del trasplante. Los resultados del análisis de varianza revelaron diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p \leq 0.05$) entre la media de la densidad de *Azospirillum*, *Azotobacter* y solubilizadoras de P en suelo a distancia y rizósfera del naranjo agrio (Cuadros 11 y 12) (Apéndice, Cuadros 7, 8, 9, 10, 11, 12).

En suelo a distancia la densidad de *Azospirillum* fue mayor con 309×10^2 UFC g^{-1} s.s por efecto del tratamiento Bio2-2 %, se incremento 657 veces más respecto a la densidad encontrada en suelo a distancia del testigo. La densidad de *Azotobacter*, fue mayor en el tratamiento Bio3-2 % con 405×10^2 UFC g^{-1} s.s. respecto a las 4.4×10^2 UFC g^{-1} s.s. del testigo (Cuadro 11). La densidad de BSP presento respuestas estadísticamente igual y mayores en suelo inoculado con Bio2-2 %, Bio3-2 % y Bio3-3 %, las densidades alcanzaron 86, 90 y 82×10^3 UFC g^{-1} s.s. respectivamente (Cuadro 12).

En rizósfera de naranjo agrio la densidad de *Azospirillum* fue más alta cuando se utilizó el tratamientos Bio2-1 % mostrando una población de 84×10^2 UFC g^{-1} s.s. (Cuadro 11). Los tratamientos que estadísticamente mostraron menores densidades de este género bacteriano fueron en seis, pero aritméticamente el Bio3-2 % fue el menor con 0.91×10^2 UFC g^{-1} s.s. La densidad de *Azotobacter* mas alta (35×10^3 UFC g^{-1} s.s) fue promovida por la inoculación de Bio3-2 % y la menor (4×10^2 UFC g^{-1} s.s) fue cuando se inoculo Bio3-3% (Cuadro 11). La densidad mayor (18×10^4 UFC g^{-1} s.s) de BSP al igual que *Azotobacter* fue cuando se inoculó Bio3-2%, la menor densidad fue localizada en rizósfera inoculada con Bio2-3%.

Cuadro 11. Efecto rizósfera y densidad de *Azospirillum*, *Azotobacter* en suelo a distancia y rizósfera de naranjo agrio estimulado con tipo y dosis de

biofertilizante a los 12 meses después del trasplante.

Tratamiento	<i>Azospirillum</i>		Efecto rizósfera	<i>Azotobacter</i>		Efecto rizósfera
	Suelo [†]	Rizósfera		Suelo	Rizósfera	
	(10 ² UFCg ⁻¹ s. s)		(R/S)	(10 ² UFCg ⁻¹ s. s)		(R/S)
Testigo	0.47c [¶]	12bc	25.5	4.41e [¶]	31ab	7
Bio1-1%	35b	29b	0.82	17e	63de	3.7
Bio1-2%	63b	1c	0.015	79cd	12cd	1.1
Bio1-3%	0.94c	1c	1.0	29de	26de	0.89
Bio2-1%	0.91c	84a	92.3	122c	51e	0.41
Bio2-2%	309a	0.91c	0.002	46de	201bc	4.3
Bio2-3%	3.44c	5c	1.45	26de	6e	0.23
Bio3-1%	57b	6c	0.10	204b	13de	0.06
Bio3-2%	1.59c	0.27c	0.16	405a	350a	0.02
Bio3-3%	4.32c	19b	4.3	119c	4e	0.03

[†]: Suelo a distancia. [¶]: Medias con distinta letra en una hilera son estadísticamente diferentes (Tukey, p≤0.05, n=6).

El efecto rizósfera en naranjo agrio, al utilizar como indicador *Azospirillum*, *Azotobacter* y BSP fue localizado en los diez tratamientos establecidos. El efecto rizósfera fue favorecido debido a que la mayor densidad respecto al suelo a distancia fue en rizósfera (Cuadro 11 y 12). Se comprueba lo que menciona Manoharachary y Mukerji (2006), la rizósfera es el espacio ecológico en donde se establece mayor densidad de microorganismos. El efecto rizósfera fue localizado en todos los tratamientos e inducido por la presencia de la planta en el suelo, sin embargo el efecto rizósfera mayor usando como indicador *Azospirillum* fue cuando el suelo rizosferico se inoculó con Bio2-1%, sin embargo en suelo testigo fue mayor el efecto rizósfera cuando se utilizó como indicador *Azotobacter* y BSP.

Cuadro 12. Efecto rizósfera y densidad de bacterias solubilizadoras de P en suelo a distancia y rizósfera de naranjo agrio estimulado con tipo y dosis de biofertilizante a los 12 meses después del trasplante.

Tratamiento	Naranjo agrio		Efecto rizósfera
	Suelo	Rizósfera	(R/S)
	(10 ² UFCg ⁻¹ suelo seco)		
Testigo	448b [¶]	18de	0.04
Bio1-1%	32c	41cd	1.28
Bio1-2%	419b	104e	0.24
Bio1-3%	485b	70e	0.14
Bio2-1%	486b	716b	1.47
Bio2-2%	867a	53bc	0.06
Bio2-3%	158c	2e	0.012
Bio3-1%	470b	426cd	0.90
Bio3-2%	902a	1862a	2.06
Bio3-3%	823a	36e	0.04

[¶]: Medias con distinta letra en una hilera son estadísticamente diferentes (Tukey, p≤0.05, n=6).

6.1.2. La planta del sistema de producción de la naranja agria

6.1.2.1. Crecimiento de naranjo agrio

La altura de la planta del naranjo agrio en cada uno de los tiempos evaluados (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12 meses) (Cuadro 13 y 14) presentó diferencias estadísticas significativas entre las medias de tratamientos (Tukey, $p \leq 0.05$) (Apéndice, Cuadro 13 y 14) por efecto de tipo y dosis de biofertilizante. Al primer mes la altura de la planta fue la misma en los diez tratamientos, pero a partir de los dos meses hasta los ocho la inoculación al suelo con Bio2-2 % estimuló la mayor altura respecto a los tratamientos restantes. A los ocho meses la altura inducida por la inoculación del 2 % de cachaza con PGPR se incremento 3.37 veces respecto a la planta establecida sin biofertilizantes (testigo). Esto muestra que la planta dispuso de los nutrimentos necesarios para satisfacer la demanda y aumentar su crecimiento, posiblemente procede de la mineralización de C orgánico contenido en el suelo.

A los nueve, diez, once y doce meses después de transplante del naranjo agrio, el 1 % de estiércol de pollo con PGPR (Bio3) indujo la mayor altura en la planta (79.6 cm) (Cuadro 14). A los doce meses la altura disminuyo conforme la dosis del Bio3 aumenta, así el incremento en altura por efecto de Bio3 al 1 % fue de 3.1 veces mayor respecto al testigo y 4.10 veces respecto al tratamiento diez (Bio3-3 %) que fue el que indujo de los diez tratamientos la menor altura en naranjo agrio (19.4 cms). Resultados similares fueron obtenidos por Rivera-Cruz *et al.*, 2010, en naranjo agrio con dosis del 3 %, el cual indujo toxicidad en la planta, y esto se manifestó con la disminución del crecimiento.

Otros estudios con naranjo agrio y dragón volador sometidos a biofertilizantes (con sustrato pollinaza más consorcio bacteriano) con dosis 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 %, observó que el biofertilizante con 1 % de dosis indujo la mayor altura en la planta de naranjo agrio (70 cm) y dragón volador (42 cm) a los 180 días después del trasplante. Además, demostró que dosis superiores a 5 % del biofertilizante provocó efecto tóxico en la altura y biomasa de dragón volador a los 180 días del experimento. En naranjo agrio las dosis 5 y 6 % disminuyeron la altura de la planta respecto al efecto de las otras dosis (Rivera-Cruz *et al.*, 2007).

Cuadro 13. Altura de naranjo agrio a través del tiempo (1 a 6 meses) después del trasplante.

Tratamientos		Tiempo (meses) /altura (cm)					
Biofertilizante	Dosis	1	2	3	4	5	6
Testigo		6.3a [†]	6.3abc	7abc	7.5bc	8.7c	10.7bc
Bio1	1%	6.3a	7.6abc	11.3ab	15.3ab	23.3ab	30.3a
Bio1	2%	4.7a	5bc	5.8bc	7.5bc	8.7c	9.7bc
Bio1	3%	5.6a	5.7abc	5.7bc	6c	6.3c	6.3c
Bio2	1%	4.2a	4.3c	4.8c	5.3c	6.7c	9.7bc
Bio2	2%	5.3a	9.3a	13a	22.7a	29.3a	40a
Bio2	3%	4.3a	4.7bc	5.5bc	7.3bc	8.7c	13.7bc
Bio3	1%	5.5a	5.8abc	6.3bc	8bc	9c	12bc
Bio3	2%	5.9a	8ab	10abc	13.7abc	16bc	18b
Bio3	3%	5.4a	6.4abc	7.2abc	8bc	9.3c	10.3bc
	*Biofertilizante	0.2665	0.0019	0.0008	<.0001	<.0001	<.0001
	*Dosis	0.2665	0.0019	0.0008	<.0001	<.0001	<.0001
	*Biofertilizante x Dosis	0.2665	0.0019	0.0008	<.0001	<.0001	<.0001

[†]En cada columna, letras distintas indican diferencias estadísticamente entre medias (Tukey, $p \leq 0.05$, $n=6$).

*Diferencia significativa.

Cuadro 14. Altura de naranjo agrio en seis tiempo sucesivos (7 a 12 meses) después del trasplante.

Tratamientos		Tiempo (meses)/altura (cm)					
Biofertilizante	Dosis	7	8	9	10	11	12
Testigo		13de [†]	13.2e	14.8f	17d	21de	25.3ef
Bio1	1%	41.2ba	42ab	44abc	45.3abc	46.5bc	48.9cd
Bio1	2%	16.5cde	23.7cde	26.7def	34cd	38.1cd	41cde
Bio1	3%	6.8e	25.7cd	30.7cde	42.3bc	50.7abc	51.7cb
Bio2	1%	17.5cde	18.7de	22ef	24.7d	26.8de	31.2def
Bio2	2%	43.1a	43.5a	45.9ab	48.3abc	50abc	51.4bc
Bio2	3%	28.5abcd	31.9bc	38.3bcd	43.3abc	48abc	50.3c
Bio3	1%	26.9cde	41.3ab	52.3a	60.7a	66.3a	79.6a
Bio3	2%	30abc	44.6a	51.3ab	56.1ab	61.7ab	69.2ab
Bio3	3%	13de	14.8de	15.8abc	16.9d	18.3e	19.4f
*Biofertilizante		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
*Dosis		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
*Biofertilizante x Dosis		<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

[†]En cada columna, letras distintas indican diferencias estadísticamente entre medias (Tukey, $p \leq 0.05$, $n=6$).
d=días. *Diferencia significativa.

6.1.2.2. Diámetro basal de tallo

La respuesta del grosor de diámetro basal de tallo en naranjo agrio por efecto de tipo y dosis de biofertilizante a los 12 meses después del trasplante, mostró diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Tukey, $p \leq 0.05$) (Apéndice, Cuadro 15). Se observó una tendencia inversamente proporcional entre el diámetro basal del tallo con respecto a la dosis incorporada de Bio1 y Bio3, pero una tendencia directamente proporcional a la dosis inoculada con el Bio2 (Figura 7). El mayor diámetro basal (10.2 mm) se localizó cuando se inoculó estiércol de pollo como acarreador de PGPR (Bio3) con dosis de 1 %, pero el menor diámetro (1.2 mm), se localizó en planta inoculada con Bio1-3 % (Figura 7).

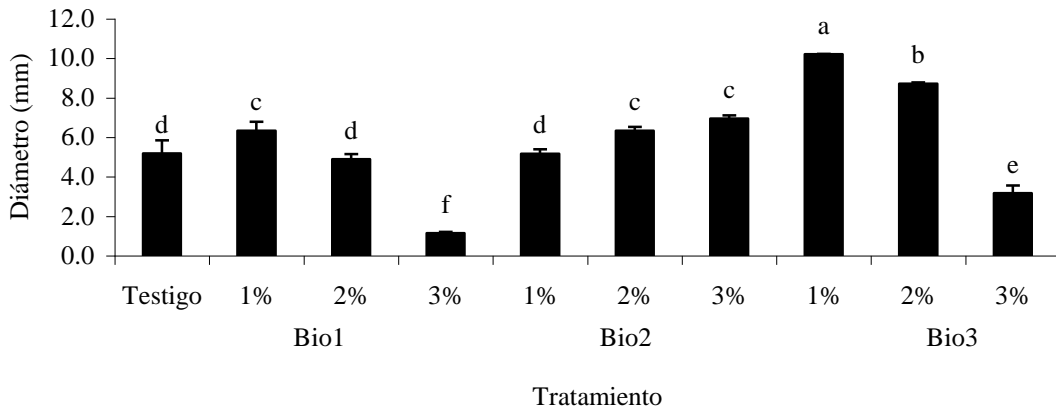


Figura 7. Diámetro de tallo de naranjo agrio sin injerto de limón persa a 360 días después del trasplante. Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$, $n=6$).

6.1.2.3. Biomasa radical, foliar y total

En la producción de biomasa del naranjo agrio, los resultados indican diferencias estadísticas significativas entre las medias de tratamiento de biomasa radical, foliar y total (Figura 8) (Apéndice, Cuadros 16, 17, 18). La biomasa radical (21 g), aérea (27.1 g) y total (48 g) fue mayor cuando la planta se desarrolló en suelo con Bio3-1 % (Figura 8) respecto a la biomasa producida por los otros tratamientos. La menor biomasa radical (8.8 g), foliar (10.8 g) y total se observó en el tratamiento sin biofertilizante (testigo), pero estadísticamente el tratamiento testigo fue estadísticamente igual al tratamiento Bio3-3 %.

El bajo peso de biomasa en la planta testigo puede atribuirse a lo que menciona Salgado *et al.*, (2006) que cuando existe déficit de N en el suelo se reduce el desarrollo vegetativo, pero ocurre lo inverso cuando existe una alta disponibilidad por lo tanto se produce mayor vigor vegetativo el cual se manifiesta con el aumento del volumen y peso. Para el caso del P, la deficiencia de este elemento induce una disminución en el crecimiento y desarrollo de la planta. Pero la disponibilidad de P para la planta conduce un mayor desarrollo radicular, crecimiento y desarrollo general.

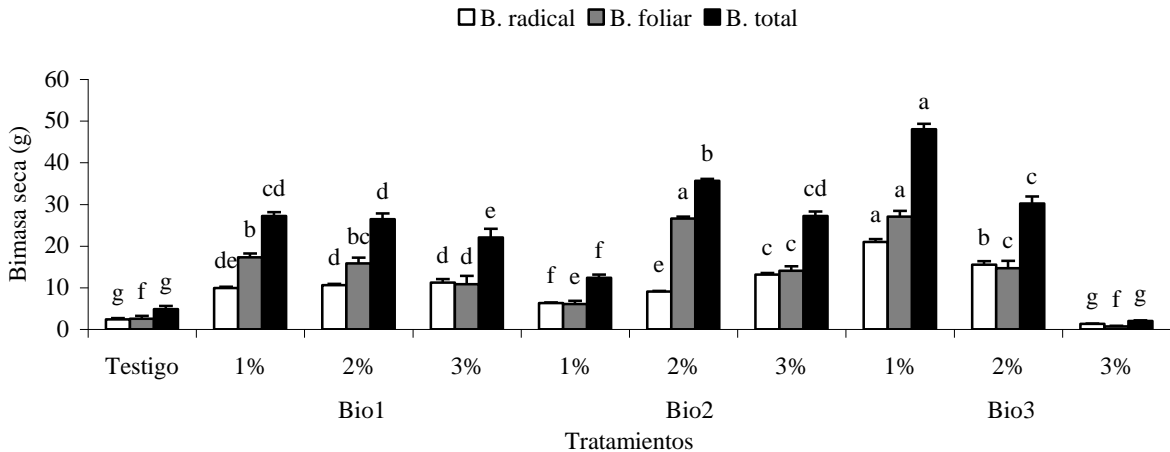


Figura 8. Biomasa radical, foliar y total en naranjo agrio a 12 meses después del trasplante en suelo con tipo y dosis de biofertilizante. Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$, $n=6$).

6.1.2.4. Nitrógeno y fósforo en follaje vegetal

6.1.2.4.1. Contenido y acumulación de N foliar

Los contenidos de N en follaje vegetal aérea registró diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p \leq 0.05$) entre la media de tratamientos, por efecto del tipo y dosis de biofertilizante (Cuadro 15) (Apéndice, Cuadro 20). Se observa en el Cuadro 15, que los contenidos de N en el Bio3 presenta una tendencia directamente proporcional, conforme aumenta la dosis de biofertilizante aumentan los contenidos de N en el follaje. Esta situación es importante resaltarla dado que fue la planta con menor acumulación de altura y biomasa foliar (Figura 8). El mayor contenido de N fue observado cuando la planta se inoculo con estiércol de pollo como acarreador de bacterias PGPR en dosis de 1%, con un aumento de 1.72 veces respecto al testigo. Sin embargo el menor contenido de N foliar se observa en planta inoculada con cáscara de naranja como acarreador de PGPR (Bio1-2%). El mayor contenido de N posiblemente se debe a los contenidos altos de N total (98.4%) del acarreador orgánico del biofertilizante en este caso el estiércol de pollo, en el transcurso de los 12 meses en que la planta permaneció expuesta al producto se logro la disponibilidad del elemento por acción de las rizobacterias inoculadas y las nativas en suelo rizosferico, sin embargo al parecer causo efectos tóxicos en la planta dado que fue el tratamiento que indujo menor crecimiento (Cuadro 14 y Figura 8).

Cuadro 15. Contenido de N en la biomasa foliar de naranjo agrio a los 360 días después del trasplante.

Tratamientos		N total
Biofertilizante	Dosis	(% [§])
Testigo		1.8cd [†]
Bio1	1 %	1.5ed
Bio1	2 %	1.2f
Bio1	3 %	1.5ed
Bio2	1 %	1.3ef
Bio2	2 %	1.3ef
Bio2	3 %	1.4ef
Bio3	1 %	2bc
Bio3	2 %	2.3b
Bio3	3 %	3.1a
*Biofertilizante		<.0001
*Dosis		<.0001
*Biofertilizante x Dosis		<.0001

[†]En cada columna, letras distintas indican diferencias estadísticamente entre medias (Tukey, $p \leq 0.05$, $n=6$).

*Diferencia significativa. [§]El porcentaje de acumulación de nutrientes fue calculado por la siguiente relación:

$$\frac{\text{Biomasa inoculada}}{\text{Biomasa no inoculada}} \times \frac{\text{Contenido mineral en biomasa inoculada}}{\text{Contenido mineral en biomasa no inoculada}} \times 100$$

La acumulación de N en follaje aéreo presento diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Tukey $p \leq 0.05$) (Apéndice, Cuadro 19) por efecto de tipo y dosis de biofertilizantes. La máxima acumulación de N foliar (1245.3g) fue observada en planta inoculada con Bio3-1 %, la acumulación fue 12.45 veces mayor respecto a la producida por el tratamiento testigo (Figura 9), pero 30.90 veces mayor respecto al tratamiento 10 (Bio 3-3 %), integrado por estiércol de pollo como acarreador de PGPR.

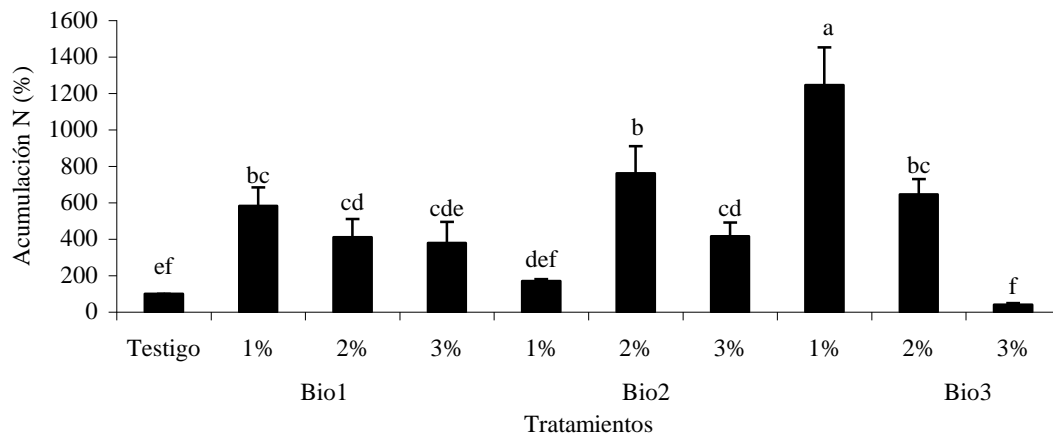


Figura 9. Acumulación de N en la biomasa seca aérea de naranjo agrio a los 12 meses después del trasplante. Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$, $n=6$). El porcentaje de acumulación de nutrientes fue calculado por la siguiente relación:

$$\frac{\text{Biomasa inoculada} \times \text{Contenido mineral en biomasa inoculada}}{\text{Biomasa no inoculada} \times \text{Contenido mineral en biomasa no inoculada}} \times 100$$

La menor acumulación del N se encontró en suelo con Bio3-3 %, esta reacción en la planta posiblemente se deba al exceso de elementos liberados del componente orgánico del tipo de biofertilizante (pollinaza) por la actividad microbiana. Al respecto Rivera-Cruz y Trujillo (2008a) al probar el efecto de siete concentraciones (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 %) de biofertilizantes compuestos por acarreador estiércol de pollo más consorcio de bacterias *Azospirillum*, *Azotobacter* y BSP encontraron que dosis superiores a 3 % produjeron reducción del crecimiento vegetal debido a la liberación excesiva de N derivado de la pollinaza y las elevadas temperaturas que se indujo con la incorporación del sustrato al suelo.

La liberación excesiva de N del componente orgánico del biofertilizante pudo deberse a la actividad metabólica de las bacterias asociadas al sustrato. En relación a lo anterior, Rivera-Cruz *et al.*, (2006^b) encontraron que la actividad metabólica de las bacterias *Azospirillum* y *Azotobacter* inoculadas en la pollinaza liberaron N en sus formas amonio y nitratos, la mayor liberación se registró cuando la pollinaza inoculada con las bacterias estuvo asociada al suelo.

6.1.2.4.2. Contenido y acumulación de P

Las medias de tratamiento de los contenidos y acumulación de P en follaje aéreo de naranjo agrio mostraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (Tukey, $p \leq 0.05$) por efecto de tipo y dosis de biofertilizantes (Cuadro 16) (apéndice, Cuadros 21 y 22). El mayor contenido (0.3%) y acumulación de P (1930 mg planta⁻¹) fue por efecto del tratamiento Bio2-2 % (Cuadro 16). El efecto del biofertilizante se puede atribuir al alto contenido de P (2089 mg kg⁻¹) (Cuadro 7) del acarreador del biofertilizante (cachaza) y a la actividad metabólica de las bacterias (BSP) en la mineralización del sustrato.

Cuadro 16. Contenido y acumulación de P en follaje aéreo de naranjo agrio a los 12 meses.

Tratamientos		Contenido de P	Acumulación [§] P
Biofertilizante	Dosis (%)	(%)	(mg planta ⁻¹)
Sin	0	0.1c [†]	100fg
Bio1	1	0.1c	620cd
Bio1	2	0.1c	452e
Bio1	3	0.2b	481de
Bio2	1	0.1c	243f
Bio2	2	0.3a	1930a
Bio2	3	0.2b	750c
Bio3	1	0.1c	1131b
Bio3	2	0.1c	520de
Bio3	3	0.1c	19.4g
*Biofertilizante		0.001	
*Dosis		0.001	
*Biofertilizante x Dosis		0.001	

[†]En cada columna, letras distintas indican diferencias estadísticamente entre medias (Tukey, $p \leq 0.05$, $n=6$).

*Diferencia significativa. [§]El porcentaje de acumulación de nutrientes fue calculado por la siguiente relación:

$$\frac{\text{Biomasa inoculada} \times \text{Contenido mineral en biomasa inoculada}}{\text{Biomasa no inoculada} \times \text{Contenido mineral en biomasa no inoculada}} \times 100$$

6.1.3. El suelo del sistema de producción de naranjo agrio injertado con limón persa

6.1.3.1. Características químicas

Las propiedades químicas del suelo plantado con naranjo agrio injertado con limón persa a los tres meses después de injertado, cada una de ellas presentaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Cuadro 17) (Tukey, $p \leq 0.05$) (Apéndice, Cuadros 23, 24, 25, 26, 27, 28) por efecto de tipo y dosis de biofertilizante. El potencial hidrógeno (pH) fue mayor cuando el suelo se sometió a los tratamientos Bio2-1 %, Bio2-3 %, Bio3-1 % y Bio3-2 %, respecto a los seis tratamientos restantes (Cuadro 17). Lo anterior indica que el suelo es moderadamente ácido en los primeros y fuertemente ácido en los segundos, esto al compararlo con los parámetros establecidos en la NOM-021-SEMARNAT-2000 (DOF, 2002).

Los contenidos mayores de materia orgánica (5.8 %) y C_{org} (3.4 %) en suelo fueron localizados en suelo inoculado con el tratamiento Bio2-2%, C_{org} . (Cuadro 17), el aumento del C_{org} fue de 1.41 veces con respecto al suelo testigo. Los contenidos de N_{total} en suelo plantado con naranjo agrio injertado con limón persa en los diez tratamientos fueron muy altos, de acuerdo con los parámetros establecidos en la NOM-021-SEMARNAT-2000 (DOF, 2002), estadísticamente el mejor se determinó en suelo con Bio3-2 % (0.43 %) respecto al contenido encontrado en suelo por efecto del resto de tratamientos.

La mayor relación C/N (20) se localizó en suelo inoculado con Bio 2-2%, la menor relación (7), se localizó en suelo inoculado con Bio3-2%, esto permite deducir que el carbón orgánico en suelo plantado con naranjo agrio injertado con limón persa presenta una mayor mineralización de nitrógeno.

El contenido de $P_{disponible}$ en el suelo sin biofertilizantes, con tipo y dosis de biofertilizante fue alto de acuerdo a los parámetro establecido en la norma mexicana 021 (DOF, 2002). El mayor contenido de P se localizó en suelo inoculado con Bio3-2 % (Cuadro 17), seguido del efecto por el tratamiento Bio3-1 % y Bio2-3 %.

Cuadro 17. Propiedades químicas del suelo plantado con naranjo agrio con injerto de limón persa tres meses después de su injerto, con tipo y dosis de biofertilizante.

Tratamientos		pH	MOrg	C. O.	N _{total}	C/N	P _{disponible}
Biofertilizante	Dosis	1:2H ₂ O	(%)		(%)		mg kg ⁻¹
Testigo		4.6c [†]	4.2bc	2.4c	0.17b	14d	12d
Bio1	1%	4.9bc	5.6ab	3.3ab	0.18b	18.3b	12d
Bio1	2%	5.3ab	5.2bc	3.1bc	0.17b	18.2c	12d
Bio1	3%	5.3ab	5.6ab	3.3ab	0.21b	15.7f	13d
Bio2	1%	5.5a	5.3abc	3.1abc	0.19b	16.3e	18cd
Bio2	2%	5.2ab	5.8a	3.4a	0.17b	20a	17cd
Bio2	3%	5.4a	5c	2.9c	0.19b	15.2g	20bc
Bio3	1%	5.6a	5.4abc	3.1abc	0.17b	18.2c	25b
Bio3	2%	5.7a	5.4abc	3.2abc	0.43a	7.4h	35a
Bio3	3%	N.D. [‡]	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
*Biofertilizante		<.0001	0.0011	0.0011	<.0001	0.0002	<.0001
*Dosis		<.0001	0.0011	0.0011	<.0001	0.0002	<.0001
*Biofertilizante x Dosis		<.0001	0.0011	0.0011	<.0001	0.0002	<.0001

MOrg= Materia orgánica, COrg= Carbono orgánico, Ntotal=Nitrógeno total, C/N= relación carbono nitrógeno y P= fósforo disponible. [†]N.D.= No determinado. [‡]En cada columna, letras distintas indican diferencias estadísticamente entre medias (Tukey, p≤0.05, n=6). *Diferencia significativa.

6.1.3.2. Densidad de bacterias *Azospirillum*, *Azotobacter* y solubilizadoras de P en suelo a distancia y rizósfera

La densidad de *Azospirillum*, *Azotobacter* y solubilizadoras de P en suelo a distancia y rizósfera de naranjo agrio injertado con limón persa tuvieron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Tukey, p≤0.05) (Cuadro 18, 19 y 20), (apéndice, Cuadro 29, 30, 31, 32, 33, 34) por efecto de tipo y dosis de biofertilizante. La población más alta de bacterias del género *Azospirillum* en suelo a distancia se localizó en suelo inoculado con Bio3-1 %, pero en

rizósfera la mayor se localizó en suelo inoculado con Bio2-3% (Cuadro 18). La mayor densidad de *Azotobacter* en suelo a distancia se localizó en Bio2-3%, pero en rizósfera en el tratamiento Bio2-2%. La mayor densidad de bacterias solubilizadoras de P en suelo a distancia se localizaron en el tratamiento sin biofertilizante, pero en rizósfera se localizó en suelo inoculado con Bio2-1%.

La comparación de cada tipo de bacterias estudiada (*Azospirillum*, *Azotobacter* y solubilizadoras de P) obtenidas en suelo a distancia y la rizósfera. Para el caso de *Azospirillum* el tratamiento integrado con Bio2-3% se localizó 2.12 veces más abundantes en la rizósfera de la naranja agria injertada con limón persa respecto a la densidad localizada en suelo a distancia del mismo tratamiento (Cuadro 18). Las bacterias del género *Azotobacter* en rizósfera del tratamiento Bio2-2% fueron 146 veces más abundantes que las cuantificadas en suelo a distancia del mismo tratamiento (Cuadro 19). Las bacterias solubilizadoras de P en rizósfera del tratamiento Bio2-1% fueron 10.86 veces más abundantes que las correspondientes al suelo a distancia del mismo tratamiento (Cuadro 20).

El efecto rizósfera determinado entre la relación en la densidad de bacterias (*Azospirillum*, *Azotobacter* y solubilizadoras de P) en rizósfera respecto a suelo a distancia, fue localizado en suelo plantado con naranjo agrio injertado con limón persa sin biofertilizante, con tipo y dosis de biofertilizante (Cuadro 18, 19 y 20). *Azospirillum* indujo un efecto rizósfera mayor (12.3) cuando se inoculó Bio2-1 %. *Azotobacter* el mayor (286) cuando se inoculó Bio1-3 %, sin embargo la comparación de la densidad de bacterias solubilizadoras de P en rizósfera respecto a suelo a distancia resulto en un mayor efecto rizósfera (10.8) cuando se inoculó Bio2-1%. El efecto rizósfera se comprueba en esta investigación y se debe a que en el espacio rizósfera existen una gran cantidad de moléculas orgánicas producto de exudados radicales que permiten el establecimiento y desarrollo de bacterias reguladoras del crecimiento vegetal como es el caso de *Azospirillum*, *Azotobacter* y solubilizadoras de P (Nehl y Knox, 2006) .

Cuadro 18. Densidad de *Azospirillum* en suelo a distancia (S) y rizósfera (R) de naranjo agrio con injerto de limón persa tres meses después de su injerto, con tipo y dosis de biofertilizante.

Tratamientos		UFC gramo suelo seco (10 ²)		Efecto rizósfera
Biofertilizante	Dosis	Suelo (S)	Rizósfera (R)	R:S
Testigo		44e	208def†	4.7
Bio1	1%	322c	340cd	1
Bio1	2%	26e	165ef	6.3
Bio1	3%	58de	252de	4.3
Bio2	1%	50e	617b	12.3
Bio2	2%	143d	557b	3.8
Bio2	3%	495b	1052a	2.12
Bio3	1%	1005a	74f	0.07
Bio3	2%	27e	483bc	17
Bio3	3%	N.D.	N.D.¶	N.D.
*Biofertilizante		<.0001	<.0001	
*Dosis		<.0001	<.0001	
*Biofertilizante x Dosis		<.0001	<.0001	

¶N.D.=No determinado. †En cada columna, letra distintas indican diferencias estadísticamente entre medias (Tukey, $p \leq 0.05$, $n=6$). *Diferencia significativa.

Cuadro 19. Densidad de bacterias *Azotobacter* en suelo a distancia (S) y rizósfera (R) de naranjo agrio injertado con limón persa según tipo y dosis de biofertilizante. Tres meses después de su injerto.

Tratamientos		UFC gramo suelo seco (10 ²)		Efecto rizósfera
Biofertilizante	Dosis	Suelo (S)	Rizoafera (R)	R:S
Testigo		46c	6396abcd [†]	139
Bio1	1%	49c	6758abcd	137.9
Bio1	2%	95c	8444abc	88.8
Bio1	3%	33c	9446ab	286
Bio2	1%	99bc	5219cd	52.7
Bio2	2%	68c	9954a	146
Bio2	3%	273a	8473abc	31
Bio3	1%	100bc	3903d	39
Bio3	2%	150b	5909bcd	39
Bio3	3%	N.D.	N.D. [‡]	N.D.
*Biofertilizante		<.0001	0.0002	
*Dosis		<.0001	0.0002	
*Biofertilizante x Dosis		<.0001	0.0002	

[†]N.D.=No determinado [‡]En cada columna, letra distintas indican diferencias estadísticamente entre medias (Tukey, p≤0.05, n=6). *Diferencia significativa.

Cuadro 20. Densidad de bacterias solubilizadoras de P en suelo no a distancia(S) y rizósfera (R) de naranjo agrío con injerto de limón persa por efecto de tipo y dosis de biofertilizante. Tres meses después de su injerto.

Tratamientos		UFC gramo suelo seco (10^2)		Efecto rizósfera
Biofertilizante	Dosis	Rizósfera (R)	Suelo (S)	R:S
Testigo		386a	23ef [†]	0.05
Bio1	1%	328ab	41de	0.12
Bio1	2%	189bc	29e	0.15
Bio1	3%	327ab	22ef	0.06
Bio2	1%	61c	663a	10.8
Bio2	2%	40c	243c	6
Bio2	3%	54c	62d	1.1
Bio3	1%	151c	439b	2.9
Bio3	2%	10c	36f	3.6
Bio3	3%	N.D.	N.D. [†]	N.D.
	*Biofertilizante	<.0001	<.0001	
	*Dosis	<.0001	<.0001	
	*Biofertilizante x Dosis	<.0001	<.0001	

[†]N.D=No determinado. [†]En cada columna, letra distintas indican diferencias estadísticamente entre medias (Tukey, $p \leq 0.05$, $n=6$). *Diferencia significativa.

6.1.4. La planta en el sistema de producción de naranjo agrio injertado con limón persa

6.1.4.1. Crecimiento de naranjo agrio con injerto de limón persa.

La altura del naranjo agrio injertado con limón persa en los 12 tiempos evaluados presentó diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Tukey, $p \leq 0.05$) (Apéndice, Cuadro 35), por efecto de tipo y dosis de biofertilizante (Figura 10). Al primer mes después del injerto, la mayor altura de planta se presentó cuando se inoculó al suelo Bio3-1 %, a los dos meses la mayor altura se presentó cuando se inoculó Bio1-1 %, Bio1-3 %, Bio2-2 % y Bio3 con dosis de 1 y 2 %. A los tres meses la mayor altura se localizó en planta inoculada con Bio1 y Bio2 con dosis del 3 %, sin embargo la dosis del 1 y 2 % del Bio3 estimuló mayor altura en limón persa.

Los resultados encontrados en esta investigación sugieren que los tres tipos de biofertilizantes inoculados en el momento del trasplante del portainjerto pueden utilizarse en la producción de naranjo agrio injertado con limón persa. Los biofertilizantes en donde se utiliza como acarreadores de PGPR a la cáscara de naranja agrio y cachaza se pueden utilizar en dosis del 3 %, sin embargo para el caso del biofertilizante en donde el acarreador PGPR es estiércol de pollo solo se debe utilizar 1 y 2 %. Al parecer estos resultados se deben a la disponibilidad de nutrimentos en suelo y a la reserva que el porta injerto de naranja agria contenía, los cuales son utilizados por el injerto para su crecimiento.

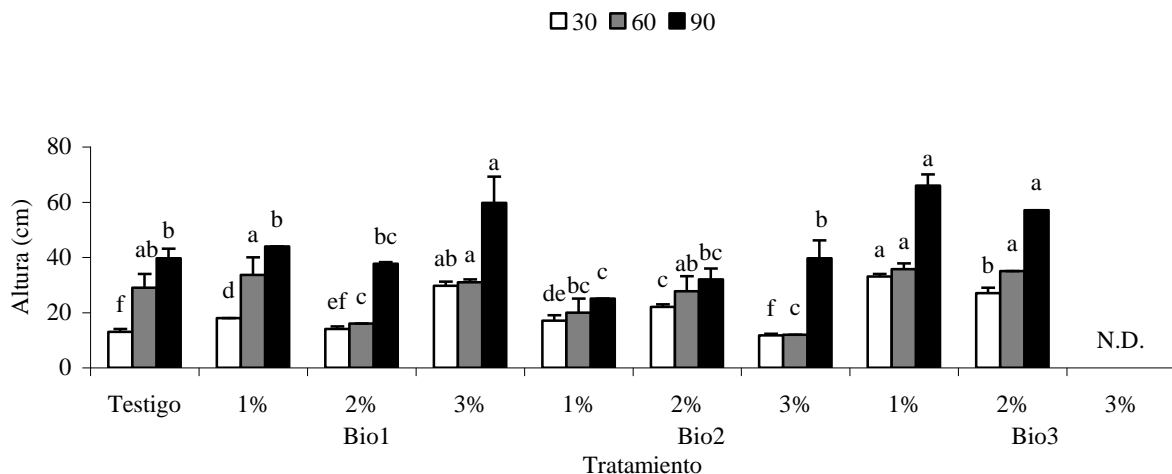


Figura 10. Altura de limón persa injertado en naranjo agrio a los 30, 60 y 90 días (d) después de su injerto por efecto de tratamientos con tres tipos de biofertilizantes y tres tipos de dosis.

6.1.4.2. Biomasa radical, foliar y total

La producción de biomasa radical, foliar y total de injerto de limón persa en naranjo agrio tuvo diferencias significativas entre tratamientos (Tukey, $p \leq 0.05$) (Cuadro 36, 37, 38) por efecto de tipo y dosis de biofertilizante. La biomasa radical fue mayor cuando la planta estuvo sujeta al tratamiento Bio3-2 %, en el mismo tratamiento se identificó la mayor producción de biomasa a foliar con 36.9 gramos de peso seco. La respuesta fue similar en la biomasa total (Cuadro 21).

Estos resultados indican que el estiércol de pollo como acarreador de PGPR en dosis del 2 % estimulan la mayor acumulación de biomasa, observaciones durante en el crecimiento del injerto fue evidente que se producía injertos con diámetro basal mas gruesos, hojas mas grandes y succulentas, respecto al injerto desarrollado en los ocho tratamientos restantes.

Cuadro 21. Producción de biomasa radical, foliar y total de limón persa tres meses después del injerto en naranjo agrio.

Tratamientos		Gramo peso seco		
Biofertilizante	Dosis	Biomasa radical	Biomasa foliar	Biomasa total
Testigo		11.5c†	8.8f	20.3d
Bio1	1%	12c	11.4def	23.4d
Bio1	2%	24b	16.6c	40.6c
Bio1	3%	29b	13.7cde	42.7c
Bio2	1%	11c	8.7f	19.7d
Bio2	2%	17b	11ef	28d
Bio2	3%	23.5b	14.6cd	38.1c
Bio3	1%	26b	27.9b	53.9b
Bio3	2%	37a	36.9a	73.9a
Bio3	3%	N.D.‡	N.D.	N.D.
*Biofertilizante		<.0001	<.0001	<.0001
*Dosis		<.0001	<.0001	<.0001
*Biofertilizante x Dosis		<.0001	<.0001	<.0001

‡N.D.=No determinado. †En cada columna, letra distintas indican diferencias estadísticamente entre medias (Tukey, $p \leq 0.05$, $n=6$). *Diferencia significativa.

6.1.4.3. Contenido y acumulación de N y P foliar

El contenido y acumulación de N y P en follaje del injerto de limón persa, manifestó diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Cuadro 22) (Tukey, $p \leq 0.05$) (Apéndice, Cuadros 39, 40, 41, 42) por efecto de tipo y dosis de biofertilizante. Los resultados del análisis estadístico, indican que el mayor contenido y mayor acumulación de N fue por efecto del tratamiento Bio3-2 % (Cuadro 22), el menor contenido de N se localizó en planta inoculada con Bio1-1 y 2%, para el caso del P el menor fue en planta inoculada con Bio1-3%. Es importante mencionar, que no se determinó el contenido y acumulación de N y P en planta inoculada con Bio3-3 % debido a que la planta de naranjo agrio a los 12 meses no se injerto, dado que el diámetro basal del tallo no alcanzo el grosos adecuado.

Los resultados de esta investigación, indican que el limón persa injertado en naranjo agrio disminuye la acumulación de N y P cuando no se adiciona biofertilizante al suelo, esta disminución en N es de 4.1 veces respecto a la inoculación de dosis del 2% del estiércol de pollo como acarreador de PGPR (Bio3), para el caso de la acumulación de P foliar la disminución es de 9.14 veces. Por lo tanto se sugiere el uso de biofertilizantes para la producción de plantas de limón persa en condiciones de vivero.

Cuadro 22. Contenido y acumulación de nitrógeno y fósforo en la biomasa foliar de limón persa a los tres meses después de su injerto en naranjo agrio.

Tratamientos		Contenido		Acumulación [§]	
Biofertilizante	Dosis	N (%)	P (mg kg ⁻¹)	N (%)	P (mg planta ⁻¹)
Testigo		2a†	0.1c	100b	100b
Bio1	1%	1.2c	0.14bc	123.6b	205.7b
Bio1	2%	1.2c	0.10c	170b	281.7b
Bio1	3%	1.4bc	0.09c	354ab	205b
Bio2	1%	1.7abc	0.16bc	133.6ab	164.7b
Bio2	2%	1.8ab	0.34a	168b	514.7ab
Bio2	3%	1.6abc	0.21b	185b	503ab
Bio3	1%	1.7abc	0.16bc	410ab	618ab
Bio3	2%	2a	0.18bc	659a	914a
Bio3	3%	N.D. [¶]	N.D.	N.D.	N.D.
*Biofertilizante		0.0003	<.0001	0.1148	0.0028
*Dosis		0.0003	<.0001	0.1148	0.0028
*Biofertilizante x Dosis		0.0003	<.0001	0.1148	0.0028

[¶]N.D.=No determinado. [†]En cada columna, letra distintas indican diferencias estadísticamente entre medias (Tukey, p≤0.05, n=6). *Diferencia significativa. [§]El porcentaje de acumulación de nutrientes fue calculado por la siguiente relación:

$$\frac{\text{Biomasa inoculada}}{\text{Biomasa no inoculada}} \times \frac{\text{Contenido mineral en biomasa inoculada}}{\text{Contenido mineral en biomasa no inoculada}} \times 100$$

6.2. Efecto de tipos de biofertilizantes en naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa

6.2.1. Efecto de biofertilizante en propiedades químicas del suelo

El potencial hidrogeno (pH), materia orgánica, $C_{Org.}$, N_{total} , relación C/N y P disponible en suelo plantado con naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa tuvo diferencias estadísticas significativas por efecto de tipo de biofertilizante (Tukey, $p \leq 0.05$) (Cuadro 23) (apéndice, Cuadros 43, 44, 45, 46, 47, 48 y 63, 64, 65, 66, 67, 68).

Los biofertilizantes Bio1, Bio2 y Bio3 mejoraron el potencial hidrógeno (pH) del suelo plantado con naranjo agrio sin injerto, con valores de 5.1, 5.3 y 5.4 respectivamente comparado con el valor determinado en suelo sin biofertilizante (4.6). Los resultados indican que el pH del suelo cambió de fuertemente ácido a moderadamente ácido. El mismo efecto se encontró en suelo con naranjo agrio injertado con limón persa, los valores 5.1, 5.4 y 5.7 de los biofertilizantes 1, 2 y 3 respectivamente cambiaron el pH del suelo respecto al pH del suelo testigo (4.6). El suelo mejoró a moderadamente ácido. En ambas fases, el Bio3 promovió el valor más alto de pH en suelo respecto al suelo testigo (Cuadro 24).

En naranjo agrio, el Bio3 mejoró el porcentaje de materia orgánica en suelo con 5.9 %, éste valor se considera alto NOM-021-RECNAT-2000 (DOF, 2002) respecto al porcentaje encontrado en suelo testigo. Estadísticamente el estiércol de pollo como acarreador de PGPR (Bio3) fue el biofertilizante que mayor contenido de materia orgánica indujo en suelo, respecto a los otros biofertilizantes (5.6 %) y al testigo (4.6 %). La materia orgánica acumulada en suelo con naranjo agrio injertado con limón persa fue alta estadísticamente por efecto del biofertilizante Bio1 con 5.5 % respecto a los otros biofertilizantes y al testigo. El contenido menor de materia orgánica en los biofertilizantes 2 y 3 posiblemente se deba a la rápida degradación del sustrato por acción de los microorganismos del suelo, sobresaliendo la actividad de bacterias promotoras del crecimiento vegetal.

Los altos contenidos de materia orgánica en naranjo agrio se relacionan con el porcentaje de C_{Org} , el Bio3 indujo altos porcentajes de carbono orgánico (3.4 %); en naranjo agrio injertado con limón persa el más alto porcentaje de carbono orgánico fue en suelo con Bio1 (3.2 %) (Cuadro 23).

Cuadro 23. Propiedades químicas del suelo con naranjo agrio (Na) y naranjo agrio con injerto de limón persa (NaLp) por efecto de tipos de biofertilizantes.

Cultivo/ Biofertilizante	pH 1:2 H ₂ O	Morg	Corg %	N _{total}	C/N	P _{disponible} (mg kg ⁻¹)
Na						
Testigo	4.6c [†]	4.6c	2.67c	0.2b	13c	7.8c
Bio1	5.1b	5.6b	3.2b	0.2c	16a	7.7c
Bio2	5.3ab	5.6b	3.2b	0.2c	16a	20.9b
Bio3	5.4a	5.9a	3.4a	0.23a	15b	31.8a
*Biofertilizante (B)	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
*Dosis (D)	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
*B x D	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
NaLp						
Testigo	4.6c	5.2b	3.0b	0.17b	17b	12c
Bio1	5.1b	5.5a	3.2a	0.18b	17a	12c
Bio2	5.4ab	5.3ab	3.1ab	0.18b	16a	18b
Bio3	5.7a	5.3ab	2ab	0.30a	12b	29.6a
*Biofertilizante (B)	<.0001	0.0011	0.0011	<.0001	0.0002	<.0001
*Dosis (D)	<.0001	0.0011	0.0011	<.0001	0.0002	<.0001
*B x D	<.0001	0.0011	0.0011	<.0001	0.0002	<.0001

[†]En cada columna, letra distintas indican diferencias estadísticamente entre medias (Tukey, $p \leq 0.05$).

*Diferencia significativa.

El contenido de N total en suelo con naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa fue muy alto por efecto de los biofertilizantes Bio3 con 0.23 % y 0.30 % respectivamente de acuerdo a la clasificación de la NOM-021-RECNAT-2000. Respecto a la relación C/N, en naranjo agrio fue alta por efecto de Bio3, en cambio en suelo con naranjo agrio injertado con limón persa los resultados indican mediana mineralización del N. El Bio3 produjo los contenidos más altos de P disponible en suelo con naranjo agrio y con naranjo agrio con injerto de limón persa (Cuadro 24) respecto a las cantidades encontradas en suelo testigo.

6.2.2. Efecto de tipos de biofertilizantes en la densidad de bacterias en suelo a distancia y rizósfera de naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa

La densidad de bacterias promotoras del crecimiento vegetal *Azospirillum*, *Azotobacter* y bacterias solubilizadoras de P en suelo a distancia y rizósfera de naranjo agrio a los 12 meses y naranjo agrio con injerto de limón persa a los 15 meses, tuvo diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p \leq 0.05$) por efecto de tipo de biofertilizante (Figura 11, 12 y 13) (apéndice, Cuadros 49, 50, 51, 52, 53, 54 y 69, 70, 71, 72, 73, 74).

***Azospirillum* en suelo a distancia.** La mayor densidad (104×10^2 UFC g^{-1} s.s.) en suelo a distancia de naranjo agrio se localizó en suelo inoculado con Bio2, pero en naranjo agrio injertado con limón persa (AzosNaLp) la densidad más alta (344×10^2 UFC g^{-1} s.s.) se registró en suelo inoculado con Bio3 (pollinaza como acarreador de PGPR) (Figura 11). La densidad *Azospirillum* en naranjo agrio injertado con limón persa fue 3.3 veces mayor que en naranjo agrio. Lo anterior posiblemente se debe a la mayor presencia de nutrientes liberados de los sustratos por efecto de su degradación por intervención de las actividades bacterianas.

***Azotobacter* en suelo a distancia.** En suelo a distancia de naranjo agrio se encontró la mayor densidad de *Azotobacter* (242×10^2 UFC g^{-1} s.s.) cuando se inoculó Bio3 integrado con estiércol de pollo como acarreador de PGPR, y en naranjo agrio injertado con limón persa la mayor densidad 147 y 125×10^2 UFC g^{-1} se localizó en suelo con Bio2 y Bio3 (Figura 12).

Solubilizadoras de P en suelo a distancia. La mayor densidad de BSP (732×10^2 UFC g^{-1} s.s.) en suelo a distancia de naranjo agrio se registró por efecto del biofertilizante Bio3 (con pollinaza), en naranjo agrio injertado con limón persa la densidad más alta se localizó en suelo

sin biofertilizante (Figura 13). Los resultados anteriores muestran que en naranjo agrio las bacterias solubilizadoras de P presentaron condiciones adecuadas para liberar y aprovechar los nutrientes de las fuentes orgánicas del suelo derivadas del estiércol de pollo.

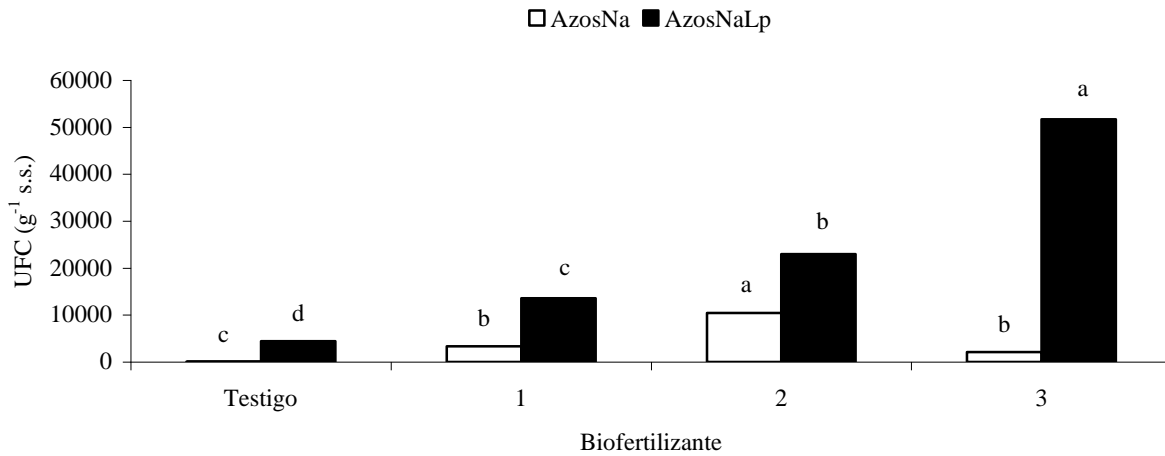


Figura 11. Densidad de bacterias *Azospirillum* en suelo a distancia de naranjo agrio sin (\square AzosNa) y naranjo agrio con injerto de limón persa (\blacksquare AzosNaLp) a 12 y 15 meses respectivamente de iniciado el experimento. Barras con la misma letra son iguales estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$).

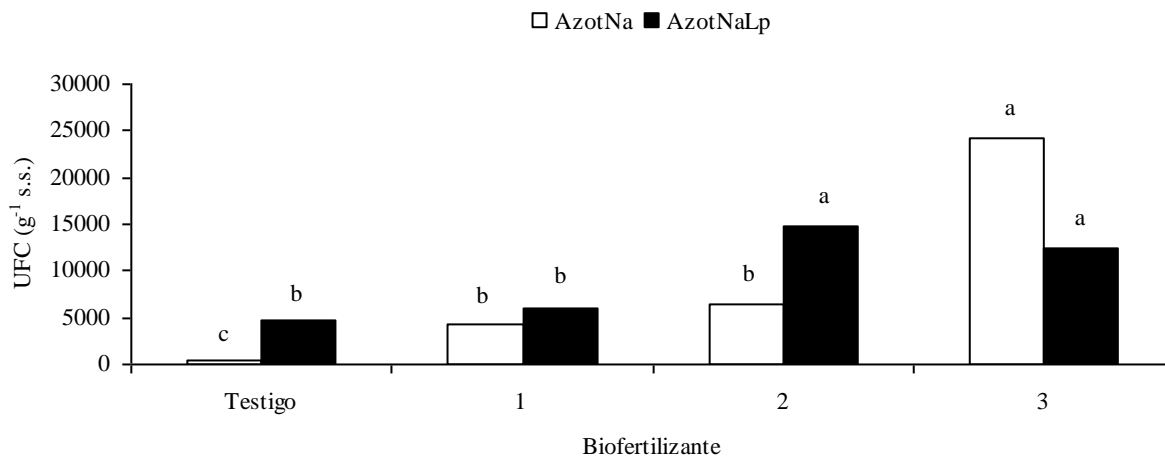


Figura 12. Densidad de *Azotobacter* en suelo a distancia de naranjo agrio (\square AzotNa) y naranjo agrio con injerto de limón persa (\blacksquare AzotNaLp) 12 y 15 meses respectivamente de iniciado el experimento. Barras con las mismas letras son iguales estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$).

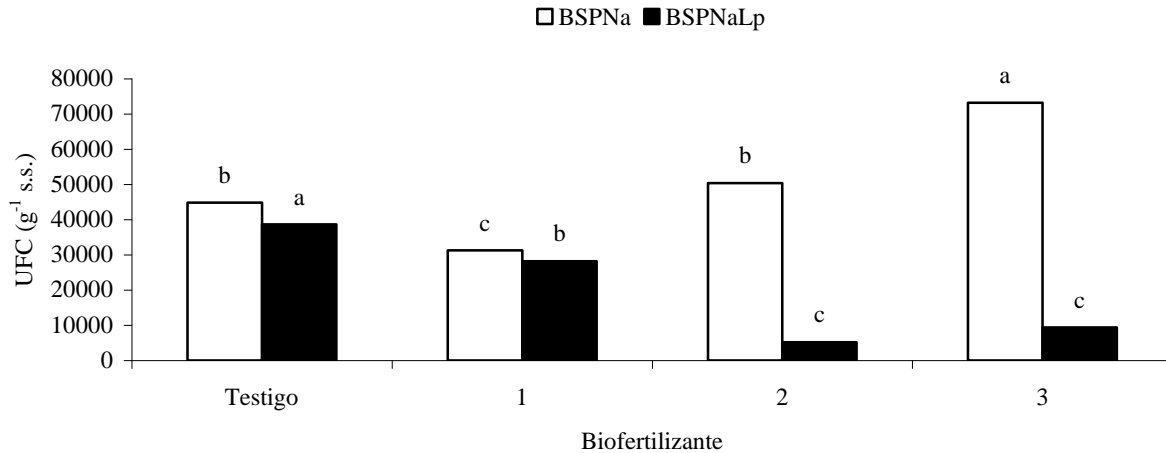


Figura 13. Densidad de bacterias solubilizadoras de fósforo en suelo a distancia de naranjo agrio (□BSPNa) y naranjo agrio con injerto de limón persa (■BSPNaLp) 12 y 15 meses respectivamente de iniciado el experimento. Barras con las mismas letras son iguales estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$).

***Azospirillum* en rizósfera.** Los tipos biofertilizantes inoculados, también provocaron efectos en el crecimiento de las bacterias asociadas a las rizósfera de naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa. El análisis de varianza por efecto de biofertilizantes en las densidades de *Azospirillum* en rizósfera de ambos cultivos presento diferencias estadísticas significativas (Figura 14). Al respecto en la rizósfera de naranjo agrio inoculada con cáscara de limón persa (Bio1) y cachaza (Bio2) registró la población más alta, 31 y 29×10^2 UFC g^{-1} s.s respectivamente. Las menores densidades se localizaron cuando se inoculo estiércol de pollo en suelo. El Bio2 integrado con cachaza como acarreador de PGPR indujo la mayor densidad de *Azospirillum* (742×10^2 UFC g^{-1} s.s) respecto al suelo sin biofertilizante Los promedios de las poblaciones encontradas por efecto de Bio1 y Bio2 fueron similares.

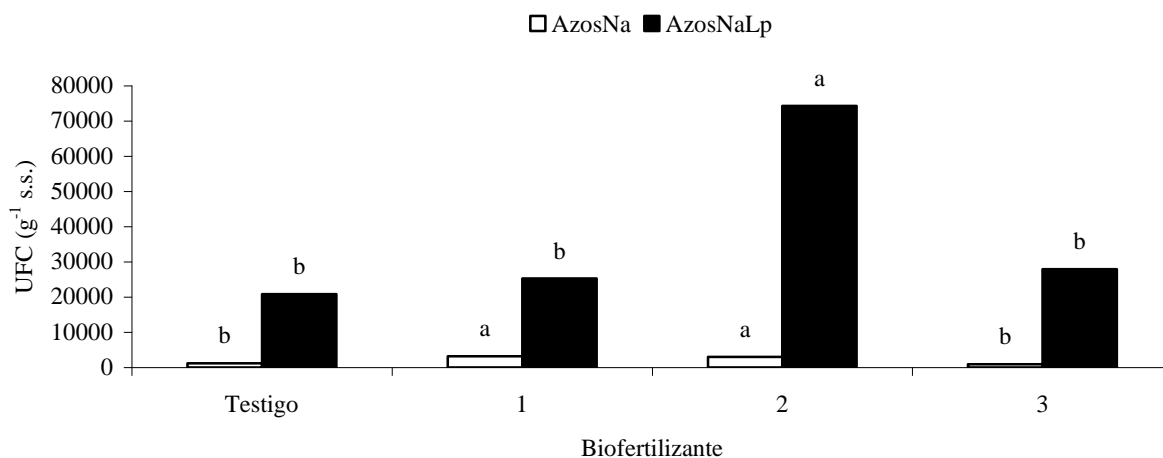


Figura 14. Densidad de bacterias *Azospirillum* en la rizósfera de naranjo agrío (□AzosNa) y naranjo agrío injertado con limón persa (■AzosNaLp) 12 y 15 meses respectivamente de iniciado el experimento. Barras con las mismas letras son iguales estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$).

***Azotobacter* en rizósfera** La densidad de *Azotobacter* encontradas en la rizósfera de naranjo agrío fue mayor en suelo testigo (305×10^2 UFC g⁻¹ s.s.), en cuanto al tipo de biofertilizante que manifestó mayores poblaciones de éste genero bacteriano, se encontró al Bio1 (con cáscara de limón) que registró 146×10^2 UFC g⁻¹ s.s. En naranjo agrío injertado con limón persa, *Azotobacter* creció positivamente por efecto de los biofertilizantes Bio1 y Bio2 (Figura 15).

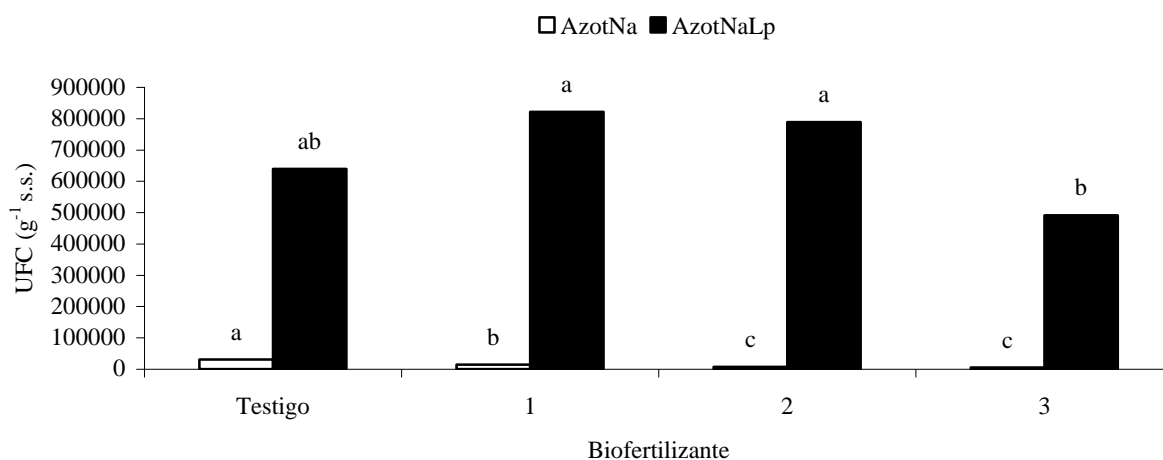


Figura 15. Densidad de bacterias *Azotobacter* en la rizósfera de naranjo agrío sin (□AzotNa) y con injerto de limón persa (■AzotNaLp) 360 y 450 días respectivamente de iniciado el experimento. Barras con las mismas letras son iguales estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$).

Solubilizadoras de P en rizósfera. El biofertilizante integrado con estiércol de pollo como acarreador de PGPR (Bio3) indujo la mayor densidad de bacterias solubilizadoras de P (775×10^2 UFC g^{-1} s.s.) en la rizósfera de naranjo agrio, y fue 4.2 veces mayor que en suelo testigo (Figura 16). En lo que se refiere al naranjo agrio injertado con limón persa, las poblaciones presentes fueron mayores por el efecto del biofertilizante Bio2 (con cachaza), registrando una población de 323×10^2 UFC g^{-1} s.s. mayor respecto a las encontradas por Bio1 y Bio3.

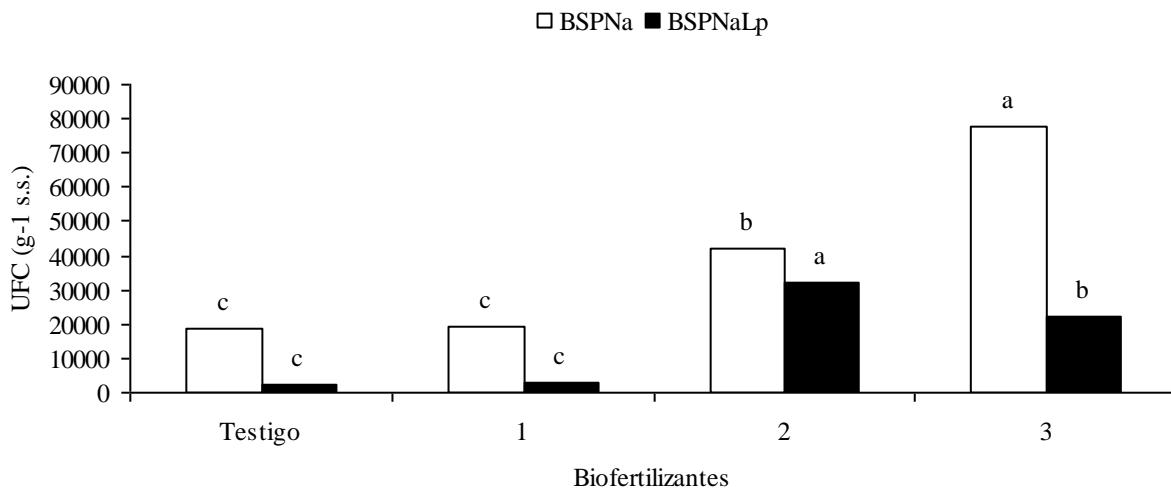


Figura 16. Densidad de bacterias solubilizadoras de fósforo en rizósfera de naranjo agrio sin (\square BSPNa) y con injerto de limón persa (\blacksquare BSPNaLp) 360 y 450 días respectivamente de iniciado el experimento. Barras con las mismas letras son iguales estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$).

6.2.3. Efecto de tipo de biofertilizantes en la altura de naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa.

La altura de naranjo agrio al 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12 meses después del trasplante manifestó en cada tiempo diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p \leq 0.05$) por efecto de biofertilizante (Apéndice, Cuadros 55y 56).

Los resultados mostraron que no sucedió diferencias significativas en la altura de la planta por la influencia de los tipos de biofertilizantes en los tiempos 1, 2, 3 y 4 meses del crecimiento de naranjo agrio; la altura a los 5, 6, 7 meses en las misma especie vegetal manifestó que el biofertilizante Bio2 (con cachaza) promovió el mayor crecimiento respecto a los biofertilizantes Bio1 (con cáscara de limón) y Bio3 (con pollinaza). A los 8, 9, 10, 11 meses la respuesta de la planta (altura) fue la misma con la inoculación de los tres biofertilizantes, pero mayor que el suelo sin biofertilizante. A los 12 meses la mayor altura (56 cms) fue localizada en suelos tratados con Bio3 (Cuadro 24).

Cuadro 24. Efecto de los tipos de biofertilizantes en la altura de naranjo agrio (Na) sin injerto de limón persa, de los 30 hasta los 360 días después del trasplante.

Na Tratamiento	Altura (cm)/días (d)					
	30 d	60 d	90 d	120 d	150 d	180 d
Testigo	6.3a [†]	6.3a	7a	7.5a	8.6b	10.6b
Bio1	5.5a	6.1a	7.6a	9.6a	12.7ab	15ab
Bio2	4.6a	6a	7.7a	11.7a	14.8a	21a
Bio3	5.6a	6.7a	7.8a	9.8a	11.4ab	13b
*Bio	0.2665	0.0019	0.0008	<.0001	<.0001	<.0001
	210d	240 d	270 d	300 d	330 d	360 d
Testigo	13b	13b	14.7b	17b	21b	25c
Bio1	21.5ab	30a	33.7a	40.5a	45a	47ab
Bio2	29.7a	31a	35a	38.7a	41.5a	44b
Bio3	23a	33.5a	39.8a	44.5a	48.7a	56a
*Bio	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

[†]Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$). *Diferencia significativa.

En naranjo agrio injertado con limón persa, los resultados del análisis de varianza de los datos por efecto de tipo de biofertilizante tuvieron diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p \leq 0.05$) (Apéndice, Cuadro 75). A los 30 días después del injerto el biofertilizante Bio3 produjo la mayor altura hasta ese momento; estadísticamente el mismo producto promovió mayor crecimiento a los 60 días, pero fue el biofertilizante Bio1 que demostró efecto positivo con la mayor altura del injerto al término del bioensayo (Cuadro 25), con seis centímetros superior a la altura del injerto encontrada por efecto de Bio3.

Cuadro 25. Efecto de los tipos de biofertilizantes en altura de naranjo agrio injertado con limón persa (NaLp) desde los 30 hasta los 90 días después del injerto.

NaLp Tipo	Altura (cm)		
	30 días	60 días	90 días
Testigo	13d [†]	29b	39.6b
Bio1	20.5b	26.8b	47a
Bio2	16.8c	19.8c	32c
Bio3	30a	34.8a	41ab
*Bio	<.0001	<.0001	<.0001

[†]Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$). *Diferencia significativa.

6.2.4. Efecto de tipo de biofertilizante en el diámetro basal de naranjo agrio sin injerto de limón persa

Se determinó el diámetro únicamente para naranjo agrio. El diámetro basal de la planta fue también afectado por la presencia del tipo de biofertilizante, los reportes indicaron que el diámetro de naranjo agrio fue mayor usando Bio3 con una medida de 7.3 mm (Figura 17). El biofertilizante Bio2 con sustrato cachaza mostró el segundo mejor efecto en el diámetro de la planta.

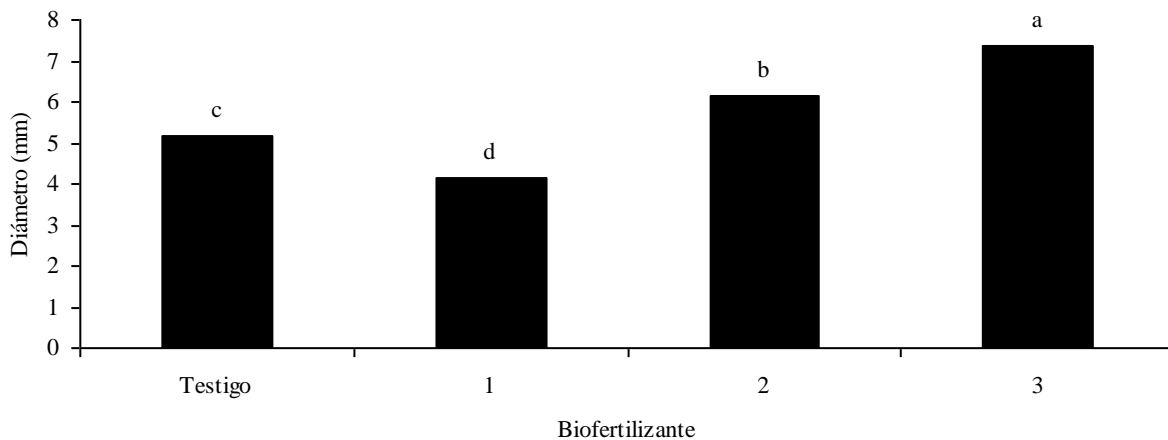


Figura 17. Diámetro basal de plantas de naranjo agrio por efecto de tipo de biofertilizante. Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

De acuerdo a los resultados anteriores, se puede apreciar que los dos tipos de biofertilizantes (Bio2 y Bio3) aumentaron el diámetro de la planta respecto al testigo donde el diámetro fue de 5 mm. Aunque el diámetro producido por efecto del biofertilizante con cáscara de limón fue el más pequeño (4 mm), el desarrollo del tallo del portainjerto naranjo agrio es adecuado para su injerto debido a que se necesita un diámetro de 2-6 mm.

6.2.5. Producción de biomasa radical, aérea y total de naranjo agrio sin y con injerto de limón persa por efecto de biofertilizantes

Los resultados del análisis de las medias de la biomasa de naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa tuvieron diferencias significativas (Tukey, $p \leq 0.05$) (Apéndice, Cuadros 58 y 76) por efecto de tipo de biofertilizante. El Bio3 integrado con estiércol de pollo como acarreador de PGPR indujo la mayor biomasa seca radical (Figura 18) en naranjo agrio y el mismo efecto se registró para naranjo agrio con injerto de limón persa.

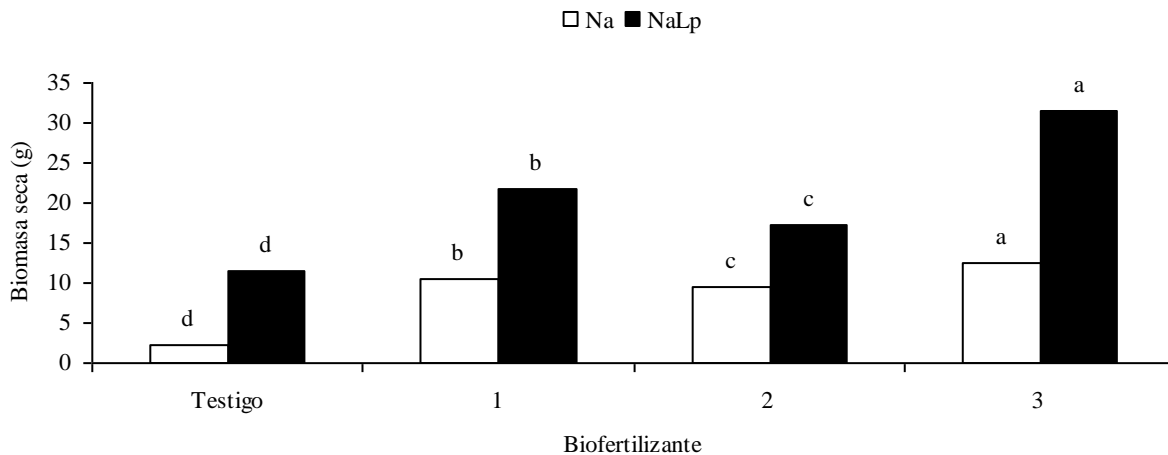


Figura 18. Biomasa seca radical de naranjo agrio (\square Na) y naranjo agrio con injerto de limón persa (\blacksquare NaLp) al final del bioensayo. Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

Respecto a la biomasa seca aérea, el biofertilizante con cachaza (Bio2) aumentó 6.2 veces más la producción de biomasa aérea en naranjo agrio sin injerto de limón persa respecto al testigo; en cambio en naranjo agrio injertado con limón persa, la producción de biomasa aérea fue beneficiada por efecto del Bio3 (con pollinaza), el aumento fue 2.4 veces mayor que en suelo testigo (Figura 19).

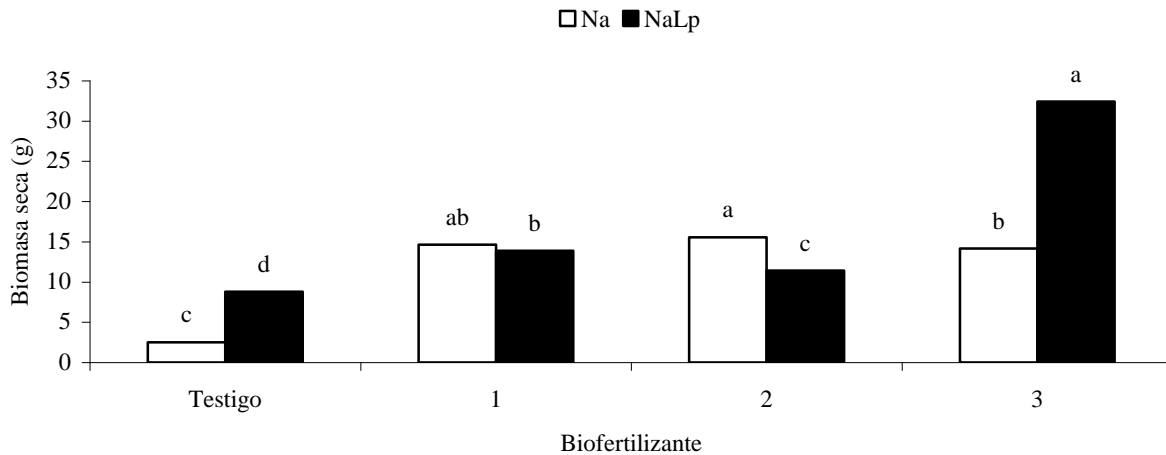


Figura 19. Biomasa seca aérea de naranjo agrio sin (□Na) y con injerto de limón persa (■NaLp) al final del bioensayo. Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

La producción de biomasa seca total en naranjo agrio sin injerto de limón persa presentó variación estadística significativa por efecto de los tres biofertilizantes. La Figura 20 muestra que en naranjo agrio sin injerto de limón persa, los tres tipos de biofertilizantes indujeron la misma producción de biomasa total, en cambio, en naranjo agrio injertado con limón persa, el biofertilizante Bio3 con pollinaza produjo la mayor biomasa total, la biomasa producida fue 2 veces más que en suelo sin biofertilizante.

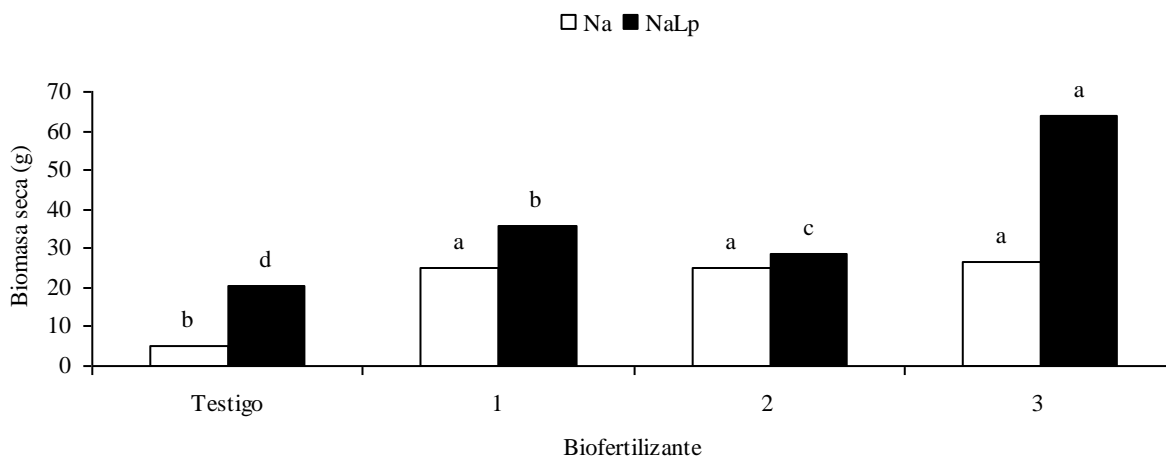


Figura 20. Biomasa seca total de naranjo agrio sin (□Na) y con injerto de limón persa (■NaLp) al final del bioensayo. Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

6.2.6. Contenido y acumulación de nitrógeno por efecto de tipo de biofertilizantes (Bio1, Bio2 y Bio3) en la planta de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa

El contenido de N en naranjo agrio, fue mayor por efecto del Bio3, y en naranjo agrio injertado con limón persa el mayor contenido se registró por Bio2 (con cachaza) (Cuadro 26). La acumulación de N en follaje de naranjo agrio y en naranjo agrio injertado con limón persa mayor fue inducida por la inoculación de Bio3 (con pollinaza) respecto al Bio1 y Bio2.

El contenido y acumulación de P en follaje de naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa presento diferencias significativas por efecto de tipo de biofertilizantes. El Bio2 indujo que la planta de naranjo agrio presentara a los 12 meses los mayores contenidos y acumulación de P en follaje aéreo. En naranjo agrio injertado con limón persa, el mayor contenido de P se registró por el efecto del biofertilizante Bio2 y la acumulación más alta de P foliar fue cuando se inoculó el Bio3 (Cuadro 26).

Cuadro 26. Acumulación y concentración de N y P por efecto de tipo de biofertilizante en naranjo agrio (Na) y naranjo agrio con injerto de limón persa (NaLp) 15 meses después del establecimiento del bioensayo.

	Contenido [§] (mg kg ⁻¹)		Acumulación (mg planta ⁻¹)	
	N	P	N	P
Na				
Testigo	1.7b	0.12c	100c†	100c
Bio1	1.4c	0.13b	457.7b	517.6b
Bio2	1.3c	0.17a	448.8b	974a
Bio3	2.4a	0.08d	643.7a	550b
*Bio	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
NaLp				
Testigo	2a	0.1b	100b	100b
Bio1	1.3b	0.1b	216ab	230.7ab
Bio2	1.7a	0.2a	162.5ab	394ab
Bio3	1.9a	0.1d	534a	510a
*Bio	0.0003	<.0001	0.1148	0.0028

†Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, p≤0.05). *Diferencia significativa.

§El porcentaje de acumulación de nutrientes fue calculado por la siguiente relación:

$$\frac{\text{Biomasa inoculada}}{\text{Biomasa no inoculada}} \times \frac{\text{Contenido mineral en biomasa inoculada}}{\text{Contenido mineral en biomasa no inoculada}} \times 100$$

6.3. Efecto de dosis de biofertilizantes en naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa.

6.3.1. Efecto de dosis de biofertilizantes en las propiedades químicas del suelo con naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa.

Los efectos de las dosis de los biofertilizantes en los cinco parámetros químicos del suelo plantado con naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa presentaron diferencias estadísticas significativas (Tukey, p≥0.05) (Apéndice, Cuadros 43, 44, 45, 46, 47, 48 y 63, 64, 65, 66, 67, 68). El pH del suelo con naranjo agrio se modificó de fuerte mente ácido (testigo) a moderadamente ácido por efecto de la dosis 2 %. Por otra parte, las dosis 1 y 2 % en suelo con limón persa injertado en naranjo agrio mejoró el pH respecto al determinado en suelo testigo, el

pH se clasificó como moderadamente ácido (Cuadro 27). Por lo tanto los resultados indican que dosis del 3 % aumentó la acidez del suelo a los 15 meses después del establecimiento del bioensayo con naranjo agrio injertado con limón persa.

Cuadro 27. Efecto de tipo de dosis en las propiedades físico químicas del suelo con naranjo agrio y limón persa al final del bioensayo.

	pH 1:2 H ₂ O	Morg	Corg %	N	C/N	P (mg kg ⁻¹)
Na						
Testigo	4.6c [†]	5.6b	3.2b	0.2b	16b	7.8d
Dosis1 %	5.1b	5.7ab	3.3b	0.2c	16.5a	13.8c
Dosis2 %	5.6a	5.5b	3.2b	0.2c	16b	19.6b
Dosis3 %	5.3c	5.9a	3.4a	0.23a	14.7c	27a
*Dosis	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
NaLp						
Testigo	4.6b	5.2b	3.0b	0.17bc	17.6a	12c
Dosis1 %	5.3a	5.4ab	3.14ab	0.18b	17.4b	17.9b
Dosis2 %	5.4a	5.49a	3.18a	0.25a	12.7d	21a
Dosis3 %	3.6c	3.5c	2c	0.13c	15.3c	10.9c
*Dosis	<.0001	0.0011	0.0011	<.0001	0.0002	<.0001

[†]Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, p≤0.05). *Diferencia significativa.

En naranjo agrio los contenidos de materia orgánica y carbono orgánico fueron altos por efecto de las tres dosis evaluadas de acuerdo a la norma mexicana 021 (DOF, 2000), pero estadísticamente la dosis 3 % produjo mayor acumulación (Cuadro 27). En cambio, el contenido de materia orgánica y C_{org} fueron altos por efecto de la dosis 2 % en suelo con naranjo agrio injertado con limón persa.

Los contenidos de N total y P disponible en suelo con naranjo agrio, fueron mayores cuando la planta estuvo expuesta a 3 % de biofertilizante (0.23% y 27 mg kg⁻¹ respectivamente). Las mismas variables pero en limón persa injertado en naranjo agrio fueron mayores por la dosis 2 % respecto a las otras dosis evaluadas (Cuadro 27).

6.3.2. Efecto de dosis de biofertilizantes en las poblaciones de bacterias promotoras de crecimiento vegetal en suelo a distancia de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa

Los tamaños de las poblaciones de bacterias *Azospirillum*, *Azotobacter* y bacterias solubilizadoras de P en suelo a distancia de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa tuvieron diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p \geq 0.05$) (Apéndice, Cuadros 52, 53, 54 y 72, 73, 74) por efecto de dosis de biofertilización aplicado. Los resultados indicaron que la densidad de *Azospirillum* en suelo a distancia de naranjo agrio fue mayor por efecto de la dosis 2 % (Figura 21), pero en limón persa injertado sobre naranjo agrio la dosis 1 % promovió la densidad más alta (Figura 21).

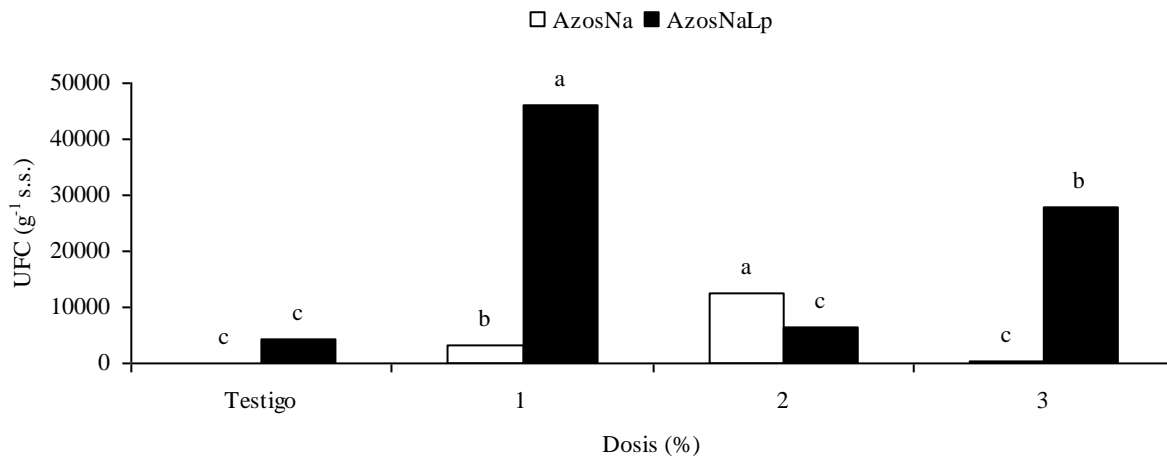


Figura 21. Efecto de dosis de biofertilizantes en la densidad de *Azospirillum* en suelo no rizosférico de naranjo agrio sin (\square AzosNa) y con injerto de limón persa (\blacksquare AzosNaLp). Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

En cuanto al género *Azotobacter*, la dosis 2 % aumentó las poblaciones respecto a las otras dosis evaluadas en suelo no rizosférico con naranjo agrio sin injerto de limón persa, pero cuando la planta estuvo injertada con limón persa la mayor densidad se determinó por efecto de 3 % de biofertilizante (Figura 22). El aumento fue 40 veces mayor respecto a las poblaciones encontradas en suelo testigo.

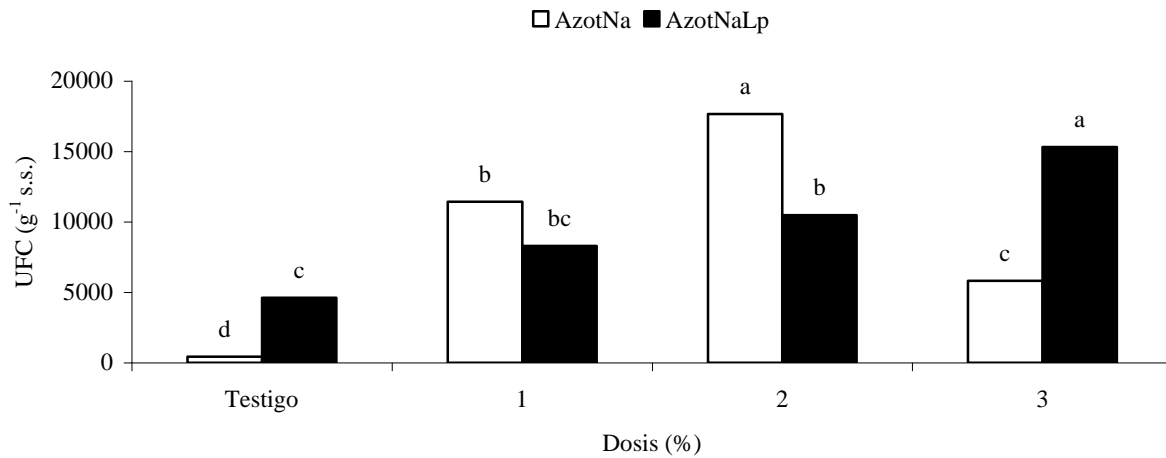


Figura 22. Efecto de dosis de biofertilizantes en la densidad de *Azotobacter* en suelo no rizosférico de naranjo agrio sin (\square AzotNa) y con injerto de limón persa (\blacksquare AzotNaLp). Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

La mayor densidad de bacterias solubilizadoras de fósforo (BSP) en suelo a distancia en naranjo agrio fue promovida por efecto de la dosis 2 %, la menor densidad de BSP se debió a la dosis 1 %. Cuando la planta estuvo injertada con limón persa, la densidad más alta de BSP se determinó en suelo a distancia del tratamiento testigo; la dosis que permitió la densidad más alta fue 3 % (Figura 23).

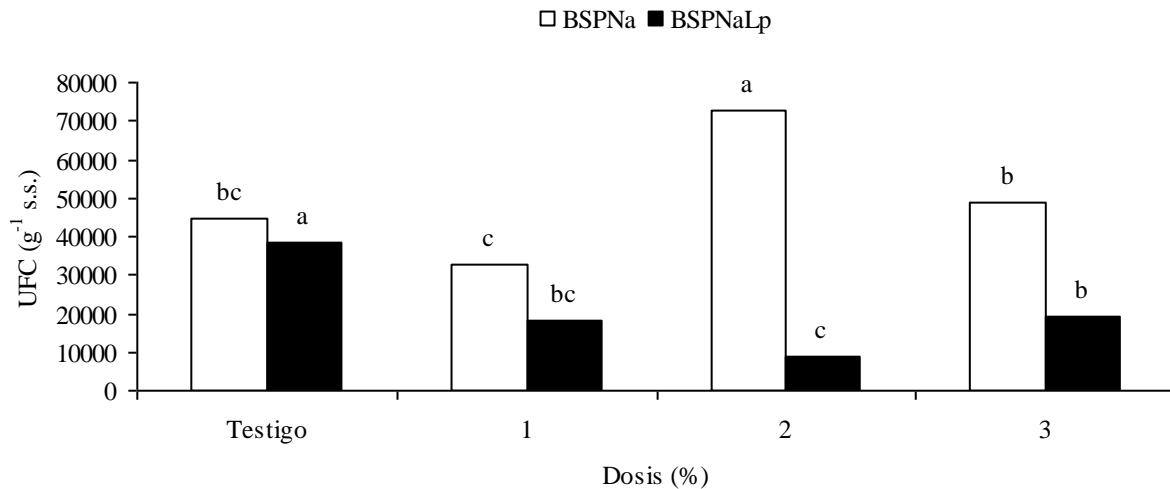


Figura 23. Efecto de dosis de biofertilizantes en la densidad de bacterias solubilizadoras de fósforo (BSP) en suelo no rizosférico de naranjo agrio sin (□BSPNa) y con injerto de limón persa (■BSPNaLp). Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

6.3.3. Efecto de dosis de biofertilizantes en las poblaciones de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en la rizósfera de naranjo agrio sin y con injerto de limón persa

En la rizósfera de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa, el efecto de las diferentes dosis de biofertilizantes en las poblaciones de *Azospirillum*, *Azotobacter* y bacterias solubilizadoras de P (BSP) produjo diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p \geq 0.05$) (Apéndice, Cuadros 49, 50, 51 y 69, 70, 71). La densidad más alta de *Azospirillum* en la rizósfera de naranjo agrio se registró por el efecto de la dosis 1 %, en cambio, la dosis 3 % de biofertilizante promovió la mayor densidad de esta bacteria en la rizósfera de naranjo agrio injertado con limón persa (Figura 24). Los resultados que se muestran en la Figura 24 indican que las dosis 2 y 3 % en suelo rizosférico de naranjo agrio sin injerto, inhibieron el crecimiento de este género bacteriano.

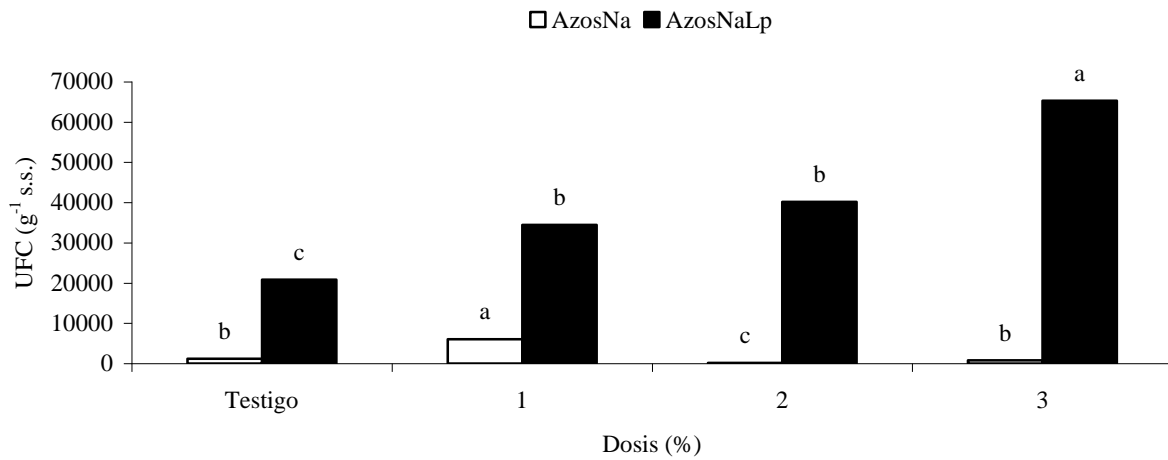


Figura 24. Efecto de dosis de biofertilizantes en la densidad de *Azospirillum* en la rizósfera de naranjo agrio sin (□AzosNa) y con injerto de limón persa (■AzosNaLp). Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

La densidad de *Azotobacter* en suelo rizosférico de naranjo agrio por efecto de las dosis 1, 2 y 3 % fueron menores respecto a las poblaciones encontradas en suelo del tratamiento testigo, esta respuesta posiblemente se deba a la dificultad de adaptación de este tipo de bacterias a las dosis evaluadas. Por otro lado, en naranjo agrio injertado con limón persa, la densidad del mismo género bacteriano fue mayor en suelo rizosférico inoculada con dosis 3 % (Figura 25).

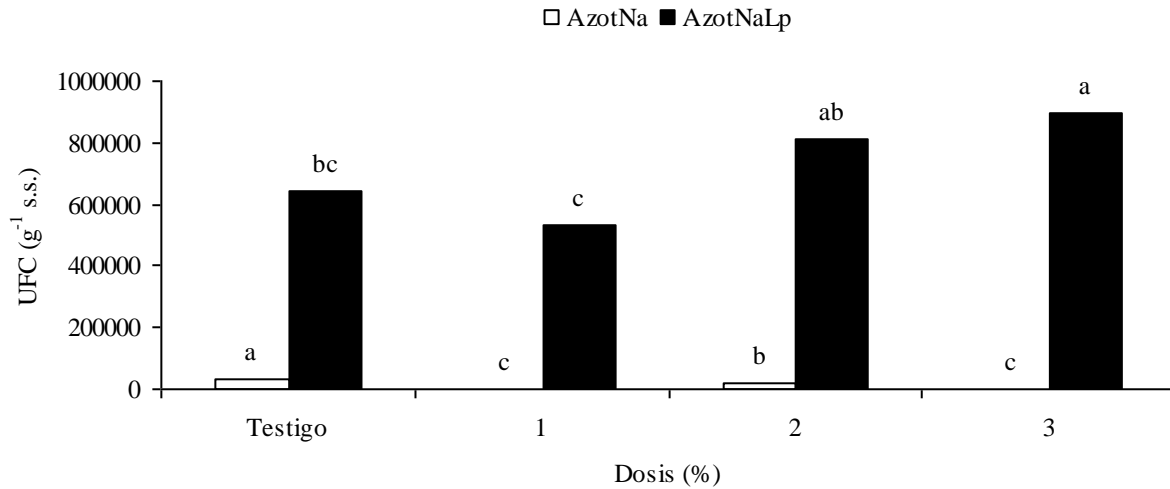


Figura 25. Efecto de dosis de biofertilizantes en la densidad de *Azotobacter* en la rizósfera de naranjo agrio sin (\square AzotNa) y con injerto de limón persa (\blacksquare AzotNaLp). Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

El efecto de la dosis 2 % en la rizósfera de naranjo agrio, provocó la densidad más alta de bacterias solubilizadoras de P (BSP) respecto a las dosis 1 y 3 %, y fue 1.6 veces mayor a la densidad encontrada en suelo de tratamiento testigo. En cambio, la densidad de BSP en la rizósfera de naranjo agrio con injerto de limón persa fue mayor por la dosis 1 % respecto a 2 y 3 % y fue 16.3 veces mayor la densidad en comparación a la encontrada en suelo rizosférico del testigo (Figura 26).

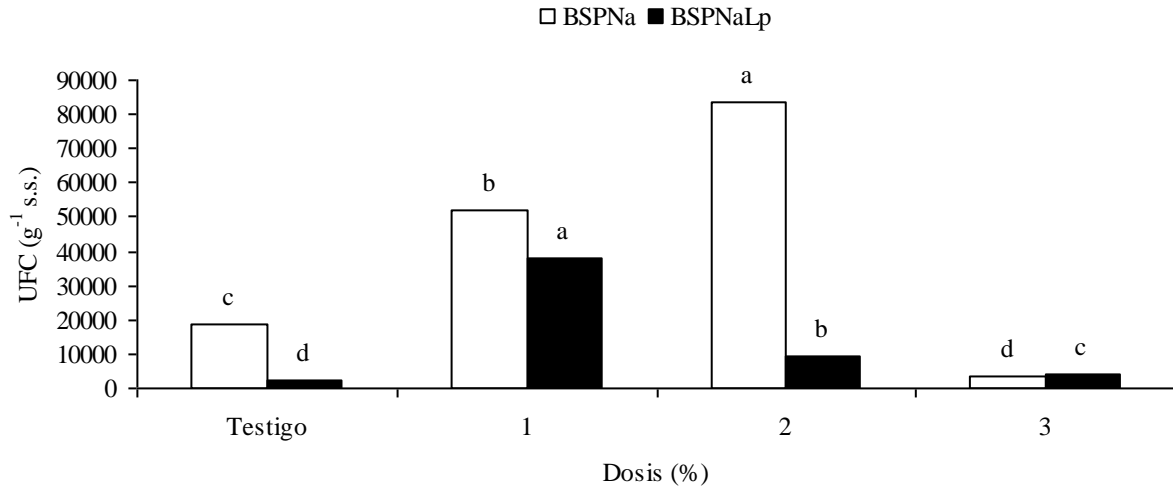


Figura 26. Efecto de dosis de biofertilizantes en la densidad de bacterias solubilizadoras de fósforo (BSP) en la rizósfera de naranjo agrio sin (\square BSPNa) y con injerto de limón persa (\blacksquare BSPNaLp). Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

6.3.4. Efecto de dosis de biofertilizantes en la altura de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa

El análisis de varianza de la altura de naranjo agrio sin y con injerto de limón persa tuvo diferencias estadísticas significativas entre medias de dosis (Tukey, $p \geq 0.05$) (Apéndice, Cuadros 55 y 56). El Cuadro 28, muestra que en los tiempos 1 y 2 meses la altura de naranjo agrio fue similar en cada una de las dosis evaluadas y en testigo. En los tiempos 3, 4 y 5 meses después del trasplante, la dosis 2 % incrementó la altura de la planta en comparación a los efectos de las dosis 1 y 3 %. Las dosis 1 y 2 % promovieron el mayor crecimiento de la planta a los 6, 7, 8, y 9 meses después del trasplante, respecto a suelo testigo y dosis 3 %. A los 11 meses después del trasplante, la altura de naranjo agrio fue mayor por efecto de la dosis 2 % pero, al final del experimento las dosis 1 y 2 % provocaron la mayor altura de la planta (Cuadro 28), 28 centímetros más que en suelo testigo y 13 cm más que por efecto de la dosis 3 %.

Cuadro 28. Efecto de los tipos de dosis en altura de la planta de naranjo agrio (Na) sin injerto de limón persa desde los 30 hasta los 360 días después del trasplante.

Na	Altura (cm)/días (d)					
	30 d	60 d	90 d	120 d	150 d	180 d
Testigo	6.3a [†]	6.3a	7ab	7.5b	8.6b	10.6b
Dosis1 %	5.3a	5.9a	7.5ab	9.5ab	13ab	17a
Dosis2 %	5.3a	7.4a	9.6a	14.6a	18a	22.5a
Dosis3 %	5.1a	5.5a	6.1b	7b	8b	10b
*Dosis	0.2665	0.0019	0.0008	<.0001	<.0001	<.0001
	210 d	240 d	270 d	300 d	330 d	360 d
Testigo	13b	13c	14.7c	17c	21c	25c
Dosis1 %	28.5a	34a	39a	43.5ab	46.5ab	53a
Dosis2 %	29.8a	37a	41a	46a	49.9a	53.8a
Dosis3 %	16b	24b	28b	34b	39b	40b
*Dosis	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

[†]Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$). *Diferencia significativa.

La altura de naranjo agrio al primer mes después de injertarse con limón persa no presentó diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p \geq 0.05$) (Apéndice, Cuadros 75) por efecto de las tres dosis evaluadas, pero la altura fue mayor respecto a la obtenida en el testigo. A los dos meses, la mayor altura de la planta se registró por efecto de la dosis 1 % y la respuesta fue similar en suelo testigo. Al final del experimento, la dosis 3 % produjo el mayor crecimiento de la planta injertada (Figura 27), las dosis 1 y 2 % provocaron el mismo efecto en la altura de la planta.

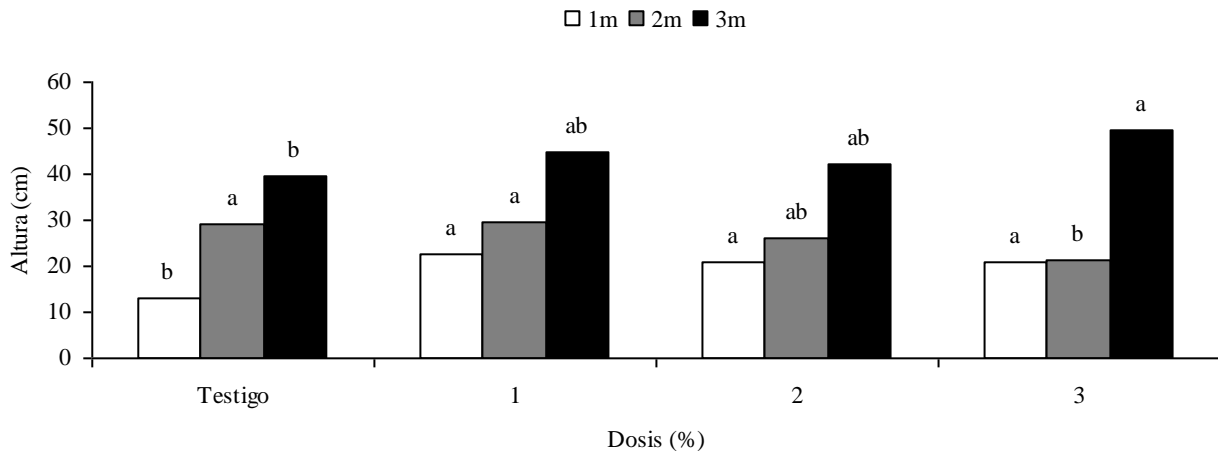


Figura 27. Efecto de dosis de biofertilizantes en la altura de naranjo agrio con injerto de limón persa. Barras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$).

6.3.5. Efecto de dosis en el diámetro basal del naranjo agrio.

Los efectos de la aplicación de las dosis 1, 2 y 3 % de los biofertilizantes en suelo con plantas de naranjo agrio como portainjerto de limón persa, indicaron que a los 12 meses el mayor diámetro de tallo creció en suelo con 1 % de biofertilizante (Cuadro 29) y fue 2 mm mayor que el obtenido por el testigo. La dosis 3 % afectó negativamente el desarrollo del diámetro de tallo de la planta, fue 2 mm menor que el diámetro obtenido por la dosis 1 %.

De acuerdo con la Comisión Veracruzana de Comercialización Agropecuaria el diámetro adecuado del tallo del portainjerto naranjo agrio debe ser de 4-6 mm para poder injertar las yemas de limón persa. En el vivero La Esperanza productor de portainjertos ubicado en el municipio de Huimanguillo Tabasco, el diámetro requerido para injertar las yemas de limón persa es de 2 mm a ocho meses de edad de la planta.

Cuadro 29. Variación del diámetro de tallo de naranjo agrio sin injerto de limón persa de acuerdo con el tipo de dosis 12 meses después del trasplante.

Dosis	Diámetro (mm)
Testigo	5.2c [†]
1 %	7.2a
2 %	6.6b
3 %	3.7d
*Dosis	<.0001

[†]Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$). *Diferencia significativa.

6.3.6. Efecto de dosis de biofertilizantes en la producción de biomasa de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa

El efecto de las dosis en la producción de biomasa vegetal radical, foliar y total de naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa produjo diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p \geq 0.05$) (Apéndice, Cuadros 58 y 76). Las dosis 1 y 2 % de biofertilizantes generaron la mayor biomasa radical y total de naranjo agrio; la biomasa foliar de la planta fue afectada positivamente por la dosis 2 % (Cuadro 30). En naranjo agrio injertado con limón persa las dosis 2 y 3 % produjeron la mayor biomasa radical y fue 14.5 veces más alta que la obtenida por el testigo. La dosis 2 % incrementó 12.7 y 27.5 veces más la biomasa aérea y total de naranjo agrio injertado con limón persa respecto a la biomasa aérea y total obtenida en testigo. Después del injerto de limón persa en portainjerto naranjo agrio, la biomasa total aumentó 16.8 gramos peso seco.

Cuadro 30. Efectos de tipos de dosis de biofertilizantes en la producción de biomasa radical, foliar y total de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa.

Dosis	Gramo peso seco		
	Biomasa radical	Biomasa foliar	Biomasa total
Na			
Testigo	2.3c [†]	2.5d	4.8c
1	12a	16.8b	29a
2	11.7a	19a	30.7a
3	8.5b	8.5c	17b
*Dosis	<.0001	<.0001	<.0001
NaLp			
Testigo	11.5c	8.8c	20d
1	16b	16b	32c
2	26a	21.5a	47.5a
3	26a	14b	40b
*Dosis	<.0001	<.0001	<.0001

[†]Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, $p \leq 0.05$). *Diferencia significativa.

6.3.7. Acumulación y concentración de nitrógeno total y de fósforo en la planta de naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa por efecto de dosis

Las dosis de biofertilizantes mejoraron los contenidos y acumulación de N foliar y P foliar de naranjo agrio y naranjo agrio injertado con limón persa (Cuadro 31), el análisis de varianza determinó diferencias estadísticas significativas (Tukey, $p \geq 0.05$) (Apéndice, Cuadros 59, 60, 61, 62 y 77, 78, 79, 80).

La acumulación de N en naranjo agrio sin injerto de limón persa fue favorecida por las dosis 1 y 2 %, en cambio en naranjo agrio con injerto, estadísticamente no se encontró diferencia entre efectos de las diferentes dosis, pero se puede observar que la dosis 2 % produjo la mayor acumulación. En cuanto al contenido de N en naranjo agrio, el mayor contenido lo produjo la dosis 3 % y en naranjo agrio con injerto de limón persa, el mayor contenido se encontró en el suelo sin biofertilizante (testigo).

La acumulación de P foliar en naranjo agrio y naranjo agrio con injerto fue mayor por efecto de 2 % con 967 y 579 mg kg⁻¹ respectivamente. La misma dosis produjo la mayor concentración de P en naranjo agrio y naranjo agrio con injerto de limón persa, con 0.15 y 0.2 % respectivamente.

Cuadro 31. Efectos de dosis de biofertilizantes el contenido y acumulación de N y P foliar de naranjo agrio (Na) y naranjo agrio con injerto de limón persa (NaLp).

Dosis (%)	Contenido (%) (mg kg ⁻¹)		Acumulación (mg kg ⁻¹)	
	N	P	N	P
Na				
Testigo	1.7b	0.12c	100c [†]	100d
1	1.6b	0.13d	666a	664b
2	1.5b	0.15a	605a	967a
3	1.9a	0.10b	278b	410c
*Dosis	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
NaLp				
Testigo	2a	0.1b	100a	100b
1	1.5b	0.15ab	222a	329ab
2	1.7ab	0.2a	332a	570a
3	1.5b	0.15ab	270a	354ab
*Dosis	0.0003	<.0001	0.1148	0.0028

[†]Cifras con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, p≤0.05). *Diferencia significativa.

[§]El porcentaje de acumulación de nutrientes fue calculado por la siguiente relación:

$$\frac{\text{Biomasa inoculada} \times \text{Contenido mineral en biomasa inoculada}}{\text{Biomasa no inoculada} \times \text{Contenido mineral en biomasa no inoculada}} \times 100$$

VII. CONCLUSIONES

Los tipos y dosis de biofertilizantes mejoraron las propiedades químicas y bacteriológicas del suelo con naranjo agrio sin y con injerto de limón persa, produjeron mayor contenido y acumulación N y P foliar respecto al tratamiento sin biofertilizante, e indujeron el mayor crecimiento de la planta en sus dos fases. La evaluación y análisis de biofertilizantes permiten reconocer sus efectos benéficos para fertilizar plantas en vivero.

Fase uno: naranjo agrio

Las propiedades químicas del suelo mejoraron con la aplicación de dosis del 3% del biofertilizantes integrado con el acarreador pollinaza; únicamente Bio3-2 % mejoró el pH del suelo. Las propiedades bacteriológicas del mismo suelo fueron mayores por los efectos positivos de Bio3-2 % en *Azospirillum* y *Azotobacter* de la rizósfera de la planta, las bacterias solubilizadoras de fósforo (BSP) fueron mayores por Bio2-2 % y Bio3 con 1 y 2 %. En suelo no rizosférico, la densidad de *Azospirillum* fue alta por efecto de Bio1-1 % y Bio2-1 %, *Azotobacter* por el efecto de Bio1-2 % y BSP por Bio3-2 %. El Bio3-1 % promovió mayor altura, biomasa radical, aérea, total y el diámetro de tallo del portainjerto. La acumulación y contenido de N en follaje fueron superiores respecto al encontrado en testigo por los efectos de Bio3 con 1 y 3 % respectivamente. El Bio2-2 % produjo el mayor contenido y acumulación de P foliar en la planta.

Fase dos: naranjo agrio injertado con limón persa

El pH del suelo con naranjo agrio injertado con limón persa cambió positivamente a moderadamente ácido por Bio2 con 1 y 2 % y Bio3 con 1 y 2 %. El tratamiento Bio2-2 % permitió el mayor contenido de materia orgánica, carbono orgánico, y produjo la mejor relación C/N. Los contenidos de N total y P disponible en suelo fueron altos por Bio3-2 %. Las densidades de bacterias *Azospirillum*, *Azotobacter* y BSP se encontraron altas en rizósfera por Bio2 a 3, 2 y 1 % respectivamente, comparado a las encontradas en el testigo. En suelo no rizosférico, el Bio3-1 % y Bio2-3 % estimularon la mayor densidad de *Azospirillum* y *Azotobacter* respectivamente, pero las BSP fueron mayores en suelo testigo. La altura de la planta injertada fue superior por Bio3 con 1 y 2 %, y Bio1-3 %. La mayor producción de biomasa radical, aérea y total se debió al efecto de Bio3-2 %. El Bio3-2 % aumentó la el contenido y acumulación N y la acumulación de P foliar en la planta; el contenido de P en la planta fue mayor cuando se inoculo Bio2-2 % en suelo.

Análisis comparativo:

El tipo y dosis de biofertilizantes produjo efectos positivos y negativos en la respuesta de la planta en las propiedades químicas y bacteriológicas del suelo, en el crecimiento y el contenido de N y P en la planta antes y después del injerto.

El biofertilizante con sustrato pollinaza (Bio3) hizo notorio su efecto positivo en la mayoría de las variables evaluadas en la planta sin injerto. Su efecto positivo resaltó en el mejoramiento de las propiedades químicas, así como en la altura, diámetro de tallo, biomasa radical y total. Además produjo la mayor densidad de BSP en la rizósfera. El Bio2 (con cachaza) fue el segundo mejor tipo de biofertilizante que produjo efectos positivos en las variables evaluadas. El Bio3 produjo la muerte de la planta después de los 12 meses de crecimiento por efecto tóxico de su concentración. En naranjo agrio con injerto de limón persa, el biofertilizante Bio3 también generó efectos benéficos en la mayoría de las variables evaluadas en la fase dos del experimento.

Respecto al efecto de las dosis en cada una de las fases del experimento, 2 % fue la dosis de biofertilizante el que mejoró la mayoría de las propiedades químicas del suelo en la fase uno, las dosis 1 y 3 % produjeron efectos positivos en el resto de las variables evaluadas en la misma fase. Después de los 12 meses de crecimiento, la dosis 3 % produjo la muerte de la planta. En la fase dos, igualmente la dosis 2 % produjo efectos benéficos en las propiedades químicas del suelo, así como en la producción de biomasa radical, foliar, total y produjo el mayor contenido y acumulación de N y P foliar en la planta injertada.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la fase uno y dos del experimento, se comprueba que los biofertilizantes (combinación sustrato y dosis) y sus componentes por separado afectaron positiva y negativamente las propiedades químicas y bacteriológicas del suelo, así como el crecimiento, acumulación y contenido de nitrógeno y fósforo en la planta.

El biofertilizante Bio3-2 % se recomienda para fertilizar plantas de naranjo agrio como porta injerto, debido a sus efectos positivos en suelo y planta. El mismo biofertilizante se recomienda para que la planta continúe su desarrollo con injerto de limón persa.

VIII. LITERATURA CITADA

- Acuña, O. 2003. El uso de biofertilizantes en la agricultura. *In*: G. Meléndez y G. Soto (eds.) Taller de abonos orgánicos. Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica. San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica. pp. 67-75.
- Acuña O., W. Peña, E. Serrano, L. Pocasangre, F. Rosales, E. Delgado, J. Trejos y A. Segura. 2006. La importancia de los microorganismos en la calidad y salud de suelos. ACORBAT. Brasil. 12:222-233 pp.
- Aguirre M., J. F., A. Mendoza L., J. Cadenas I., C. H. Avendaño A. 2007. Efecto de la biofertilización en vivero del cacao (*Theobroma cacao* L) con *Azospirillum brasillense* Terrand, Krieg et Döbereiner y *Glomus intraradices* Shenk et Smith. *Interciencia*. 6:541-546.
- Agustí M. 2003. Citricultura. 2ª ed. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 422 p.
- Álcantar G., G. 1992. Análisis vegetal. *In*: Alcántar G., J., D. Etchevers B. y A. Aguilar S. (eds). Los análisis físicos y químicos. Su aplicación en agronomía. 1ª. ed. Centro de Edafología. Colegio de Postgraduados. Montecillos, edo. de México pp. 108-125.
- Alexander M. 1980. Introducción a la microbiología del suelo. Juan José Peña Cabriales. 2a. edición. Libros y editoriales, S. A. México, D. F. 491 p.
- Amorós C., M. 2003. Producción de Agridos. 3a. edición. Ediciones Mundi-Prensa. España. 352 p.
- Atlas R. y R. Bartha. 2002. Ecología microbiana y microbiología ambiental. 2ª ed. Trad. Español. Addison Wesley, Madrid.
- Avilan L., Velarde C. y Meneses L. 1986. Distribución del sistema radical de los patrones de cítricos naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.), Cleopatro (C. reshni Hort, ex Tan) y volkameriana (C. volkameriana Pasq.). *Agronomía Tropical*. 36(4-6): 97-113
- Ben Dekhel., S., M. Cahil, E. Stackebrandt and L. I. Sly. 1997. Transfer of *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *largomobilis* to the genus *Azospirillum* as *Azospirillum largomobile* comb. nov., and elevation of *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *parooensis* to the new type species of *Conglomeromonas*, *Conglomeromonas parooensis* sp. nov. *Syst. Appl. Microbiol.* 20:72-77.
- Bernal E., J. A., M. L. Tamayo Á. y Hincapié M. 2001. Frutales de clima cálido. Corpoica. 10 p.
- Canbolat Y., M., K. Barik., R. Çakmakçi, and F. Sahin. 2006. Effects of mineral and biofertilizers on barley growth on compacted soil. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science*. 56: 324-332.
- Castillo R., F. y M. D. Roldán R. 2005. Biotecnología ambiental. Editorial Tebar. Madrid España. 614 p.
- Castells X., E. 2005. Tratamiento y valorización energética de residuos. Fundación Universitaria Iberoamericana. Ediciones Díaz de Santos. España. 1228 p.
- Chávez-Vela N., A., L. I. Chávez-Ortiz., y B. E. Pérez-Molphe 2003. Transformación genética del naranjo agrio usando *Agrobacterium rhizogenes*. *Agrociencia*. Volumen 37:629-639.
- Contreras G., J. 2007. El Viverismo en Veracruz. 1ª Semana Internacional de la Citricultura, Veracruz, México.
- Córdova B., Y. 2007. Potencial de Bacterias del suelo y la rizosfera de banano (*Musa AAA Simmonds*) cv. Gran enano para la formulación de biofertilizantes. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias. Programa de Producción Agroalimentaria en el Trópico. Colegio de Postgraduados Cárdenas Tabasco. 96 p.
- Córdova-Bautista., Y., M.C. Rivera-Cruz ., R. Ferrera-Cerrato., J.J. Obrador-Olán y Córdova-Ávalos V. 2009. Detección de bacterias benéficas en suelo con banano (*Musa AAA Simmonds*)

- cultivar 'Gran enano' y su potencial para integrar un biofertilizante. *Universidad y Ciencia Latinoamericana*. 25:253-265
- Curti-Díaz S. A., X. Loredano-Salazar, U. Díaz-Zorrilla, J. A. Sandoval R., y J. Hernández H. 2000. Tecnología para producir limón persa. INIFAP-CIRGOC. Campo experimental Ixtacuaco. Libro técnico Núm. 8. Veracruz, México, 144 p.
- Coyne, M. 2000. *Microbiología del Suelo: un enfoque exploratorio*. Editorial Paraninfo. España. 416 p.
- DOF (Diario Oficial de la Federación). 2002. NOM-021-RECNAT-2000. Establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación. Martes 31 de diciembre del 2002. 85 p.
- Díaz M., D. H. 2002. Fisiología de árboles frutales. Editor AGT, S.A. México D. F. 390 p.
- Díaz F., A. y A. S. Ortegón M. 2006. Efecto de inoculación con *Azospirillum brasilense* y fertilización química en el crecimiento y rendimiento de Canola (*Brassica napus*). *Revista Fitotecnia Mexicana*. 29:63-67.
- Diccionario enciclopédico. 1997. El pequeño Larousse ilustrado. Ed Larousse, S.A de C.V. México D.F. 1792 p.
- De la Osa G., F. J. y F. M. De la Osa B. 2005. Sistema de defensa contra el Virus de la Tristeza de los Cítricos (VTC). Consejo Estatal Citrícola. Veracruz, México. 37 p.
- Fassbender H. W. y E. Bornemisza. 1987. Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina. 2ª. ed. IICA. San José Costa Rica. 420 p.
- Fuentes C., R. 2007. *Agrosistemas sostenibles y ecológicos: La reconversión agropecuaria*. Editorial Univ. Santiago de Compostela. España. 250 p.
- Fuentes Y., J. L. 2002. *Manual práctico sobre utilización de suelo y fertilizantes*. Ediciones Mundi-Prensa. 159 p.
- Gaind S., R. Maheshwer S., K. Brahma D., N. Lata and V. OM P. 2007. Survival of bio-inoculants on fungicides-treated seeds of wheat, pea and chickpea and subsequent effect on chickpea yield. *Journal of Environmental Science and Health Part B*. 42:663-668.
- Gliessman R., S. 1978. Seminario Regional sobre agroecosistemas con énfasis en el estudio de tecnología agrícola tradicional. Colegio Superior de Agricultura Tropical. H. Cárdenas, Tabasco 216 p.
- Gliessman R., S. 2002. *Agroecología: procesos ecológicos en agricultura sostenible*. Turrialba. Costa Rica. CATIE. 359 p.
- Hart D., R. 1979. *Agroecosistemas. Conceptos básicos*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. 1ª. Edición en Español. Turrialba, Costa Rica. 211 p.
- Hernández X., E. y Q. R. Padilla. 1980. Seminario sobre producción agrícola en Yucatán. Gobierno del estado de Yucatán. S.P.P-S.A.R.H. Colegio de Postgraduados. Chapingo, Edo. de México. Mérida Yucatán. 481 p.
- Kennedy A., C. 2005, Rhizosphere, in: *Principles and Applications of Soil Microbiology*, D.M., Sylvia, J.J., Fuhrmann, P.G., Hartel, and D.A., Zuberer, eds., 2nd ed. Pearson, Prentice Hall, New Jersey, pp. 242-262.
- Katznelson, H. 1961. Recent Studies on the rhizosphere phenomenon. *Transactions of 7th International congress of soil science*. Vol. II: 537-544.
- Khammas K., M., E. Ageron, P., A. D. Grimont, and P. Kaiser. 1989. *Azospirillum irakense* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. *Res. Microbiol*. 140:679-693.

- Kloepper W., J. 1993. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria as Biological Control Agents. *In* Metting, Blaine F. Jr. Soil Microbial Ecology. Applications in Agricultural and Environmental Management. editado por Marcel Dekker. pp. 646.
- Kohler, J., Caravaca, F., Carrasco, L., Roldán, A., 2006. Contribution of *Pseudomonas mendocina* and *Glomus intraradices* to aggregates stabilisation and promotion of biological properties in rhizosphere soil of lettuce plants under field conditions. *Soil Use and Management* 22, 298–304.
- Lai W., Rekha P., D., and B. Arun A. 2008. Effect of mineral fertilizer, pig, manure, and *Azospirillum rugosum* on growth and nutrient contents of *Lactuca sativa* L. *Biol Fertil Soils*. Springer-Verlag. 45: 155-164.
- Loomis R., S. y D. Connor J. 2002. Ecología de cultivos: productividad y manejo en sistemas agrarios. Ediciones Mundi-Prensa. España. 591 p.
- Madigan M., T., J. M. Martinko y J. Parker. 2004. Brock. Biología de los microorganismos. 10ª ed. Pearson Educación, S. A. Madrid, Esp. 1011 p.
- Magalhães F., M., J. I. Baldani, S. M. Souto, J. R. Kuykendall, and J. Döbereiner. 1983. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. *An. Acad. Brasil. Cienc.* 55:417-430.
- Manoharachary, M. K., and K. G. Mukerji 2006. Rhizosphere Biology –an Overview. *In*: Mukerji K.G., C. Manoharachary, and J. Singh (eds). *Microbial Activity in the Rhizosphere*. Springer. Berlin, Germany. pp: 1-12.
- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2a. Ed. Academic Press. USA 889 p.
- Meunchang, S., P. Suparmad and R. W. Weaver. 2006. Tomato growth in soil amended with sugar mill by-products compost. *Plant and soil*. 280: 171-176.
- Meléndez, G. 2003. Residuos orgánicos y materia orgánica del suelo. En Meléndez G y Soto G. Taller de abonos orgánicas. Centro de Investigaciones agronómicas (CIA), UCR. Sabanilla. 3 de marzo. Centro de Investigaciones Agronómicas. Universidad de Costa Rica pp.1-25.
- Millar C., E., M. L. Turk, D. H. Foth. 1981. Fundamentos de la ciencia del suelo. J. Nava D. Quinta ed. Editorial CECSA. México D. F. 527 p.
- Mohsen K., H. E. and A. Magda M. 2004. Physiological response of Wheat of Foliar Application of Zinc and Inoculation with some Bacterial Fertilizers. *Journal of plant nutrition*. 27: 1859-1874.
- Mostajeran A., R. Amooaghaie and G. Emtiazi. 2007. The participation of the cell wall hydrolytic enzymes in the initial colonization of *Azospirillum brasilense* on wheat roots. *Plant Soil* 291:239-248.
- Narula N., B. S. Saharan, K. Vivek, B. Ranjana, L. K. Bishnoi, B. P. S., Lather and Lanksminarayana. 2005. Impact of the use of biofertilizers on cotton (*Gossypium hirsutum*) crop under irrigated agro-ecosystem. *Archives of Agronomy and Soil Science*. Taylor and Francis Group. 51(1): 69 – 77.
- Navarro B., S. y G. Navarro G. 2003. Química agrícola: el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal. 2a. edición. Mundi-Prensa Libros. España. 487 p.
- Nehl B., D. y Knox G. G. O. 2006. Significance of Bacteria in the rhizosphere. *In*: Mukerji K.G., C. Manoharachary, and J. Singh (eds). *Microbial Activity in the Rhizosphere*. Springer. Berlin, Germany. pp: 88-119.
- Nova B., A. 1972. Sistema de comunicación e interacción entre técnicos y agricultores: un estudio en el plan Puebla. Tesis de Maestro en Ciencias en Divulgación Agrícola. Colegio de Postgraduados. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo, México. 184 p.

- Okumoto, S. (2003). Uso de inoculante microbiano para la elaboración de abono orgánico. In: Meléndez, G., Soto, G. (Eds.). Taller de Abonos Orgánicos. CANIAN. GTZ. UCR. CATIE. Sabanilla, Costa Rica. 10 p.
- Ortiz V., B. y C. A. Ortiz S. 1998. Edafología. 6ª. edición. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Suelos. Chapingo, México. 372 p.
- Palacios, J. 1978. Citricultura moderna. Ed. Hemisferio Sur S. A. Argentina 409 p.
- Porta C., J., M. López-Acevedo y C. Roquero. 2003. Edafología para la Agricultura y el medio ambiente. 3ª Edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 960 p.
- Raina M., M., I. L. Pepper and C. P. Gerba. 2000. Environmental Microbiology. Academic Press. USA. 583 p.
- Rao, S. 1999. Soil Microbiology. Fourth edition of soil microorganisms and plant growth. Ed. Science Publishers, Inc. USA. 407 p.
- Rao, S. 1982. Biofertilizers in Agriculture. Ed. Indian serie 7. Oxford y IBH Publishing Co. New Delhi. 186 p.
- Rao, S. 1984. Current Developments in Biological Nitrogen Fixation. Gran Bretaña. 350 p.
- Reinhold B., T. Hurek, and I. Fendrik. 1985. Strain-specific chemotaxis of *Azospirillum* spp. J. Bacteriol. 162:190-195.
- Reyes I., A. Valery y Z. Valdúz. 2006. Phosphate-solubilizing microorganisms isolated from rhizospheric and bulk soils of colonizer plants at an abandoned rock phosphate mine. Plant and Soil. 287:69-75.
- Rindermann S., Rita y M. A. Gómez C. 2005. Limón Persa. Tendencias en el mercado mexicano. CIESTAAM/UACH y Banco Mundial, México, D.F. 2005, 158 pp.
- Rivera-Cruz. M del. C y A. Trujillo N. 1986. Diagnóstico de una comunidad chontal de Tabasco. Estudio de caso del Poblado Guaytalpa, municipio de Nacajuca. Tesis para obtener el grado de Ingeniero Agrónomo. Secretaria de Agricultura y recursos Hidráulicos. Colegio Superior de Agricultura Tropical. H. Cárdenas, Tabasco. 235 p.
- Rivera-Cruz M. del C., G. Córdova B., J. C. Silva L. y E. Hernández N. 2006^a. Biofertilizante: alternativa para La fertilización fosfatada del limón persa (*Citrus latifolia* L.). In: Memoria primera Reunión Nacional de Innovaciones Agrícola y Forestal. Mérida, Yuc. P.133.
- Rivera-Cruz M. del C., J. C. Silva L. y E. Hernández N. 2006^b. Biofertilizantes: Una alternativa para la fertilización orgánica del cultivo de limón persa (*Citrus aurantifolia* L.). Congreso Iberoamericano de Física y Química Ambiental. Tomo III. Badajoz, Esp. pp. 317-322
- Rivera-Cruz M. del C., A. Trujillo N. y G. Córdova B. 2007. Evaluación de biofertilizante en porta injertos de limón persa dragón volador *Poncirus trifoliata* L. y naranja criolla *Citrus aurantium* L. XVII Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo. León Gto., Méx. pp. 127-130.
- Rivera-Cruz M. del C. y A. Trujillo N. 2008. Uso de biofertilizantes en el crecimiento de limón dragón volador y naranja criolla. Agro Región. 2:10-12.
- Rivera-Cruz, M. C., A. Trujillo N., G. Córdova B., J. Kholer., F. Caravaca y A. Roldán. 2008. Poultry manure and banana waste are effective biofertilizer carriers for promoting plant growth and soil sustainability in banana crops. Soil Biology & Biochemistry. 40: 3092-3095.
- Rivera-Cruz, M. del C. 2008. Manual para la elaboración de biofertilizantes. Colegio de Postgraduados. Campus Tabasco. H. Cárdenas, Tab. 44 p.
- Rivera-Cruz, M. C., Trujillo N., G. y D. Alejo P. 2010. Los biofertilizantes integrados con bacterias fijadoras de N, solubilizadoras de P y sustratos orgánicos en el crecimiento de naranjo agrio *Citrus aurantium* L. Interciencia 354:02. 113-119.

- Rivon H., P. 2008. Efecto de los biofertilizantes en el crecimiento de la planta de limón mexicano (*Citrus aurantifolia* (Christim Swingle). Estudio en Invernadero. Tesis para obtener el título de Ingeniería en Agronomía.
- Robles-García P., L., H. M. Sánchez A. y E. Loeza K. 2008. Programa Nacional de Certificación de Material Propagativo de Cítricos en México. Sagarpa/Senasica. México D. F. 6 p.
- Rodríguez C., E. 1982. Improve Médium for Isolation of *Azospirillum* spp. Environ. Microbiol. 44:990-991.
- Rodríguez C., M. P. Ruiz B., C. F. Ortiz G., S. A., Curti-Díaz y J. L. Ku O. 2006. Producción de naranja valencia tardía en patrones tolerantes al VTC, en Tabasco. XIX Reunión Científica-Tecnológica Forestal y Agropecuaria Tabasco 2006. Villahermosa Tabasco, México. 398-402 p.
- Roldán, A., J. R. Salinas-García., M. Alguacil M., Díaz, E., and Caravaca F. 2005. Soil enzyme activities suggest advantages of conservation tillage practices in sorghum cultivation unnder subtropical conditions. Geoderma 129: 178-185.
- Salgado G., S., D. J. Palma-López., R. Núñez E., L. C. Lagunes E., H. Debernardi de la V. y R. H. Mendoza H. 2006. Manejo de fertilizantes y abonos orgánicos. Campus Tabasco, CP-ISPROTAB. Villahermosa, Tabasco, México. 210 p.
- Salisbury B., F. y Ross C. W. (2000). Fisiología de las plantas 1. Célula: agua, soluciones y superficies. Thomson Learning. Australia. Cánada. México. Singapur. España. Reino Unido. Estados Unidos 305 p.
- Sánchez A., P. 1981. Suelos del trópico, características y manejo. Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura. San José Costa Rica. 660 p.
- SAS (Statistical Analysis System). 2002. The SAS system for Windows version 9. SAS Institute, Inc. Cary, NC.
- SIAP-SAGARPA, 2006. Sistema de Informació n Agroalimentaria de Consulta 1980–2006 (SIACON). Mé xico DF Available from: <<http://www.siapsagarpa.gob.mx>>.
- Silva L., J. C. 2007. Potencial de bacterias en el suelo y rizosfera del limón persa (*Citrus latifolia* L.) para la formulación de biofertilizantes. Tesis de Maestría en ciencias. Colegio de Postgraduados. Cárdenas Tabasco, México. 96 p.
- SIAP-SAGARPA (2006) Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta 1980-2006 (SIACON), México DF. [www. siap.sagarpa.gob.mx](http://www.siap.sagarpa.gob.mx)
- Sly L., I., and E. Stackebrandt. 1999. Description of *Skermanella parooensis* gen. nov., sp. nov. to accommodate *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *parooensis* following the transfer of *Conglomeromonas largomobilis* subsp. *largomobilis* to the genus *Azospirillum*. Int. J. Syst. Bacteriol. 49:541-544.
- Soil Survey Staff. 2006. Keys to Soil Taxonomy. Tenth Edition. USDA-ID. USA. 341 p.
- Soto M., G. 2003. Abonos orgánicos: el proceso de compostaje. In: Meléndez G. y Soto G. Taller de abonos orgánicas. Centro de Investigaciones agronómicas (CIA), UCR. Sabanilla. 3 de marzo. Centro de Investigaciones Agronómicas. Universidad de Costa Rica pp. 30-57
- Spedding C., R. W. 1979. Ecología de los sistemas agrícolas. H. Blume Ediciones. Trad. por Juan Manuel Ibeas D. Madrid España. 319p.
- Stephens, J. H. G. y Rask, H. M., 2000. Inoculant production and formulation. Field Crops Research 65, 249–258.
- Sociedad Fitopatología Americana 2002. Plagas y enfermedades de los cítricos. 2ª ed. Ed. Mundi-Prensa. España. 95 p.

- Terry A., E., A. Leyva y H. Hernández. 2005. Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill.). Revista Colombiana de Biotecnología. Vol. VII. pp. 47-54.
- Tisdale L., S. y W. Nelson L. 1982. Fertilidad de los suelos y fertilizantes. Jorge Balasch. Editorial Uteha. México D. F. 760 p.
- Trocme S. and R. Gras. 1979. Suelo y Fertilización en Fruticultura. 2a. ed. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 377 p.
- Tyler M., G. Jr. 2007. Ciencia Ambiental/ Environmental Science: Desarrollo sostenible, un enfoque integral. 8a. ed. Cengage Learning Editores. México D. F. 388 p.
- Uribe L., L. 2003. Inocuidad de Abonos Orgánicos. In: Taller de abonos orgánicos. Meléndez G y Soto G. (eds). Centro de Investigaciones Agronómicas de la Universidad de Costa Rica y la Cámara de Insumos Agropecuarios no Sintéticos. Costa Rica.
- Vanegas, M. de J. 2002. Guía técnica del cultivo del limón persa. IICA. El Salvador. 45 p.
- Vessey, K. J. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and soil 255. *Kluwer Academic Publishers*. 571–586 p.
- Villalobos F., J., L. Mateos., F. Orgaz., y E. Fereres. 2002. Fitotecnia Bases y Tecnologías de la Producción Agrícola. Ediciones Mundi-Prensa. España. 496 p.
- Wei-An, L., P. D. Rekha, A. B. Arun y Y. Chiu-chung. 2007. Effect of mineral fertilizer, pig, manure, and *Azospirillum* on growth and nutrient contents of *Lactuca sativa* L. *Biol Fertil Soils*. 45:155-164.
- Wu S., C., H. Cao Z., G. Li Z., C. Cheung K., and H. Wong M. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma*. 125:155-166.

IX. APÉNDICE

Análisis de varianza de las variables de naranjo agrio por tratamientos.

Cuadro 1. Análisis de varianza del potencial hidrógeno del suelo con naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	3.04933667	0.33881519	21.16	<.0001
Error	20	0.32020000	0.01601000		
Total	29	3.36953667			
R cuadrada	0.904972				
CV	2.408120				

Cuadro 2. Análisis de varianza de la materia orgánica del suelo con naranjo sin injerto de limón persa agrio 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	3.58700000	0.39855556	16.38	<.0001
Error	20	0.48666667	0.02433333		
Total	29	4.07366667			
R cuadrada	0.880534				
CV	2.716044				

Cuadro 3. Análisis de varianza del carbono orgánico del suelo con naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	1.15217547	0.12801950	20.86	<.0001
Error	20	0.12276400	0.00613820		
Total	29	1.27493947			
R cuadrada	0.903710				
CV	2.357803				

Cuadro 4. Análisis de varianza del nitrógeno total de suelo con naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	0.02700000	0.00300000	Infin	<.0001
Error	20	0	0		
Total	29	0.02700000			
R cuadrada	1				
CV	0				

Cuadro 5. Análisis de varianza de la relación carbono nitrógeno del suelo con naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	36.96666667	4.10740741	20.54	<.0001
Error	20	4.00000000	0.20000000		
Total	29	40.96666667			
R cuadrada	0.902360				
CV	2.800920				

Cuadro 6. Análisis de varianza del fósforo disponible de suelo con naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	4285.498667	476.166519	1930.40	<.0001
Error	20	4.933333	0.246667		
Total	29	4290.432000			
R cuadrada	0.998850				
CV	2.622257				

Cuadro 7. Análisis de varianza de poblaciones de UFC de bacterias *Azospirillum* en rizósfera de naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	332049037.2	36894337.5	231.67	<.0001
Error	20	3185036.7	159251.8		
Total	29	335234073.9			
R cuadrada	0.990499				
CV	17.80157				

Cuadro 8. Análisis de varianza de poblaciones de UFC de bacterias *Azotobacter* en rizósfera de naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	4659844127	517760459	33.71	<.0001
Error	20	307151379	15357569		
Total	29	4966995507			
R cuadrada	0.938162				
CV	35.90290				

Cuadro 9. Análisis de varianza de poblaciones de UFC de bacterias solubilizadoras de fósforo en rizósfera de naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	83348403347	9260933705	114.26	<.0001
Error	20	1620976953	81048848		
Total	29	84969380301			
R cuadrada	0.980923				
CV	20.68765				

Cuadro 10. Análisis de varianza de poblaciones de UFC de bacterias *Azospirillum* en suelo no rizosférico de naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	2445269330	271696592	233.28	<.0001
Error	20	23294032	1164702		
Total	29	2468563362			
R cuadrada	0.990564				
CV	22.63926				

Cuadro 11. Análisis de varianza de poblaciones de UFC de bacterias *Azotobacter* en suelo no rizosférico de naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	4022895662	446988407	102.53	<.0001
Error	20	87189775	4359489		
Total	29	4110085437			
R cuadrada	0.978786				
CV	19.84739				

Cuadro 12. Análisis de varianza de poblaciones de UFC de bacterias solubilizadoras de fósforo en suelo no rizosférico de naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	22411136133	2490126237	42.68	<.0001
Error	20	1166846613	58342331		
Total	29	23577982747			
R cuadrada	0.959511				
CV	14.99404				

Cuadro 13. Análisis de varianza de la altura de naranjo agrio sin injerto de limón persa cada 30 días hasta 180 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Día 30					
Modelo	9	15.32533333	1.70281481	1.37	0.2665
Error	20	24.90666667	1.24533333		
Total	29	40.23200000			
R cuadrada	0.380924				
CV	20.81987				
Día 60					
Modelo	9	66.65466667	7.40607407	4.72	0.0019
Error	20	31.40000000	1.57000000		
Total	29	98.05466667			
R cuadrada	0.679770				
CV	19.84683				
Día 90					
Modelo	9	209.6666667	23.2962963	5.39	0.0008
Error	20	86.5000000	4.3250000		
Total	29	296.1666667			
R cuadrada	0.707935				
CV	27.12604				
Día 120					
Modelo	9	802.6333333	89.1814815	9.04	<.0001
Error	20	197.3333333	9.86666667		
Total	29	999.9666667			
R cuadrada	0.802660				
CV	30.99794				
Día 150					
Modelo	9	1653.866667	183.762963	13.55	<.0001
Error	20	271.333333	13.566667		
Total	29	1925.200000			
R cuadrada	0.859062				
CV	29.23250				
Día 180					
Modelo	9	3123.200000	347.022222	24.55	<.0001
Error	20	282.666667	14.133333		
Total	29	3405.866667			
R cuadrada	0.917006				
CV	23.39896				

Cuadro 14. Análisis de varianza de la altura de naranjo agrio sin injerto de limón persa cada 210 días hasta 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Día 210					
Modelo	9	4073.754667	452.639407	15.27	<.0001
Error	20	593.000000	29.650000		
Total	29	4666.754667			
R cuadrada	0.872931				
CV	23.02727				
Día 240					
Modelo	9	4112.841333	456.982370	29.02	<.0001
Error	20	314.933333	15.746667		
Total	29	4427.774667			
R cuadrada	0.928873				
CV	13.25091				
Día 270					
Modelo	9	5413.167000	601.463000	26.95	<.0001
Error	20	446.326667	22.316333		
Total	29	5859.493667			
R cuadrada	0.923828				
CV	13.82234				
Día 300					
Modelo	9	6357.043000	706.338111	19.28	<.0001
Error	20	732.560000	36.62800		
Total	29	7089.603000			
R cuadrada	0.896671				
CV	15.57012				
Día 330					
Modelo	9	7249.923000	805.547000	17.78	<.0001
Error	20	906.206667	45.310333		
Total	29	8156.129667			
R cuadrada	0.888893				
CV	15.75063				
Día 360					
Modelo	9	9389.64300	1043.29367	24.69	<.0001
Error	20	845.06667	42.25333		
Total	29	10234.70967			
R cuadrada	0.917431				
CV	13.88845				

Cuadro 15. Análisis de varianza del diámetro de naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	180.8146667	20.0905185	184.88	<.0001
Error	20	2.1733333	0.1086667		
Total	29	182.9880000			
R cuadrada	0.988123				
CV	5.664025				

Cuadro 16. Análisis de varianza de la biomasa seca radical de naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	932.9466667	103.6607407	423.11	<.0001
Error	20	4.9000000	0.2450000		
Total	29	937.8466667			
R cuadrada	0.994775				
CV	4.933303				

Cuadro 17. Análisis de varianza de la biomasa seca aérea de naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	2171.888000	241.320889	404.67	<.0001
Error	20	11.926667	0.596333		
Total	29	2183.814667			
R cuadrada	0.994539				
CV	5.697685				

Cuadro 18. Análisis de varianza de la biomasa seca total de naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	5299.348000	588.816444	413.98	<.0001
Error	20	28.446667	1.422333		
Total	29	5327.794667			
R cuadrada	0.994661				
CV	5.056315				

Cuadro 19. Análisis de varianza de la acumulación foliar de nitrógeno total de naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	3464880.800	384986.756	34.46	<.0001
Error	20	223454.667	11172.733		
Total	29	3688335.467			
R cuadrada	0.939416				
CV	22.24663				

Cuadro 20. Análisis de varianza del contenido foliar de nitrógeno total de naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	9.46033333	1.05114815	82.99	<.0001
Error	20	0.25333333	0.01266667		
Total	29	9.71366667			
R cuadrada	0.973920				
CV	6.455810				

Cuadro 21. Análisis de varianza de la acumulación de P disponible de naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	8473095.115	941455.013	381.53	<.0001
Error	20	49351.493	2467.575		
Total	29	8522446.608			
R cuadrada	0.994209				
CV	7.952022				

Cuadro 22. Análisis de varianza del contenido de P disponible de naranjo agrio sin injerto de limón persa 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	0.18300000	0.02033333	Infin	<.0001
Error	20	0.00000000	0		
Total	29	0.18300000			
R cuadrada	1				
CV	0				

Análisis de varianza de las variables de naranjo agrio con injerto de limón persa por tratamientos.

Cuadro 23. Análisis de varianza del potencial hidrógeno de naranjo agrio con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	3.10760000	0.38845000	10.17	<.0001
Error	18	0.68766667	0.03820370		
Total	26	3.79526667			
R cuadrada	0.818809				
CV	3.661780				

Cuadro 24. Análisis de varianza del porcentaje de materia orgánica de naranjo agrio con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	1.422899785	0.17862473	5.66	0.0011
Error	18	0.56780533	0.03154474		
Total	26	1.99680319			
R cuadrada	0.715643				
CV	3.280696				

Cuadro 25. Análisis de varianza del carbono orgánico de naranjo agrio con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	0.48161274	0.06020159	5.67	0.0011
Error	18	0.19124133	0.01062452		
Total	26	0.67285407			
R cuadrada	0.715776				
CV	3.282459				

Cuadro 26. Análisis de varianza del contenido de nitrógeno total del suelo con naranjo agrio injertado con limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	0.17296667	0.02162083	36.09	<.0001
Error	18	0.01078333	0.00059907		
Total	26	0.18375000			
R cuadrada	0.941315				
CV	11.56346				

Cuadro 27. Análisis de varianza de la relación C/N de naranjo agrio con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	324.7362963	40.5920370	7.27	0.0002
Error	18	100.4400000	5.5800000		
Total	26	425.1762963			
R cuadrada	0.763769				
CV	14.64511				

Cuadro 28. Análisis de varianza del fósforo disponible del suelo con naranjo agrio injertado con limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	1380.421267	172.552658	40.42	<.0001
Error	18	76.832533	4.268474		
Total	26	1457.253800			
R cuadrada	0.947276				
CV	11.39145				

Cuadro 29. Análisis de varianza de las UFC de bacterias *Azospirillum* en la rizósfera de naranjo agrio con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	21776736557	2722092070	77.97	<.0001
Error	18	628423052	34912392		
Total	26	22405159609			
R cuadrada	0.971952				
CV	14.17200				

Cuadro 30. Análisis de varianza de las UFC de bacterias *Azotobacter* en la rizósfera de naranjo agrio con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	992583550340	124072943793	7.61	0.0002
Error	18	293381492487	16298971805		
Total	26	1.285965E12			
R cuadrada	0.771859				
CV	17.81217				

Cuadro 31. Análisis de varianza de las UFC de bacterias solubilizadoras de fósforo en la rizósfera de naranjo agrio con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	13259857576	1657482197	1922.78	<.0001
Error	18	15516445	862025		
Total	26	13275374022			
R cuadrada	0.998831				
CV	5.473305				

Cuadro 32. Análisis de varianza de las UFC de *Azospirillum* en el suelo no rizosférico de naranjo agrio injertado con limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	25966411078	3245801385	359.36	<.0001
Error	18	162580595	9032255		
Total	26	26128991673			
R cuadrada	0.993778				
CV	12.43468				

Cuadro 33. Análisis de varianza de las UFC de *Azotobacter* en suelo no rizosférico de naranjo agrio con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	1303372420	162921553	21.91	<.0001
Error	18	133850291	7436127		
Total	26	1437222711			
R cuadrada	0.906869				
CV	26.79724				

Cuadro 34. Análisis de varianza de UFC de bacterias solubilizadoras de fósforo en suelo no rizosférico de naranjo agrio con injerto con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	4713285159	589160645	19.17	<.0001
Error	18	553164798	30731378		
Total	26	5266449957			
R cuadrada	0.894964				
CV	31.68858				

Cuadro 35. Análisis de varianza de la altura de naranjo agrio con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Día 30					
Modelo	8	1439.185185	179.898148	110.39	<.0001
Error	18	29.333333	1.629630		
Total	26	1468.518519			
R cuadrada	0.980025				
CV	6.199168				
Día 60					
Modelo	8	1794.000000	224.250000	16.02	<.0001
Error	18	252.000000	14.000000		
Total	26	2046.000000			
R cuadrada	0.876833				
CV	14.03122				
Día 90					
Modelo	8	4436.074074	554.509259	28.14	<.0001
Error	18	354.666667	19.703704		
Total	26	4790.740741			
R cuadrada	0.925968				
CV	9.970874				

Cuadro 36. Análisis de varianza de la biomasa seca radical de naranjo agrio con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	1941.166667	242.645833	51.69	<.0001
Error	18	84.500000	4.694444		
Total	26	2025.666667			
R cuadrada	0.958285				
CV	10.20942				

Cuadro 37. Análisis de varianza de la biomasa seca aérea de naranjo agrio con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	2201.506667	275.188333	180.91	<.0001
Error	18	27.380000	1.521111		
Total	26	2228.886667			
R cuadrada	0.987716				
CV	7.419786				

Cuadro 38. Análisis de varianza de la biomasa seca total de naranjo agrio con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	7594.806667	949.350833	82.12	<.0001
Error	18	208.080000	11.560000		
Total	26	7802.886667			
R cuadrada	0.973333				
CV	8.984146				

Cuadro 39. Análisis de varianza de la acumulación de nitrógeno total de naranjo agrio con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	817736.667	102217.083	1.95	0.1148
Error	18	945666.000	5237.000		
Total	26	1763402.667			
R cuadrada	0.463727				
CV	89.49612				

Cuadro 40. Análisis de varianza del contenido de nitrógeno total foliar de naranjo agrio con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	2.29685141	0.28710643	7.14	0.0003
Error	18	0.72354933	0.04019719		
Total	26	3.02040074			
R cuadrada	0.760446				
CV	11.91621				

Cuadro 41. Análisis de varianza de la acumulación de fósforo foliar en naranjo agrio con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	1711152.296	213894.037	4.77	0.0028
Error	18	807003.333	448333.519		
Total	26	2518155.630			
R cuadrada	0.679526				
CV	54.3340				

Cuadro 42. Análisis de varianza del contenido foliar de fósforo de naranjo agrio con injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	0.14034074	0.01754259	13.05	<.0001
Error	18	0.02420000	0.00134444		
Total	26	0.16454074			
R cuadrada	0.852924				
CV	21.75824				

Análisis de varianza por tipo de biofertilizante y dosis de naranjo agrio sin injerto de limón persa.

Cuadro 43. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante en el potencial hidrógeno de suelo con naranjo agrio a los 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	3.04933667	0.33881519	21.16	<.0001
Error	20	0.32020000	0.01601000		
Total	29	3.36953667			
R cuadrada	0.904972				
CV	2.408120				

Cuadro 44. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante del contenido de materia orgánica del suelo con naranjo agrio a los 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	3.58700000	0.39855556	16.38	<.0001
Error	20	0.48666667	0.02433333		
Total	29	4.07366667			
R cuadrada	0.880534				
CV	2.716044				

Cuadro 45. Análisis de varianza por biofertilizante en el porcentaje de carbono orgánico de suelo con naranjo agrio a los 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	1.15217547	0.12801950	20.86	<.0001
Error	20	0.12276400	0.00613820		
Total	29	1.27493947			
R cuadrada	0.903710				
CV	2.357803				

Cuadro 46. Análisis de varianza por biofertilizante en el contenido de nitrógeno total de suelo con naranjo agrio a los 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	0.02700000	0.00300000	Infin	<.0001
Error	20	0.00000000	0.00000000		
Total	29	0.02700000			
R cuadrada	1.000000				
CV	0				

Cuadro 47. Análisis de varianza por biofertilizante de la relación carbono nitrógeno del suelo con naranjo agrio a los 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	36.96666667	4.1074071	20.54	<.0001
Error	20	4.00000000	0.20000000		
Total	29	40.96666667			
R cuadrada	0.902360				
CV	2.800920				

Cuadro 48. Análisis de varianza por biofertilizante en la concentración de P disponible en suelo con naranjo agrio a 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	4285.498667	476.166519	1930.40	<.0001
Error	20	4.933333	0.246667		
Total	29	4290.432000			
R cuadrada	0.998850				
CV	2.622257				

Cuadro 49. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante de la densidad de bacterias *Azospirillum* en rizósfera de naranjo agrio 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	332049037.2	36894337.5	231.67	<.0001
Error	20	3185036.7	159251.8		
Total	29	335234073.9			
R cuadrada	0.990499				
CV	17.80157				

Cuadro 50. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante de la densidad de bacterias *Azotobacter* en rizósfera de naranjo agrio 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	4659844127	517760459	33.71	<.0001
Error	20	307151379	15357569		
Total	29	4966995507			
R cuadrada	0.938162				
CV	35.90290				

Cuadro 51. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante de la densidad de bacterias solubilizadoras de fósforo en rizósfera de naranjo agrio 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	83348403347	9260933705	114.26	<.0001
Error	20	162097653	81048848		
Total	29	84969380301			
R cuadrada	0.980923				
CV	20.68765				

Cuadro 52. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante de la densidad de bacterias *Azospirillum* en suelo de naranjo agrio 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	2445269330	271696592	233.28	<.0001
Error	20	23294032	1164702		
Total	29	2468563362			
R cuadrada	0.990564				
CV	22.63926				

Cuadro 53. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante de la densidad de bacterias *Azotobacter* en suelo de naranjo agrio 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	4022895662	446988407	102.53	<.0001
Error	20	87189775	4359489		
Total	29	4110085437			
R cuadrada	0.978786				
CV	19.84739				

Cuadro 54. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante de la densidad de bacterias solubilizadoras de fósforo en suelo de naranjo agrio 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	22411136133	2490126237	42.68	<.0001
Error	20	1166846613	58342331		
Total	29	23577982747			
R cuadrada	0.950511				
CV	14.99404				

Cuadro 55. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante en el crecimiento de naranjo agrio a partir de 30 hasta 180 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Día 30					
Modelo	9	15.32533333	1.70281481	1.37	0.2665
Error	20	24.90666667	1.24533333		
Total	29	40.23200000			
R cuadrada	0.380924				
CV	20.81987				
Día 60					
Modelo	9	66.65466667	7.40607407	4.72	0.0019
Error	20	31.40000000	1.57000000		
Total	29	98.05466667			
R cuadrada	0.679770				
CV	19.84683				
Día 90					
Modelo	9	209.6666667	23.2962963	5.39	0.0008
Error	20	86.5000000	4.3250000		
Total	29	296.1666667			
R cuadrada	0.707935				
CV	27.12604				
Día 120					
Modelo	9	802.6333333	89.1814815	9.04	<.0001
Error	20	197.3333333	9.8666667		
Total	29	999.9666667			
R cuadrada	0.802660				
CV	30.99794				
Día 150					
Modelo	9	1653.866667	183.762963	13.55	<.0001
Error	20	271.333333	13.566667		
Total	29	1925.200000			
R cuadrada	0.859062				
CV	29.23250				
Día 180					
Modelo	9	3123.200000	347.022222	24.55	<.0001
Error	20	282.666667	14.133333		
Total	29	3405.866667			
R cuadrada	0.917006				
CV	23.39896				

Cuadro 56. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante en el crecimiento de naranjo agrio a partir de 210 hasta 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Día 210					
Modelo	9	4073.754667	452.639407	15.27	<.0001
Error	20	593.000000	29.650000		
Total	29	4666.754667			
R cuadrada	0.872931				
CV	23.02727				
Día 240					
Modelo	9	4112.841333	456.982370	29.09	<.0001
Error	20	314.933333	15.746667		
Total	29	4427.774667			
R cuadrada	0.928873				
CV	13.25091				
Día 270					
Modelo	9	5413.167000	601.463000	26.95	<.0001
Error	20	446.326667	22.316333		
Total	29	5859.493667			
R cuadrada	0.923828				
CV	13.82234				
Día 300					
Modelo	9	6357.043000	706.338111	19.28	<.0001
Error	20	732.560000	36.628000		
Total	29	7089.603000			
R cuadrada	0.896671				
CV	15.57012				
Día 330					
Modelo	9	7249.923000	805.547000	17.78	<.0001
Error	20	906.206667	45.310333		
Total	29	8156.129667			
R cuadrada	0.888893				
CV	15.75063				
Día 360					
Modelo	9	9389.64300	1043.29367	24.69	<.0001
Error	20	845.06667	42.25333		
Total	29	10234.70967			
R cuadrada	0.917431				
CV	13.88845				

Cuadro 57. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante del diámetro de naranjo agrio 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	180.8146667	20.0905185	184.88	<.0001
Error	20	2.1733333	0.1086667		
Total	29	182.9880000			
R cuadrada	0.988123				
CV	5.664025				

Cuadro 58. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante en la biomasa radical, aérea y total de naranjo agrio 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
B. radical					
Modelo	9	932.9466667	103.6607407	423.11	<.0001
Error	20	4.9000000	0.2450000		
Total	29	937.8466667			
R cuadrada	0.994775				
CV	4.933303				
B. aérea					
Modelo	9				
Error	20	2171.888000	241.320889	404.67	<.0001
Total	29	11.926667	0.596333		
R cuadrada	0.994539	2183.814667			
CV	5.697685				
B. total					
Modelo	9				
Error	20	5299.348000	588.816444	413.98	<.0001
Total	29	28.446667	1.422333		
R cuadrada	0.994661	5327.794667			
CV	5.056315				

Cuadro 59. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante de la acumulación de nitrógeno total foliar de naranjo agrio 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	3464880.800	384986.756	34.46	<.0001
Error	20	223454.667	11172.733		
Total	29	3688335.467			
R cuadrada	0.939416				
CV	22.24663				

Cuadro 60. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante en el contenido foliar de nitrógeno total de naranjo agrio 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	9.46033333	1.05114815	82.99	<.0001
Error	20	0.25333333	0.01266667		
Total	29	9.71366667			
R cuadrada	0.973920				
CV	6.455810				

Cuadro 61. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante de la acumulación de fósforo foliar de naranjo agrio 360 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	8544807.200	949423.022	384.81	<.0001
Error	20	49344.667	2467.233		
Total	29	8594151.867			
R cuadrada	0.994209				
CV	7.952022				

Cuadro 62. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante del contenido de fósforo foliar de naranjo agrio 360 días después del trasplante.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	9	0.13200000	0.01466667	Infin	<.0001
Error	20	0.00000000	0.00000000		
Total	29	0.13200000			
R cuadrada	1.000000				
CV	0				

Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante en naranjo agrio con limón persa.

Cuadro 63. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante del potencial hidrógeno 90 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	3.10760000	0.38845000	10.17	<.0001
Error	18	0.68766667	0.03820370		
Total	26	3.79526667			
R cuadrada	0.818809				
CV	3.661780				

Cuadro 64. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante del contenido de materia orgánica en limón persa 90 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	1.42899785	0.17862473	5.66	0.0011
Error	18	0.56780533	0.03154474		
Total	26	1.99680319			
R cuadrada	0.715643				
CV	3.280696				

Cuadro 65. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante del contenido de carbono orgánica en limón persa 90 días después del injerto

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	0.48161274	0.06020159	5.67	0.0011
Error	18	0.19124133	0.01062452		
Total	26	0.67285407			
R cuadrada	0.715776				
CV	3.282459				

Cuadro 66. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante del contenido de nitrógeno total en suelo de limón persa 90 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	0.17296667	0.02162083	36.09	<.0001
Error	18	0.01078333	0.00059907		
Total	26	0.18375000			
R cuadrada	0.941315				
CV	11.56346				

Cuadro 67. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante de la relación carbono nitrógeno en suelo de limón persa 90 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	326.6666667	40.83333333	7.66	0.0002
Error	18	96.0000000	5.33333333		
Total	26	422.6666667			
R cuadrada	0.772871				
CV	14.63705				

Cuadro 68. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante de fósforo en suelo de limón persa 90 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	1380.421267	172.552658	40.42	<.0001
Error	18	76.832533	4.268474		
Total	26	1457.253800			
R cuadrada	0.947276				
CV	11.39145				

Cuadro 69. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizantes de la densidad de bacterias *Azospirillum* en la rizósfera del injerto limón persa 90 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	21776736557	2722092070	77.97	<.0001
Error	18	628423052	34912392		
Total	26	22405159609			
R cuadrada	0.971952				
CV	14.17200				

Cuadro 70. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizantes de la densidad de bacterias *Azotobacter* en la rizósfera del injerto limón persa 90 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	992583550340	124072943793	7.61	0.0002
Error	18	293381492487	16298971805		
Total	26	1.285965E12			
R cuadrada	0.771859				
CV	17.81217				

Cuadro 71. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizantes de la densidad de bacterias solubilizadoras de fósforo en la rizósfera del injerto limón persa 90 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	13259857576	1657482197	1922.78	<.0001
Error	18	15516445	862025		
Total	26	13275374022			
R cuadrada	0.998831				
CV	5.473305				

Cuadro 72. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizantes de la densidad de bacterias *Azospirillum* en suelo de injerto limón persa 90 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	25966411078	3245801385	359.36	<.0001
Error	18	162580595	9032255		
Total	26	26128991673			
R cuadrada	0.993778				
CV	12.43468				

Cuadro 73. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizantes de la densidad de bacterias *Azotobacter* en suelo de injerto limón persa 90 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	1303372420	162921553	21.91	<.0001
Error	18	133850291	7436127		
Total	26	1437222711			
R cuadrada	0.906869				
CV	26.79724				

Cuadro 74. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizantes de la densidad de bacterias solubilizadoras de fósforo en suelo de injerto limón persa 90 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	4713285159	589160645	19.17	<.0001
Error	18	553164798	30731378		
Total	26	5266449957			
R cuadrada	0.894964				
CV	31.68858				

Cuadro 75. Análisis de varianza del crecimiento de limón persa a partir de 30 a 90 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Día 30					<.0001
Modelo	8	1439.185185	179.898148	110.39	
Error	18	29.333333	1.629630		
Total	26	1468.518519			
R cuadrada	0.980025				
CV	6.199168				
Día 60					
Modelo	8	1794.000000	224.250000	16.02	<.0001
Error	18	252.000000	14.000000		
Total	26	2046.000000			
R cuadrada	0.876833				
CV	14.03122				
Día 90					
Modelo	8	4436.074074	554.509259	28.14	<.0001
Error	18	354.666667	19.703704		
Total	26	4790.740741			
R cuadrada	0.925968				
CV	9.970874				

Cuadro 76. Análisis de varianza por tipo y dosis de biofertilizante de la Biomasa radical, aérea y total de limón persa 90 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
B. radical					
Modelo	8	1941.166667	242.645833	51.69	<.0001
Error	18	84.500000	4.694444		
Total	26	2025.666667			
R cuadrada	0.958285				
CV	10.20942				
B. aérea					
Modelo	8	2201.506667	275.188333	180.91	<.0001
Error	18	27.380000	1.521111		
Total	26	2228.886667			
R cuadrada	0.987716				
CV	7.419786				
B. total					
Modelo	8	7594.806667	949.350833	82.12	<.0001
Error	18	208.080000	11.560000		
Total	26	7802.886667			
R cuadrada	0.973333				
CV	8.984146				

Cuadro 77. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante de la acumulación de nitrógeno foliar de limón persa 90 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	817736.667	102217.083	1.95	0.1148
Error	18	945666.000	52537.000		
Total	26	1763402.667			
R cuadrada	0.463727				
CV	89.49612				

Cuadro 78. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante del contenido de nitrógeno total de limón persa 90 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	2.29685141	0.28710643	7.14	0.0003
Error	18	0.72354933	0.04019719		
Total	26	3.02040074			
R cuadrada	0.760446				
CV	11.91621				

Cuadro 79. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante de la acumulación de fósforo foliar de limón persa 90 días después del injerto.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	1711152.296	213894.037	4.77	0.0028
Error	18	807003.333	44833.519		
Total	26	2518155.630			
R cuadrada	0.679526				
CV	54.33340				

Cuadro 80. Análisis de varianza por tipo de dosis y biofertilizante del contenido de fósforo foliar 90 días después del injerto de limón persa.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	Pr> F
Modelo	8	0.14034074	0.01754259	13.05	<.0001
Error	18	0.02420000	0.00134444		
Total	26	0.16454074			
R cuadrada	0.852924				
CV	21.75824				