



El Colegio de la Frontera Sur

Efecto de la biofertilización en el crecimiento y nutrición de  
plántulas de papaya (*Carica papaya* L. cv. *Maradol*)

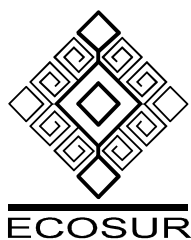
TESIS

presentada como requisito parcial para optar al grado de  
Doctora en Ciencias en Ecología y Desarrollo Sustentable

por

Maricela Constantino Antonio

2010



## El Colegio de la Frontera Sur

Villahermosa, Tabasco, 29 de septiembre de 2010.

Los abajo firmantes, miembros del jurado examinador de la estudiante Maricela Constantino Antonio, hacemos constar que hemos revisado y aprobado la tesis titulada “Efecto de la biofertilización en el crecimiento y nutrición de plántulas de papaya (*Carica papaya L. cv. Maradol*)” para obtener el grado de Doctora en Ciencias en Ecología y Desarrollo Sustentable.

	Nombre	Firma
Tutor	Dr. Regino Gómez Álvarez	_____
Asesor	Dr. Juan Manuel Pat Fernández	_____
Asesor	Dr. José David Álvarez Solís	_____
Asesor	Dra. Elda Guadalupe Espín Ocampo	_____
Sinodal adicional	Dr. Everardo Barba Macías	_____
Sinodal suplente	Dra. Elena Guzmán Ramón	_____

## **DEDICATORIAS**

A DIOS por ser la luz y fortaleza de mi vida y darme la oportunidad de aprender más.

A mi hija Yarumi por su amor, alegría y compañía y entenderme todos aquellos momentos que no pude estar con ella.  
A Luis por todo su apoyo y comprensión.

A mi mamá, hermanos y sobrinos que son parte importante de mi vida y a pesar de la distancia los llevo en mi corazón.

## **Agradecimientos**

- A mi tutor el Dr. Regino Gómez Álvarez por darme de nuevo la oportunidad de trabajar con él, por sus enseñanzas, apoyo y consejos, y por su amistad durante todo éste tiempo.
- A mis asesores de ECOSUR, el Dr. David Álvarez Solís y el Dr. Juan Manuel Pat Fernández y a mi asesora del Instituto de Biotecnología de la UNAM, la Dra. E. Guadalupe Espín Ocampo, por su tiempo, asesorías, apoyo y comentarios.
- A mis sinodales el Dr. Everardo Barba Macías y la Dra. Elena Guzmán Ramón.
- A todos mis profesores de ECOSUR, al Dr. Salvador Hernández y la Dra. Violette Geissen.
- A la Dra. Nancy Santana del Centro de Investigaciones Científicas de Yucatán, A.C.
- Al Dr. Salvador Figueroa, la Dra. Ma. de Lourdes Adriano y al Dr. Isidro Ovando del Centro de Biociencias, UNACH.
- A mis amigos y compañeros de ECOSUR por su amistad, apoyo y asesorías: Alejandro, Yadira, Julia, Sheila, Ángel, Pilar, Iván, Eliseo, Elizabeth, Yoli, Oscar.
- A Lorena por su amistad, consejos y apoyo en la búsqueda de información bibliográfica.
- También para Aarón Jarquin por su apoyo en los análisis de suelo y tejido vegetal y por todas sus asesorías.
- A mis amigos en la distancia, gracias por ser y estar siempre a mi lado.
- Al Colegio de la Frontera Sur.
- Al CONACYT por otorgarme la beca para estudiar el Doctorado

A todos ellos y a los que quizá en este momento olvide mencionar, pero que sin su apoyo no hubiera podido llegar a la culminación de éste trabajo.

# INDICE GENERAL

	Página
<i>Agradecimientos</i> .....	<i>i</i>
<b>INDICE DE TABLAS</b> .....	<b>v</b>
<b>INDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>vii</b>
<b>1.-INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>3.-HIPOTESIS</b> .....	<b>5</b>
<b>4.-OBJETIVOS</b> .....	<b>5</b>
4.1 Objetivo General _____	5
4.2 Objetivos Específicos _____	5
<b>5.-ANTECEDENTES</b> .....	<b>6</b>
5.1 Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal _____	6
5.2 Modos de acción de las rizobacterias _____	8
5.3 Fitohormonas _____	9
5.3.1. Auxinas:.....	10
5.3.2. Citoquininas:.....	10
5.3.3. Giberelinas:.....	11
5.4 Los géneros <i>Azotobacter</i> y <i>Azospirillum</i> como biofertilizantes _____	12
5.5 Los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA). _____	15
5.6 Efectos benéficos de los hongos micorrízicos arbusculares. _____	17
5.7 Interacciones entre PGPR y HMA _____	20
5.8 Cultivo de <i>Carica papaya</i> L. _____	21
5.8.1 Origen y distribución.....	21
5.8.2 Clasificación taxonómica .....	22
5.8.3 Características botánicas .....	22
5.8.4 Variedades.....	27
5.8.5. Ciclo del cultivo .....	29

5.8.6	Requerimientos de suelo y clima.....	30
5.8.7	Requerimientos nutricionales.....	32
5.8.8.	Propagación.....	33
5.8.9	Problemas en la germinación de semillas de papaya.....	35
<b>5.9</b>	<b>Prácticas del cultivo de <i>C. papaya</i> en vivero</b> .....	<b>37</b>
<b>6.-</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>38</b>
<b>6.1</b>	<b>Experimento 1: Efecto de la biofertilización y bio reguladores en la germinación y crecimiento de papaya.</b> .....	<b>38</b>
6.1.1	Material vegetal:.....	39
6.1.2	Material microbiológico y biorreguladores: .....	40
6.1.3	Sustrato: .....	40
6.1.4	Tratamiento pre-germinativo: .....	41
6.1.5	Siembra y aplicación de los tratamientos:.....	42
6.1.6	Diseño del experimento de germinación de semillas de papaya. ....	42
6.1.7	Diseño del experimento del crecimiento vegetal: .....	44
6.1.8	Análisis estadístico: .....	45
<b>6.2</b>	<b>Experimento 2: Efecto de la doble y simple biofertilización de <i>Azotobacter</i> y micorrizas, y la aplicación de materia orgánica en el crecimiento y nutrición de papaya en fase de vivero.</b> .....	<b>45</b>
6.2.1	Material microbiológico: .....	45
6.2.2	Sustratos: .....	45
6.2.3	Material vegetal:.....	46
6.2.4	Inoculación y siembra en la doble biofertilización:.....	47
6.2.5	Inoculación y siembra en la simple biofertilización:.....	48
6.2.6	Diseño de experimento:.....	49
6.2.7	Variables de crecimiento y nutrición evaluadas. ....	49
6.2.8	Variables microbiológicas:.....	50
6.2.9	Análisis estadístico: .....	50
<b>7.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>51</b>
<b>7.1</b>	<b>Experimento 1: Efecto de la biofertilización y bio reguladores en la germinación y crecimiento de papaya.</b> .....	<b>51</b>

<b>7.2 Experimento 2: Efecto de la doble y simple biofertilización de Azotobacter y micorrizas, y la aplicación de materia orgánica en el crecimiento y nutrición de papaya.</b>	<b>58</b>
7.2.1 Efecto de la doble biofertilización y la materia orgánica en el crecimiento vegetal. ....	58
7.2.2 Efecto de la doble biofertilización y la materia orgánica en la producción de Biomasa.....	59
7.2.3 Efecto de la doble biofertilización y la materia orgánica en la nutrición vegetal. ....	61
7.2.4 Estudio de correlación de la doble biofertilización:.....	65
7.2.5 Efecto de la simple biofertilización y la materia orgánica en el crecimiento vegetal. ....	67
7.2.6 Efecto de la simple biofertilización y la materia orgánica en la producción de biomasa. ....	68
7.2.7 Efecto de la simple biofertilización y la materia orgánica en la nutrición vegetal .....	69
7.2.8 Estudio de correlación de la simple biofertilización: .....	73
7.2.9 Efecto de la doble y simple biofertilización y la materia orgánica en la población de <i>A. chroococcum</i> y en la colonización de <i>G. intraradices</i> . ....	75
<b>8. DISCUSIÓN.....</b>	<b>78</b>
8.1 Efecto de la biofertilización y bio reguladores en la germinación y crecimiento de papaya .....	78
8.2 Efecto de la doble y simple biofertilización de <i>Azotobacter</i> y micorrizas, y la aplicación de materia orgánica en el crecimiento y nutrición de la papaya. ....	81
8.3 Efecto de la doble y simple biofertilización y la materia orgánica en la población de <i>A. chroococcum</i> y en la colonización de <i>G. intraradices</i> . ....	86
<b>9.-CONCLUSIONES .....</b>	<b>88</b>
<b>10.-REFERENCIAS.....</b>	<b>90</b>
<b>11. ANEXOS .....</b>	<b>111</b>
Anexo 1. Artículo enviado y aceptado a la Revista Colombiana de Biotecnología. _	111
Anexo 2. Artículo enviado a la Revista Agronomía Costarricense .....	125

## INDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
Tabla 1. Descripción taxonómica de <i>C. papaya</i> L. ....	22
Tabla 2. Detalles de algunas características asociados con los principales tipos de flores.....	25
Tabla 3. Descripción del ciclo de cultivo de <i>C. papaya</i> variedad Maradol.....	30
Tabla 4. Tratamientos experimentales. ....	44
Tabla 5. Propiedades físicas y químicas del suelo y los sustratos utilizados en los experimentos: Composta (12, 25, 50 %) y sustrato con cascarilla de cacao (CC). ....	46
Tabla 6. Descripción de los tratamientos experimentales. ....	49
Tabla 7.Efecto de la biofertilización y ácido giberélico en los parámetros de Germinación: Porcentaje de Germinación, Velocidad de Germinación (VG) y Tiempo Medio de Germinación (TMG). ....	54
Tabla 8. Efecto de la biofertilización y ácido giberélico en el crecimiento de plántulas de papaya a los 35 días después de la siembra.....	57
Tabla 9. Población de rizobacterias y colonización micorrízica de <i>C. papaya</i> 35 días después de la siembra en condiciones de vivero. ....	57
Tabla 10. Efecto de la interacción de la materia orgánica y Biofertilizantes en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia; aplicando una doble biofertilización (en semilla y a los 30 días después de la emergencia).....	63
Tabla 11. Efecto independiente de la materia orgánica en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia de las plántulas; aplicando una doble biofertilización (en semilla y a los 30 días después de la emergencia).....	64
Tabla 12. Efecto independiente del tipo de Biofertilizante en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia de las plántulas; aplicando una doble biofertilización (en semilla y a los 30 días después de la emergencia).....	64
Tabla 13. Correlación entre el contenido de nutrientes y los parámetros de crecimiento y biomasa en la doble biofertilización.....	66



Tabla 14. Efecto de la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia; aplicando una simple biofertilización (30 días después de la emergencia). .....	71
Tabla 15. Efecto independiente de la materia orgánica en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia; aplicando una simple biofertilización (30 días después de la emergencia).....	72
Tabla 16. Efecto independiente del tipo de Biofertilizante en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia; aplicando una doble biofertilización (30 días después de la emergencia). ....	72
Tabla 17. Correlación entre los parámetros de contenido de nutrientes y crecimiento y biomasa, en la simple biofertilización. ....	73
Tabla 18 Efecto de la inoculación simple y combinada de los biofertilizantes y la materia orgánica en la población de <i>A. chroococcum</i> y en la colonización de <i>G. intraradices</i> ...	77

## INDICE DE FIGURAS

### Página

Figura 1. Microfotografías de contraste de fase mostrando <i>Azotobacter chroococcum</i> (A) y microfotografía electrónica de <i>Azospirillum brasilense</i> (B).....	14
Figura 2. Espora de <i>Glomus intraradices</i> en PVLG + reactivo de Mezler.....	16
Figura 3. Raíz colonizada por <i>Glomus intraradices</i> mostrando esporas, hifas, arbusculos y vesícula. Fuente: <a href="http://invam.caf.wvu.edu">http://invam.caf.wvu.edu</a> .....	17
Figura 4. Flor hermafrodita (A) y fruto (B) de papaya. ....	25
Figura 5. Semillas germinadas de papaya que muestran la mesotesta (1), endotesta (2) y radícula (3).....	27
Figura 6. Árboles de papaya variedad Maradol en fase de producción, en campo experimental de ECOSUR, Unidad Villahermosa.....	29
Figura 7. Vivero de ECOSUR, Unidad Villahermosa.....	38
Figura 8. Semillas de papaya sin sarcotesta .....	39
Figura 9. Colonias de <i>A. chroococcum</i> en medio Burk (A), Colonias de <i>A. brasilense</i> en medio Rojo Congo (B), preparación de los inóculos bacterianos en medio de cultivo líquido.....	41
Figura 10. Charolas de plástico con 24 cavidades empleadas en los experimentos.....	43
Figura 11. Germinación acumulada de semillas de papaya bajo diferentes tratamientos. Las claves de los tratamientos están descritas en la Tabla 4. Cada punto representa el promedio de los dos experimentos con tres repeticiones. Las barras de error indican el error estándar de la media.....	53
Figura 12. Plántulas de papaya en vivero. ....	56
Figura 13. Plantas de papaya en vivero, (Ecosur).....	60
Figura 14. Relación entre el contenido de fósforo foliar y el diámetro de tallo (A) y entre la biomasa seca (B), ( $p < 0.05$ ). ....	66
Figura 15. Relación entre el contenido de nitrógeno foliar y el diámetro de tallo (A), la biomasa fresca (B) y biomasa seca (C) y entre el fósforo foliar y el diámetro de tallo (D), la biomasa fresca (E) y la biomasa seca (F), ( $p < 0.05$ ). ....	74

## RESUMEN

A través de dos experimentos en condiciones de vivero se evaluó el efecto de rizobacterias y micorrizas en la germinación, crecimiento y nutrición (contenido de nitrógeno, fósforo y potasio) de plántulas de papaya, crecidas en diferentes sustratos. En el primer experimento, se evaluó el efecto de tres biofertilizantes aplicados solos o en combinación (*Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense* y *Glomus intraradices*) y un bioregulador del crecimiento vegetal, el ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), en la germinación y el crecimiento vegetal. Se realizó un diseño completamente al azar con ocho tratamientos y tres repeticiones. Además, un pre-tratamiento germinativo con alternancia de temperatura se aplicó a las semillas para superar la dormancia. Los tratamientos simples con *A. chroococcum* y *A. brasilense*, incrementaron el porcentaje de germinación 90.28 y 88.89% respectivamente. Por otra parte, la velocidad de germinación se incrementó y el tiempo medio de germinación se redujo, con la aplicación de los biofertilizantes y el AG<sub>3</sub>. La doble aplicación en semillas y foliar de los biofertilizantes y el AG<sub>3</sub> en plántulas, mejoró el crecimiento vegetal. La población de *A. chroococcum* fue mayor cuando se inoculó en combinación con *G. intraradices*. La prevalencia de colonización de las plántulas inoculadas con *G. intraradices* vario de 18.53 a 26.67%, con el mayor valor registrado para el tratamiento combinado con *A. brasilense*.

En el segundo experimento se evaluó el momento y el número de aplicaciones de los inoculantes (*Azotobacter chroococcum* y *Glomus intraradices*) sobre el crecimiento, biomasa y nutrición de papaya, en fase de vivero. También se estudio el efecto de la

materia orgánica y su interacción con los biofertilizantes aplicados. Se realizaron dos experimentos, en el primero se aplicó una doble inoculación de los biofertilizantes en semillas y 30 días después de la emergencia de las plántulas. En el segundo experimento se aplicó una simple inoculación a plántulas, 30 días después de la emergencia. El diseño experimental fue factorial con arreglo completamente al azar, con dos factores: el factor 1 correspondió al sustrato, y el factor 2, correspondió a los biofertilizantes aplicados solos y en combinación y un testigo sin tratar, para dar un total de 20 tratamientos. Los mejores tratamientos correspondieron a la aplicación de cascarilla de cacao (35%) con doble inoculación (semillas y plántulas), aplicando de forma independiente cada biofertilizante (*Azotobacter* y micorriza), y el tratamiento con composta al 25% con doble inoculación, inoculadas solo con *G. intraradices*.

Finalmente, a través de este trabajo se pudo establecer que el mejor momento para la aplicación de las rizobacterias (*A. chroococcum* y *A. brasilense*) en el cultivo de papaya, es en las semillas antes de la siembra y que anteriormente hayan sido sometidas a un tratamiento pregerminativo. Mientras, que para la aplicación de micorrizas es recomendable hacer una doble inoculación (antes de la siembra de la semilla y posteriormente en plántula 30 días después de la emergencia). Con respecto a la materia orgánica, se sugiere la aplicación de dosis moderadas entre 25 y 35%. Con esta metodología, se logró acelerar la germinación, obteniéndose una mayor homogeneidad en la emergencia de las plántulas, disminuyendo así el tiempo de permanencia en el vivero de las plántulas de papaya.

## 1.-INTRODUCCIÓN

La papaya (*Carica papaya*) es una de las frutas tropicales más consumidas en el mundo, se cultiva extensamente en los trópicos y subtrópicos debido a su valor nutricional (Oloyede, 2005) y económico. México ocupa el quinto lugar de producción mundial de papaya con 638 237 Ton, con una superficie cosechada de 16 084 Ha (FAOSTAT, 2008). Además, de acuerdo a la última cifra registrada en la FAO, México fue catalogado en el 2007 como el principal país exportador mundial de papaya, con 101 306 Ton (FAOSTAT, 2007), siendo Estados Unidos y Canadá sus principales países destino. Pero actualmente, México ha exportado papaya a países como Alemania, España, Italia, Japón, Colombia y Guatemala (SIAP, 2009).

En México, Veracruz es el primer productor de papaya, aunque también destacan los estados de Chiapas, Oaxaca, Colima, Michoacán, Yucatán y Tabasco como productores a nivel nacional. El mayor rendimiento se registra en el estado de Chiapas con 79.99 Ton Ha<sup>-1</sup>, en Tabasco el rendimiento es mucho menor 40.66 Ton Ha<sup>-1</sup> con una superficie sembrada de 757 Ha (OIEDRUS, 2008). Los bajos rendimientos registrados en Tabasco están relacionados con la alta incidencia de plagas y enfermedades, el incremento de los costos de los insumos y el bajo nivel de tecnificación de la producción en la gran mayoría de los productores. La variedad Maradol roja es la que más se produce en México, registrándose en el 2007 una producción de 879 929 Ton, que equivale al 95.7% de la producción de papaya. Aunque, también se producen otras variedades pero en menor cantidad tales como: Amarilla, Hawaiana, Roja y Criolla (SIAP, 2007).

El cultivo de papaya requiere de un suelo fértil y rico en materia orgánica, debido a su rápido crecimiento y a su capacidad de producir frutos en forma continua y abundante (Rodríguez, 1984). Pero usualmente, los cultivos de frutales se encuentran establecidos en suelos de baja fertilidad, por lo que para obtener altos rendimientos, elevadas dosis de fertilizantes principalmente nitrogenados, son aplicados a niveles por encima de los 200 Kg / Ha / año (Quaggio y Raij, 1996).

En la agricultura intensiva, la fertilización excesiva ha ocasiona daños al ambiente, un ejemplo de ello es el uso indiscriminado de fertilizantes nitrogenados, donde más del 50 % no es aprovechado por las plantas (Halvorson et al., 2002), esta baja eficiencia de utilización es debida principalmente a la volatilización del  $\text{NH}_3$ , desnitrificación y pérdidas por lixiviación (Bijay-Singh et al., 1995). La volatilización y desnitrificación contaminan la atmósfera por la formación de gases de invernadero como  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{NO}$  y  $\text{NH}_3$ . La lixiviación del  $\text{NO}_3^-$  - N causa toxicidad del agua del subsuelo (Shrestha y Ladha, 1998).

Los problemas de contaminación han conducido al empleo de tecnologías más respetuosas con el medio ambiente, haciendo un uso sostenible de los recursos, sin afectar la productividad y rentabilidad de los cultivos. La fertilización biológica o biofertilización y la aplicación de enmiendas orgánicas al suelo, constituyen una alternativa viable (Alarcón y Ferrera, 2000) en los sistemas agrícolas para mejorar el balance biológico y las propiedades fisicoquímicas del suelo, además de reducir el uso de fertilizantes químicos, principalmente los fertilizantes nitrogenados y fosfatados y de otros agroquímicos en los sistemas de producción (Aguirre, 2004; Bulluck et al., 2002).

Por otra parte, el uso de estos biofertilizantes o inoculantes microbianos se ha difundido como una alternativa ante los altos precios de los fertilizantes químicos, los cuales han tenido altos incrementos desde inicios de 2007. La expansión de la demanda y el incremento en los costos de producción en esta industria son los principales factores que explican este comportamiento (Heffer et al., 2008).

Los biofertilizantes pueden ser definidos como sustancias que contienen microorganismos vivos, de una o varias especies diferentes, que al ser aplicados a semillas, superficies de plantas, o suelo colonizan la rizósfera o el interior de la planta y promueven el crecimiento por incrementar el suministro de nutrientes a la planta hospedera (por ejemplo, la fijación biológica de nitrógeno), teniendo además, la capacidad de convertir elementos nutricionalmente importantes de una forma no disponible a una disponible a través de procesos biológicos (por ejemplo, la solubilización de fosfatos) y de incrementar el acceso de la planta a los nutrientes (por ejemplo, incrementar el área superficial de las raíces) (Hegde et al., 1999; Vessey, 2003).

Dentro de los biofertilizantes que han sido aplicados se encuentran las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) por sus siglas en inglés (Plant-Growth-Promoting-Rhizobacteria) y los hongos micorrízicos, los cuales han sido ampliamente estudiados obteniéndose resultados importantes en el establecimiento y crecimiento vegetal, especialmente bajo condiciones limitantes de nutrientes (Barea et al., 1987).

Es importante mencionar que la adaptación de los microorganismos a su futuro ambiente rizosférico, probablemente se inicia con la germinación de la semilla. Esta zona de influencia de las semillas en germinación, es denominada espermósfera la cual, representa un hábitat rico para el desarrollo y las interacciones microbianas, donde la principal fuente de energía para los microorganismos son los compuestos orgánicos liberados por la semilla en el suelo circundante (Nelson 2006). Por lo que, posteriormente la exudación de compuestos será a través de las raíces durante el desarrollo de la planta (Heijnem y van Veen 1991). Por lo cual, las PGPR y los hongos micorrízicos arbusculares pueden ser aplicados en la etapa de vivero desde la siembra de la semilla, para mejorar el vigor, nutrición y calidad de las plantas (Holguin et al., 1996; Lovato et al., 1996).

Aunque, muchas veces debido a algunas prácticas de manejo adoptadas en los viveros para la producción de plántulas, la formación de hongos micorrízicos arbusculares no es favorecida. Lo cual probablemente se deba al uso de subsuelo, la fumigación del substrato y un alto régimen de fertilidad como resultado de altos niveles de enmiendas y minerales solubles (Trindade et al., 2006).

Actualmente, la tecnología utilizada en el manejo del cultivo de papaya, presenta algunos aspectos necesarios de investigación como son, el manejo en vivero para acelerar el desarrollo de la planta, nutrición adecuada y prevención de enfermedades, entre otros. Asimismo, considerando que tanto la composta como los biofertilizantes pueden estar en equilibrio ecológico haciendo un sistema más funcional al aplicarlo en papaya, permitirá definir el nivel más apropiado de suelo-composta-biofertilizante,



obteniendo plantas de mejor desarrollo, sanidad y vigor tanto en la etapa de vivero como en campo para producción y calidad de frutos.

### **3.-HIPOTESIS**

La aplicación de biofertilizantes y materia orgánica promoverá un mayor crecimiento y nutrición de las plantas de papaya, mejorando su producción en condiciones de vivero.

### **4.-OBJETIVOS**

#### *4.1 Objetivo General*

Evaluar el efecto de la materia orgánica y la biofertilización sobre la producción de plantas de papaya en condiciones de vivero.

#### *4.2 Objetivos Específicos*

1. Determinar el efecto de los biofertilizantes en la germinación de semillas de *Carica papaya* L.
2. Evaluar el efecto de la doble y simple biofertilización y la materia orgánica, en el crecimiento y nutrición de plántulas de *Carica papaya*, L. cv. Maradol, en fase de vivero.
3. Evaluar el efecto de la doble y simple biofertilización, y la materia orgánica sobre la colonización micorrízica y la población de *A. chroococcum* en plantas de papaya, en fase de vivero.
4. Determinar el mejor método de inoculación de los biofertilizantes en *Carica papaya*.

## 5.-ANTECEDENTES

### *5.1 Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal*

Los biofertilizantes han traído la esperanza para muchos países, tanto económica como ambientalmente, principalmente en países en desarrollo, donde los biofertilizantes pueden resolver los problemas del alto costo de los fertilizantes químicos (Gupta et al., 2003). Asimismo, los biofertilizantes han sido identificados como una alternativa a los fertilizantes químicos para incrementar la fertilidad del suelo y producción de cultivos en la agricultura sustentable. La utilización de productos microbianos tiene varias ventajas sobre los químicos convencionales para propósitos agrícolas: (i) los productos microbianos son considerados más seguros que muchos de los químicos ahora en uso; (ii) ni sustancias tóxicas ni los propios microorganismos se acumularan en la cadena alimenticia; (iii) la auto-replicación de los microorganismos evita la necesidad de repetidas aplicaciones; (iv) Los procesos microbianos son rápidos; (v) Implican menos energía, bajo costo y menos esfuerzo en su producción, mientras que los fertilizantes químicos son caros y suponen una mayor energía en su producción; (vi) necesitan poco espacio de almacenamiento; (vii) No existen riesgos de contaminación al usar biofertilizantes, mientras que la aplicación de fertilizantes químicos causan contaminación (Weller 1998; Shen 1997; Wu et al., 2005; Singh 2005).

Aunque, también existen algunos factores limitantes para su aplicación e implementación de esta tecnología, que pueden afectar su producción, comercialización y uso. Dentro de estos factores limitantes se pueden encontrar a) limitaciones tecnológicas como, cepas deficientes para producción, deficientes condiciones de

asepsia en su fabricación, baja viabilidad de microorganismos, baja pureza y elevado nivel de contaminación. Deficientes condiciones del material de soporte empleado para el inoculante microbiano y en la calidad del material de embalaje, lo cual determinará su vida útil, b) limitaciones de infraestructura como, falta de instalaciones adecuadas para la producción, para el almacenamiento y conservación en frío, además falta de equipos especializados, c) limitaciones financieras como, la no disponibilidad de fondos y problemas para obtención de créditos, menor retorno por ventas de productos en unidades más pequeñas de producción, d) limitaciones ambientales como, demanda estacional de los biofertilizantes, las condiciones del suelo, particularmente el pH, contenido de materia orgánica, nivel de humedad y prácticas orgánicas, e) limitaciones de mercadotecnia, como la falta de puntos de ventas o el mantenimiento de una red de comercialización de los productores, lo que origina la poca disponibilidad de inoculantes en el lugar y tiempo requerido (Singh, 2005; Bagyaraj, 2006).

La rizósfera es una zona del suelo en la cual la microflora del suelo es influenciada por las raíces de las plantas (Rovira y Davey, 1971). Esta zona es rica en nutrientes cuando se compara con el suelo, debido a la acumulación de una variedad de compuestos orgánicos liberados de las raíces por exudación, secreción y deposición (Curl y Truelove, 1986). Por lo cual, los microorganismos son mucho más abundantes y metabólicamente activos en la rizósfera que en el suelo no rizosférico, ya que pueden usar los compuestos orgánicos como fuente de carbono y energía (Bolton, 1993; Weller y Thomashow, 1994).

Las bacterias asociadas a las plantas que son capaces de colonizar las raíces son llamadas rizobacterias y pueden ser clasificadas en benéficas, deletéreas y neutras, en base a sus efectos sobre el crecimiento vegetal. Las rizobacterias benéficas que estimulan el crecimiento vegetal son usualmente referidas como Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal o PGPR (Kloepper et al., 1989). La diversidad de las PGPR en la rizósfera varía grandemente de acuerdo al tipo de planta, el tipo de suelo y la disponibilidad de nutrientes (Tilak et al., 2005). Entre el diverso rango de PGPR identificados, *Pseudomonas* y *Bacillus* spp. tienen una amplia distribución y son los más extensivamente estudiados. *Azospirillum*, es un género que fija nitrógeno atmosférico y es un importante grupo de PGPR, ya que el tratamiento con casi todas las cepas y especies de este género afecta positivamente la biomasa y el área superficial de las raíces (Bashan et al., 2004). También, algunas cepas de los géneros *Azotobacter* y *Enterobacter* han sido frecuentemente descritas como PGPR (Bashan y Levanoni, 1990).

## 5.2 Modos de acción de las rizobacterias

Las rizobacterias pueden actuar directa e indirectamente sobre el crecimiento vegetal. Algunos mecanismos de acción indirecta son la producción de antibióticos (como amoniacos, butirólactonas, 2,4 diacetilfloroglucinol (DAPG), kanosamina, Oligosamina A) (Whipps, 2001), producción de sideróforos (los cuales secuestran mucho  $Fe^{3+}$  disponibles en la rizósfera y someten a los patógenos a una privación de hierro) (O'Sullivan y O'Gara, 1992), la síntesis de enzimas líticas (Bertagnolli et al., 1996) y la competencia con microorganismos detrimentales por sitios de la raíz de las plantas

(Walsh et al., 2001). Dentro de los mecanismos directos se encuentran la fijación de nitrógeno (Malik et al. 1997; Mrkovacki y Milic 2001), la producción de fitohormonas como auxinas, citoquininas y giberelinas (Glick, 1995; Kaushik et al., 2000).

En general, las rizobacterias de vida libre usualmente no tienen un solo mecanismo de promoción del crecimiento vegetal (Glick et al., 1999), y pueden involucrar dos o más de los mecanismos citados anteriormente. El entendimiento de los factores ambientales que regulan la biosíntesis de los compuestos promotores del crecimiento y antimicrobiales por las PGPR, es un paso esencial hacia el mejoramiento del nivel y confiabilidad de su actividad promotora del crecimiento.

### *5.3 Fitohormonas*

Las fitohormonas, también llamadas reguladores del crecimiento vegetal (PGRs), son reconocidos por su rol regulatorio en el crecimiento y desarrollo. Las PGRs son sustancias orgánicas que influyen en los procesos fisiológicos de las plantas a concentraciones extremadamente bajas. Debido a que la concentración de señales hormonales es crítica, en la regulación de varios procesos fisiológicos en plantas, cambios locales de niveles de fitohormonas pueden llevar a cambios en las características en el crecimiento y desarrollo vegetal (Dobbelaere, 2003).

Existen dos fuentes de fitohormonas naturalmente disponibles para las plantas: producción endógena por los tejidos de las plantas y la producción exógena por microorganismos asociados, incluyendo numerosas bacterias y hongos del suelo (Costacurta y Vanderleyden, 1995; Patten y Glick, 1996). Intervienen al menos nueve

grupos de hormonas diferentes: auxinas, citoquininas (CKs), giberelinas (GAs), etileno, ácido abscísico (ABA), brasinoesteroides, ácido jasmónico (AJ) y jasmonatos, ácido salicílico (AS) y salicilatos, y poliaminas (PAs) (Segura 2000).

### 5.3.1. Auxinas:

La auxina ácido 3-indol acético (AIA) representa una de las hormonas vegetales más importantes. Regula muchos aspectos del crecimiento y desarrollo vegetal a través del ciclo celular vegetal, desde la división celular, elongación y diferenciación celular para la iniciación radical, dominancia apical, respuesta tropística, floración, maduración de frutos y senescencia. La regulación de estos procesos por auxinas se cree involucra cambios inducidos en la expresión génica (Guilfoyle et al., 1998). Las plantas han involucrado elaborados sistemas para regular niveles celulares de AIA. La regulación homeostática del tamaño del depósito de AIA libre, es el resultado de diferentes procesos, incluyendo síntesis, degradación, conjugación (tanto con aminoácidos o azúcares), y transporte (Normanly y Bartel, 1999).

### 5.3.2. Citoquininas:

Las citoquininas son compuestos con una estructura parecida a la adenina, la cual promueve la división celular y otras funciones similares a la quinina. La quinina fue la primera citoquinina descubierta y fue llamada así debido a la capacidad de promover la citoquinesis (división celular). Las citoquininas han sido encontradas en casi todas las plantas superiores también en hongos, bacterias y también en el ARNt de muchos

procariontes y eucariontes. Hoy en día se conocen más de 200 citoquininas naturales y sintéticas. Las concentraciones más altas de citoquininas se localizan en regiones meristemáticas y aéreas de potencial crecimiento continuo como las raíces, hojas jóvenes, frutos en desarrollo y semillas (Arteca, 1996; Mauseth, 1991; Raven, 1992; Salisbury y Ross, 1992). Las citoquininas también influyen en la diferenciación de células vegetales en cultivos. En cultivos de tejidos vegetales (in vitro), un alto porcentaje de citoquininas/auxinas promueve la producción de tallos, mientras que la auxina sola, inicia el crecimiento radical. Las citoquininas también están involucradas en procesos tales como la fotosíntesis o la diferenciación de cloroplastos. También se conoce que inducen la apertura de estomas, para suprimir la dominancia apical inducidas por auxinas, y para inhibir la senescencia de órganos vegetales, especialmente en hojas (Crozier et al., 2001).

### 5.3.3. Giberelinas:

Las giberelinas, son moléculas complejas de diterpenos tetra-carbocíclicos que son esenciales para el crecimiento normal y que afectan una amplia variedad de procesos de desarrollo vegetal. Las giberelinas son nombradas  $AG_1 \dots AG_n$  en orden de su descubrimiento. El ácido giberélico fue la primer giberelina en ser estructuralmente caracterizada ( $AG_3$ ). Actualmente existen alrededor de 136 AGs identificadas de plantas, hongos y bacterias, pero solo unas cuantas son conocidas que tienen actividad biológica (Richards et al., 2001).

Las giberelinas activas muestran muchos efectos fisiológicos, cada uno dependerá del tipo de giberelina presente, así como las especies de las plantas. Aunque, las giberelinas son principalmente reconocidas por su influencia en la elongación de tallos (por la estimulación de la división y elongación celular), también estimulan el cierre/floración en respuesta a días largos, rompen la dormancia en algunas plantas las cuales requieren estratificación o luz para inducir la germinación, en flores dioicas inducen la aparición de flores macho (expresión sexual), puede causar el desarrollo de frutos partenocárpicos. Las AGs retardan la senescencia de frutos y hojas y también inducen la síntesis de novo de la alfa-amilasas y otras enzimas en la capa de aleurona de los cereales para la movilización de reservas de las semillas (Crozier et al., 2001; Davies, 2004).

#### *5.4 Los géneros *Azotobacter* y *Azospirillum* como biofertilizantes*

Entre las PGPRs no simbióticas más utilizadas como biofertilizantes se encuentran las bacterias de los géneros *Azotobacter* y *Azospirillum* (Figura 1), los cuales, bajo ciertas condiciones pueden incrementar el desarrollo vegetal y promover el rendimiento de diversos cultivos agrónomicamente importantes en diferentes suelos y regiones climáticas (Becking, 1992; Okon y Labandera-González, 1994). Estos efectos benéficos de *Azospirillum* y *Azotobacter* en plantas son atribuidos principalmente a un mejoramiento en el desarrollo radicular, un incremento en la tasa de absorción de agua y minerales por las raíces, al desplazamiento de hongos y bacterias fitopatógenas, y en menor medida a la fijación biológica de nitrógeno (Okon y Itzigsohn 1995).



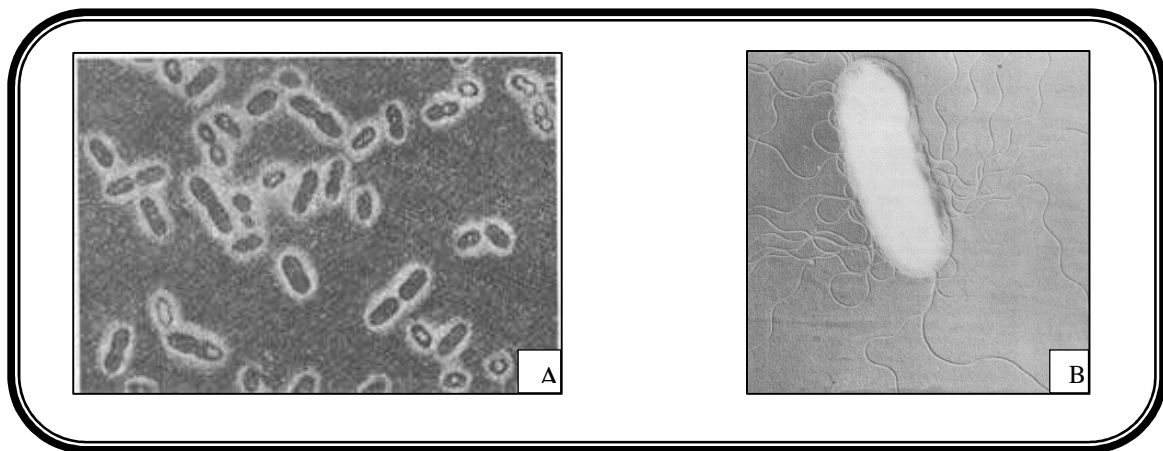
Las especies de *Azospirillum* pertenecen al grupo de endófitos, diazótrofos facultativos, los cuales pueden colonizar la superficie y el interior de las raíces y por lo tanto tienen mejores posibilidades de explotar compuestos carbonados suministrados por las plantas (Boddey et al., 1995; Triplett, 1996). Tres tipos de PGRs pueden ser detectadas en el sobrenadante de cultivos de *Azospirillum* (auxinas, citoquininas y giberelinas). La fitohormona más importante cuantitativamente producida por *Azospirillum* es la auxina 3-acido indol acético (AIA). La producción bacteriana de fitohormonas es la responsable de causar cambios detectables en la morfología de la raíz, después de la inoculación de *Azospirillum*, lo cual podría estar relacionado a un incremento en la toma de minerales (Kapulnik et al., 1985; Okon y Kapulnik, 1986).

La importancia agronómica *Azotobacter* spp, radica especialmente en la capacidad de producir antibióticos, sustancias promotoras del crecimiento vegetal del tipo auxinas, giberelinas y citoquininas (Pandey y Kumar, 1990); además de la fijación de nitrógeno, producción de vitaminas, pigmentos (Pandey et al., 1998), aminoácidos y otras moléculas de actividad biológica de interés industrial y comercial como polisacáridos (Sabra et al., 2001).

Los efectos positivos de las PGPR sobre el desarrollo y establecimiento de plántulas han sido descritos en diferentes cultivos; tanto en plantas herbáceas como la papa (Burr et al., 1978) y soya (Polonenko et al., 1987), o leñosas como la manzana (Caesar y Burr, 1987) y cítricos (Gardner, 1984). Algunos mecanismos como la producción de fitohormonas, solubilización mineral y disponibilidad o control biológico de patógenos

del suelo, han sido propuestos para explicar la actividad benéfica bacteriana (Barea, 2000).

Aunque, *Carica papaya* ha sido considerado como una planta dependiente de inoculación micorrízica (Jaizme-Vega y Azcón, 1995), poco es conocido acerca de las interacciones fúngicas con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) en cultivos frutícolas. Asimismo, el aislamiento y la aplicación de rizobacterias en cultivos de frutales no ha sido muy ampliamente estudiado, aunque en trabajos realizados por Subba Rao (1983), Ghai y Thomas (1989) y Weber et al. (1999), demostraron la presencia de rizobacterias fijadoras de nitrógeno en cultivos de piña y plátano.



**Figura 1.** Microfotografías de contraste de fase mostrando *Azotobacter chroococcum* (A) (Fuente: <http://www.microbiologyprocedure.com/soil-microorganisms/bacteria.html>) y microfotografía electrónica de *Azospirillum brasilense* (B) (Fuente: [http://web.mst.edu/~microbio/bio221\\_1999/A\\_brasilense.html](http://web.mst.edu/~microbio/bio221_1999/A_brasilense.html)).

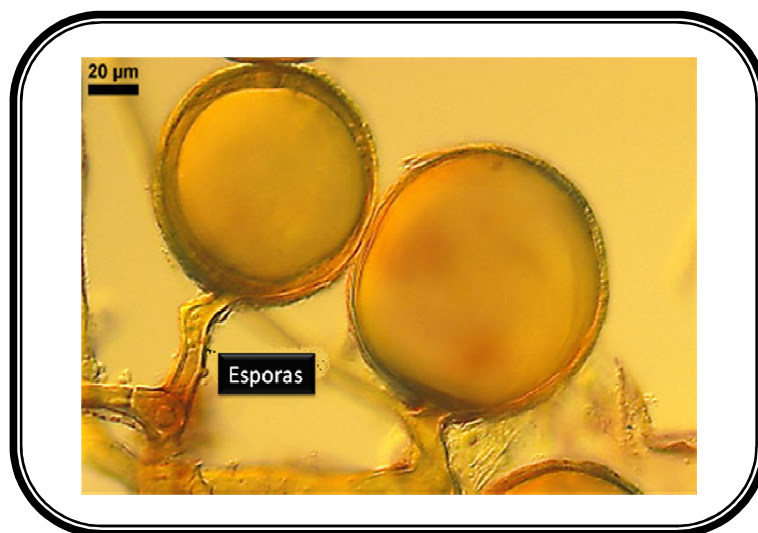
### 5.5 Los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA).

Las micorrizas son asociaciones simbióticas entre las raíces de plantas y algunos hongos del suelo. La mayoría de las plantas terrestres están asociadas con hongos micorrízicos, estableciendo simbiosis mutualísticas permanentes (Fitter et al., 2000). La planta es la única fuente de carbono para los biotrófos obligados HMA. Las micorrizas arbusculares son un tipo de asociación endomicorrízica, caracterizados por la formación de estructuras intracelulares tales como arbuscúlos (Smith y Read, 1997), vesículas y las hifas de crecimiento dentro de la raíz del tejido cortical, todas ellas se conectan a un micelio extraradical (Allen 1991; Smith y Read, 1997). Este micelio en suelo tiene una variedad de funciones (Friesse y Allen 1991), incluyendo la formación de esporas (propágulos para la dispersión en tiempo y espacio) y formación de hifas corredoras.

La clasificación taxonómica de los hongos MA es complicada y ha sufrido numerosos cambios a lo largo de las últimas décadas. Actualmente se considera que pertenecen a la División *Glomeromicota* (Schübler et al. 2001), con más de 150 especies descritas.

La especie *Glomus intraradices* se encuentra dentro del grupo *Glomus* Ab de la familia *Glomeraceae* del orden *Glomerales*. Las características que lo diferencian en este grupo se basan en la morfología de las esporas. *Glomus intraradices* forma esporas redondeadas (entre 40 y 190  $\mu\text{m}$  de diámetro) en el interior de la célula hospedadora (Shenck y Pérez, 1988). El color de la espora puede variar desde amarillo a marrón claro (Figura 2). A pesar de que las esporas de *G. intraradices* se forman en el interior de la raíz, pueden encontrarse también grupos de esporas en el suelo procedentes de su disgregación.

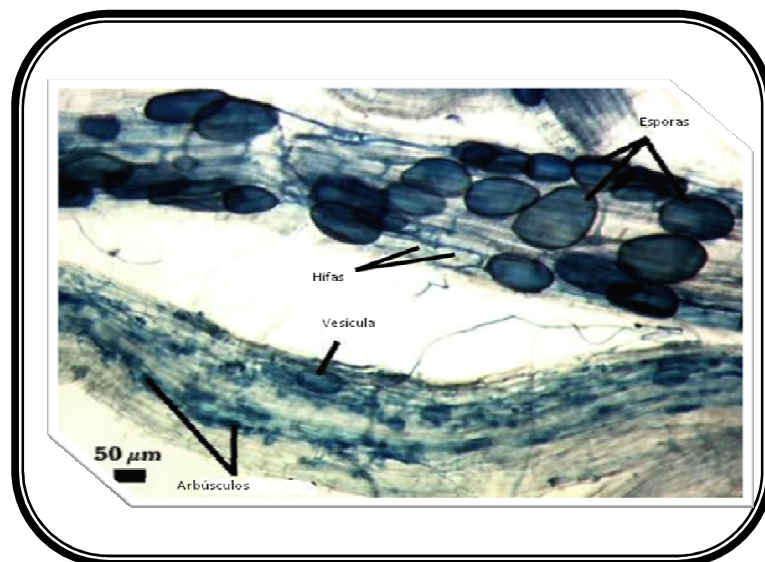
El proceso de colonización por el hongo MA comienza por la germinación de las esporas del hongo. A continuación, se forman apresorios por donde penetra la hifa a la superficie radical y coloniza el espacio intercelular del córtex de la raíz. Se activan enzimas degradadoras de pared celular no agresivas en el hongo, y tanto las células de las raíces como las del hongo cambian su patrón de expresión génica y su morfología. La hifa (Figura 3) penetra a través de las paredes celulares y dentro de las células del córtex desarrolla los arbuscúlos (Figura 3), formadas mediante repetidas ramificaciones dicótomas. En algunos casos, se forman vesículas ricas en lípidos (Figura 3), y finalmente se forman esporas extraradicales, que pueden comenzar otro proceso de colonización. Los arbuscúlos, invaginaciones de la membrana donde tiene lugar el intercambio de nutrientes entre la planta y el hongo, son la estructura clave de la micorriza arbuscular.



**Figura 2.** Espora de *Glomus intraradices* en PVLG + reactivo de Mezler.  
Fuente: <http://www.agro.ar.szczecin.pl/~jblaszkowski/Introduction.html>

### 5.6 Efectos benéficos de los hongos micorrízicos arbusculares.

La simbiosis micorrízica arbuscular tiene diversos efectos benéficos en el mejoramiento de la nutrición, aprovechamiento de agua, crecimiento y adaptación de las plantas ante diversas condiciones de estrés debido tanto por factores bióticos como por factores abióticos (Augé, 2001; Jeffries et al., 2003). Pero el principal beneficio que las plantas reciben de los hongos micorrízicos es la aportación de fósforo. En este sentido, las plantas micorrizadas presentan mayores tasas de absorción de fósforo a través de sus hifas que las plantas no micorrizadas. Otro mecanismo relacionado con el incremento en la capacidad de absorción de fósforo se refiere a la eficiencia con la cual las raíces micorrizadas exploran el perfil del suelo más allá de la zona de agotamiento que rodea a las raíces absorbentes y sus pelos radicales, mediante la extensión de las hifas (Abbott y Robson, 1991).



**Figura 3.** Raíz colonizada por *Glomus intraradices* mostrando esporas, hifas, arbúsculos y vesícula. Fuente: <http://invam.caf.wvu.edu>.

El beneficio que aporta la simbiosis micorrízica arbuscular en plantas ha sido bien documentado, dando especial énfasis en los que respecta a la promoción del crecimiento y nutrición de plantas, especialmente aquellas de interés hortícola, frutícola y forestal (Alarcón y Ferrera-Cerrato; 1999; Davies *et al.*, 2000; Jeffries *et al.*, 2003). La aplicación de los HMA es factible de realizarse en los diferentes sistemas de propagación de plantas: semillas, cultivo de tejidos o estacas (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 1999; Davies *et al.*, 2000). En la mayoría de los casos, los HMA incrementan el crecimiento y estado nutricional de las plántulas, y mejoran la etapa de aclimatación y adaptación de plantas micropropagadas *in vitro* a condiciones ambientales y su productividad (Alarcón *et al.*, 2000, 2001). Además, se ha observado que la mayoría de los frutales arbóreos son micotróficos obligados debido a que su sistema radical carece o presenta escasos pelos radicales, por lo que no pueden hacer uso eficiente de los nutrimentos del suelo o sustrato, aun cuando éste no presente problemas de disponibilidad. De ahí la importancia de realizar la inoculación de hongos micorrízicos, ya que mediante su micelio externo tienen la capacidad de explorar mayor volumen del suelo y consecuentemente traslocar y abastecer de nutrimentos a su hospedante (Alarcón y Ferrera-Cerrato, datos sin publicar).

Por otra parte, las plántulas preinoculadas con micorrizas también pueden ser más tolerantes al estrés que sufren al trasplante que las plantas no micorrizadas o plantas inoculadas al momento del trasplante (Valdés *et al.* 1993; Waterer y Coltman 1988). Además, la producción de plántulas preinoculadas permiten la selección de la especie de hongos micorrízicos que sean más exitoso para un cultivo determinado (Hayman

1987; Waterer y Coltman 1988) o que sea más eficiente para competir con las especies de hongos micorrízicos nativos (Hayman 1987; Sasa et al. 1987; Valdés et al. 1993).

La colonización micorrízica en plantas de papaya ha sido documentada en diversos estudios (Cruz et al. 2003; Ragupathy y Mahadevan 1993). Además, el crecimiento de plantas de papaya puede ser mejorado cuando son inoculadas por HMA (Jaizme y Azcón, 1995; Balakrishna et al., 1996; Trindade, 2001). Bajo condiciones de vivero, se han obtenido efectos benéficos en el crecimiento de plántulas de papaya al ser inoculadas con hongos micorrízicos (Reddy et al., 1996). También en cultivos establecidos de papaya con 1.5 años de edad, se observó un incremento en el rendimiento de frutos al ser inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares, lográndose además obtener igual biomasa de los frutos tanto cuando fue aplicado un inóculo de micorrizas más el 50% de la fertilización recomendada de P, que cuando se aplicó el 100% de la dosis de P recomendada (Mamatha et al., 2002).

Dentro de los factores determinantes de la efectividad de la infección micorrízica se encuentran la composición de los sustratos de crecimiento, ya sea un solo componente o la mezcla de varios (González-Chávez *et al.*, 1995); ya que en diversos estudios se ha observado que el uso de altos niveles de materia orgánica podría actuar como inhibidor del efecto benéfico de la simbiosis micorrízica (Sieverding, 1991; Alarcón y Ferrera-Cerrato, 1995). Por lo tanto, para que se establezca un efecto sinérgico entre la materia orgánica y los hongos micorrízicos, deben utilizarse dosis bajas de materia orgánica (Aguas *et al.*, 1995; Alarcón y Ferrera-Cerrato, 1995; Quiñones *et al.*, 1995). Como alternativas de fuentes de materia orgánica se pueden mencionar los productos

composteados, así como aquellos obtenidos por la actividad de lombrices como la vermicomposta (Aguas et al., 1995; Reyes et al., 1997) o desechos industriales como la cachaza o bonote de coco (Aguas et al., 1995; Quiñones et al., 1995).

### *5.7 Interacciones entre PGPR y HMA*

Debido a que las PGPR y los HMA comparten hábitats y funciones comunes, ellos pueden interactuar durante el proceso de colonización de raíces o funcionar como microorganismos asociados a la raíz. Los microorganismos del suelo particularmente las PGPR pueden influenciar la formación y función de los HMA y consecuentemente, las micorrizas pueden afectar las poblaciones de las PGPR en la rizósfera (Barea et al., 2000). Aunque, el tipo de combinación entre especies de HMA y especies fijadoras de nitrógeno es muy importante, ya que en un estudio realizado por Subba-Rao et al. (1985) se demostró, que la eficacia del sinergismo entre *Azospirillum brasilense* y la colonización de HMA en términos de crecimiento vegetal, depende fuertemente de las especies de HMA empleadas. La inoculación simple de PGPR o en combinación con HMA favorece el crecimiento de plantas de papaya durante la etapa de vivero (Alarcón et al., 2002). Los mismos efectos positivos han sido demostrados en otros cultivos tropicales inoculados con PGPR (Jaizme-Vega et al., 2004).

A parte de los efectos sobre el crecimiento de HMA, las PGPR poseen una variedad de otros mecanismos directos para soportar la simbiosis micorrízica. Garbaye (1994) propuso el término “mycorrhization helper bacteria” para las rizobacterias que incrementan la capacidad de las raíces para establecer interacciones simbióticas con



hongos ectomicorrízicos. Este autor sugirió también un número de posibles mecanismos para los efectos Helper, incluyendo la estimulación del desarrollo de raíces, incremento de la susceptibilidad de las raíces a la colonización micorrízica, o incremento del proceso de reconocimiento entre raíces y hongos. Algunos reportes también han demostrado incrementos en los niveles de colonización de HMA en raíces en presencia de PGPR (Meyer y Linderman, 1986). Algunos estudios sugieren que existen grupos de bacterias más comunes que interactúan sinérgicamente y están mejor asociados con los HMA (Artusson et al., 2006).

## *5.8 Cultivo de Carica papaya L.*

### *5.8.1 Origen y distribución*

Su origen en América Central desde el sur de México hasta Panamá y su actual distribución, ha sido documentado por Campbell (1984) y Morton (1987). Sus semillas fueron distribuidas al Caribe y sureste de Asia (Filipinas) durante la exploración en el siglo XVI, desde donde más tarde fue distribuida a la India, el Pacífico y África (Villegas, 1997). Actualmente, *C. papaya* es ampliamente distribuida a través de las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo entre los 32° Norte y Sur. (Villegas, 1997). Su amplia y rápida diseminación del cultivo es asociado a su propagación por semilla, crecimiento agresivo, semillas con viabilidad prolongada, alto retorno económico y su adaptación a una amplia y diversas condiciones del suelo y clima (Harkness, 1967; Seelig, 1970; Campbell, 1984).

### 5.8.2 Clasificación taxonómica

La familia *Caricaceae* comprende seis géneros: *Carica*, con una sola especie (*Carica papaya*), *Vasconcellea* (21 especies), *Cylicomorpha* (2 especies), *Jarilla* (3 especies), *Jacaratia* (5 especies) y *Horovitzia* (1 especie) (Badillo 2000). *Carica papaya* L. es la especie de mayor importancia económica de esta familia (Tabla 1). El género *Vasconcellea* es el segundo en importancia económica, por tener especies frutales conocidas comúnmente como papayas de montaña o papayuelas, distribuidas a lo largo de los Andes y el piedemonte andino entre 300 y 3500 msnm. Ecuador y Colombia son los países con mayor diversidad en estas especies (Badillo, 1993).

### 5.8.3 Características botánicas

**Planta:** Hierba leñosa de crecimiento rápido, de corta vida, tallo sencillo, presenta dominancia apical rara vez ramificada, a menos que el meristemo apical sea removido o dañando, altura de 2 a 10 m, con el tronco recto, cilíndrico, de color gris o café grisáceo, de 10 a 30 cm de diámetro (Chan y Theo, 2000; Vázquez-Yanes et al., 1999).

Tabla 1. Descripción taxonómica de *C. papaya* L.

Clasificación Taxonómica <i>Carica papaya</i> L.	
Reino	<u>Plantae</u> – Planta
Sub-Reino	<u>Tracheobionta</u> – Planta Vascular
Super-división	<u>Spermatophyta</u> – Plantas con semillas
División	<u>Magnoliophyta</u> – Plantas con flores
Clase	<u>Magnoliopsida</u> – Dicotiledónea
Subclase	<u>Dilleniidae</u>
Orden	<u>Violales</u>
Familia	<u>Caricaceae</u>
Genero	<u>Carica</u> L.
Especie	<u>Carica papaya</u> L.

Fuente. ITIS (Integrated Taxonomic Information System). <http://www.itis.gov>

**Hojas:** Hojas alternas, aglomeradas en el ápice del tronco y ramas, de pecíolo largo, ampliamente patentes, de 25 a 75 cm de diámetro, lisas profundamente palmeadas con venas media robustas, irradiantes. El pecíolo es redondeado, fistular, frágil de 25 a 100 cm de largo y 0.5 a 1.5 cm de grueso (Vázquez-Yanes et al., 1999). La cantidad de hojas activas está en función de la edad de la planta y las condiciones agrotécnicas en que se desarrolle el cultivo, generalmente se inicia en el campo con 3 o 5 hojas y a los 8 meses puede presentar aproximadamente 52. Posteriormente se observa una ligera disminución hasta llegar a 30 hojas activas fisiológicamente, a partir de ese momento la producción ya no es económica. (Rodríguez Nodals, 2002).

**Sistema radicular:** El sistema radical es típico o pivotante formado por una raíz principal y varias secundarias. Este es poco profundo, napiforme, dispuesto generalmente de forma vertical y radial con alto contenido de agua y consistencia relativamente blanda. El 65% del área radical de la papaya está a 30 centímetros de profundidad (Castro et al., 2000).

**Flores:** La papaya es muy especial en su manifestación sexual, por lo general es dioica, lo que quiere decir que unas plantas son masculinas y otras son femeninas, pero existen plantas que poseen flores hermafroditas, es decir, los dos sexos en una misma flor, que es lo más frecuente en nuestro país (Figura 4). En algunos genotipos puede presentarse el fenómeno de las "reversiones", cambio de sexo según la época, por efecto de las condiciones climáticas. Además existe un polimorfismo floral en donde se han descrito hasta 13 diferentes tipos de flores, los que se han separado en 5 grupos para mejor comprensión; 1) masculinas, 2) femeninas, 3) hermafrodita-elongata, 4)

hermafrodita-intermedia y 5) hermafrodita-petandria; esas diferencias florales determinan las variadas formas del fruto que podemos observar en el mercado (Tabla 2). En términos generales las flores son pequeñas, blancas o crema amarillentas, muy fragantes, aparecen una o más de ellas en forma de racimos sobre la inserción de los pecíolos, pero generalmente una sola de ellas desarrolla fruto (Guzmán, 1998).

**Fruto:** El fruto de la papaya es una baya proveniente de un ovario súpero, de pericarpio carnoso y succulento, cuyo color puede variar desde el amarillo hasta rojo (Guzmán, 1998). La forma de los frutos depende de la variedad y del tipo de flor del cual se han formado. Según las variedades los frutos pueden alcanzar de 15 a 50 cm de longitud, de 12 a 25 cm de diámetro y un peso de 200 a 1200 g o más (Pestano, 2001) (Figura 4).

En general, el color de la pulpa de la papaya se debe a la presencia de carotenoides; el color de la papaya roja, a diferencia de la amarilla, se debe al contenido de licopenos que no están presentes en esta última. Por el contrario, el color de la papaya amarilla se debe mayoritariamente al contenido en criptoxantinas. Entre los terpenoides carotenoides característicos de la papaya se encuentran la violaxantina y la caricaxantina (Bioextracto, 2003).

Tabla 2. Detalles de algunas características asociados con los principales tipos de flores.

Característica	Macho (estaminada)	Hembra (pistilada)	Hermafrodita (elongata)	Hermafrodita (intermedia)	Hermafrodita (petandria)
<b>Inflorescencia</b>	Panícula colgante pedunculada 25 a 100 cm largo	Solitaria o pocas flores cónicas, tallo de 3.5-5 cm de longitud	Racimos, pedúnculos cortos, tallo menor que 25 cm.	Racimos, pedúnculos cortos, tallo menor que 25 cm	Racimos, pedúnculos cortos, tallo menor que 25 cm
<b>Corola</b>	Forma de trompeta, 2.5 cm longitud, 5 lóbulos, amarillo claro/crema.	5 pétalos casi libres (fusionados en la base); pétalos carnosos, amarillo/crema	5 pétalos parcialmente unidos, fusionados desde ¼-3/4 de su longitud total	Indefinido: pétalos pueden estar fusionados 2/3 partes de su longitud o libres	5 pétalos casi libre, pétalos carnosos amarillo/crema
<b>Estigma</b>	Ninguno	5, en forma de abanico sobre un estilo corto	5 en forma de abanico	5 en forma de abanico	5 en forma de abanico
<b>Ovario</b>	Ovario rudimentario no funcional	Óvulos numerosos, oblongo-ovoide, cavidad central, 2-3 cm longitud	alargado	Forma irregular, distorsionado	Oblongo-ovoide, 5 surcos
<b>Estambre</b>	10 en 2 verticilos alternando con pétalos	Ninguno	10 nacidos del cuello de la corola en 2 racimos (5 cortos y 5 largos)	2-10, algunos o todos están distorsionados	5 unidos por un largo filamento cerca de la base del ovario
<b>Forma del fruto</b>	Sin fruto	Esférico/ovoide	Cilíndrico en forma de pera	Irregulares de poco valor comercial (cara de gato)	Ovoide y lobulado

Fuente URL: [http://www.health.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/papaya-3/\\$FILE/biologypapaya08.pdf](http://www.health.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/papaya-3/$FILE/biologypapaya08.pdf)

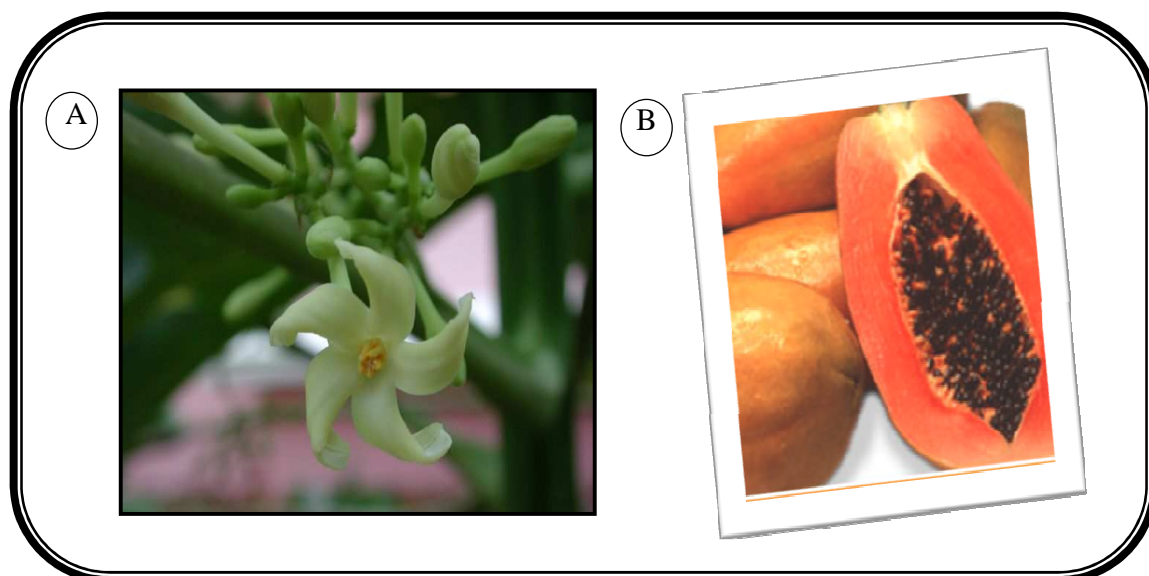
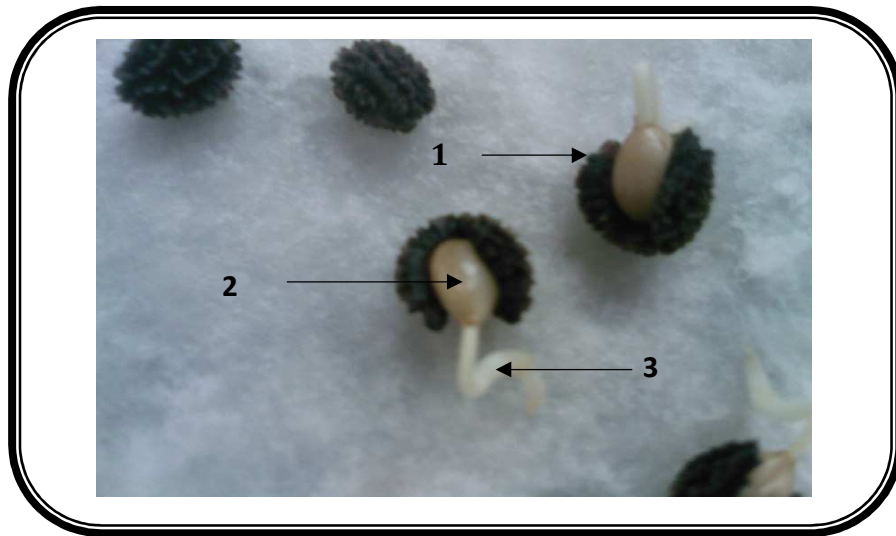


Figura 4. Flor hermafrodita (A) y fruto (B) de papaya.

**Semilla:** Normalmente un fruto contiene gran cantidad de semillas, ellas se desarrollan en 5 hileras adheridas a la pared interior del ovario. La semilla de papaya es de forma ovoide y de color marrón oscuro en la madurez. Su tamaño fluctúa entre 4 y 6 mm. La semilla de papaya proviene de un rudimento con dos tegumentos que al desarrollarse conforman la cubierta seminal. Los tejidos derivados del tegumento externo originan la exotesta, la mesotesta y la endotesta, mientras que los derivados del tegumento interno forman el tegmen. La exotesta es de consistencia carnosa, jugosa, de color anaranjado y se le conoce como sarcotesta. La mesotesta es oscura, rugosa y dura (Gil y Miranda, 2005) (Figura 5).

El endospermo es entero, con superficie lisa, suave y de consistencia carnosa, y presenta posición externa debido a que rodea por completo al embrión (Figura 5). El embrión presenta división axial y subdivisión foliar, de forma espatulada, con cotiledones rectos que no cubren la radícula. Los cotiledones son planos, delgados, ovados, de igual tamaño, margen entero, ápice redondeado, base atenuada y postura recta (Gil y Miranda, 2005).



**Figura 5.** Semillas germinadas de papaya que muestran la mesotesta (1), endotesta (2) y radícula (3).

#### 5.8.4 Variedades

Existen diferentes variedades o cultivares de uso comercial, en nuestro país se comercializan los tipos Cera, Mamey, Coco y la variedad Maradol Roja principalmente, aunque también en pequeña escala la Hawaiana. De esto tenemos que la Cera - conocida también como Amarilla, se comercializa en todo el país y es la que más se produce, principalmente en el estado de Veracruz, que es el mayor productor nacional. La Mamey se produce en menor escala, sin embargo también se comercializa ampliamente. La Coco se produce en zonas muy localizadas y su mercado principal es regional, aunque también sale del estado de Veracruz a ciudades como León, Monterrey, Reynosa, Puebla y Pachuca entre otras, pero en cantidades mínimas.

La Maradol Roja es una variedad criolla obtenida a partir de germoplasma colectado en la región central y oriental de Cuba. Ésta constituye la principal variedad comercial cubana, que ha alcanzado gran difusión en México, se extiende por muchos países tropicales y constituye una de las tres variedades de papaya más comercializadas en el mundo (Rodríguez-Nodals y Rodríguez-Manzano, 2000).

Son plantas de porte bajo de 1.20 – 1.70 metros de altura del nivel del suelo a la yema apical (cogollo), al momento de iniciar la cosecha y puede llegar hasta 2.30 metros en plena producción. Tiene un alto potencial de producción, ya que se ha logrado producir arriba de 200 toneladas por hectárea, en condiciones óptimas se obtienen alrededor de 120 toneladas por hectárea. Posee gran precocidad, que permite comenzar la cosecha entre los seis y siete meses después del trasplante (Figura 6). El exterior de las frutas es amarillo–anaranjado brillante, su interior es de color rojo salmón intenso, característica muy apreciada por el consumidor. Posee un adecuado contenido de azúcares (aproximadamente 12° Brix), su sabor y aroma es exquisito. Las frutas tienen las mejores cualidades de embarque y almacenaje, gracias a la gran consistencia de su epidermis, un mesocarpio grueso, lenta maduración y superficie lisa. El peso promedio de los frutos oscila de 1,6 kg hasta 3 kg (CORSPAC, 2009). En el caso de la variedad Maradol en una plantación proveniente de semillas de alta calidad, debe presentar 66,6% de plantas hermafroditas y 33, 4 % de femeninas (Rodríguez-Nodals y Rodríguez-Manzano, 2000).





**Figura 6.** Árboles de papaya variedad Maradol en fase de producción, en campo experimental de ECOSUR, Unidad Villahermosa.

#### 5.8.5. Ciclo del cultivo

Dependiendo de las condiciones ambientales y de la calidad de la semilla, las plántulas emergen entre los 15 y 20 días, momento en el cual pueden presentar dos hojas verdaderas. Treinta días después logran una altura de 15 a 20 cm a partir de su base. En esta etapa de desarrollo se realiza el trasplante al sitio definitivo (Arango, 1998). La planta tiene un desarrollo vegetativo que lleva entre tres y cuatro meses, dependiendo de la variedad, posteriormente alcanza su período de madurez e inicia la floración, cinco meses después se empieza a cosechar, alrededor de los diez meses en adelante la producción es continua (Guzmán, 1998) (Tabla 3).

Tabla 3. Descripción del ciclo de cultivo de *C. papaya* variedad Maradol.

ETAPA	DESCRIPCIÓN	DURACIÓN
<b>Vivero</b>	Siembra hasta que las plántulas miden entre 15 a 20 cm de altura	45 días
<b>Juvenil</b>	Trasplante hasta inicio de floración	123 días
<b>Madurez</b>	Floración, aparición del primordio floral hasta la polinización de la flor (antesis)	22 días
<b>Desarrollo de frutos</b>	Primera cosecha	165 días
<b>Estabilización de la cosecha</b>		10 meses
<b>Adulto productivo</b>		12 a 24 meses

Tabla elaborada a partir de los datos de Vázquez et al. (2008) y Guzmán (1998).

#### 5.8.6 Requerimientos de suelo y clima

**Tipo de suelo:** Se adapta a diferentes tipos de suelos; sin embargo, para un buen desarrollo y alta producción, de papaya se requiere de suelos fértiles, de textura media, con un contenido de arcilla de 10 a 30%, con una profundidad mayor de 80cm, ricos en materia orgánica, con buena estructura y drenaje, para evitar suelos inundados por más de 48 horas, lo que ocasiona daños a la planta o incluso la muerte. La FAO (1994) menciona que el pH adecuado para el desarrollo de papaya está entre 6 y 7, con un óptimo de 6.5; pH inferiores a los mencionados requieren encalado (Guzmán, 1998; García et al., 2005). De acuerdo a Aceves-Navarro et al. (2008), los mejores suelos para el cultivo del papayo en Tabasco corresponden a las subunidades de suelo: Fluvisol Éutrico (FLeu) y Fluvisol Éutrico+Vertisol Crómico (Fleu+VReu).

**Clima:** La papaya es una especie de climas tropicales o cercanos al trópico, es muy sensible al frío y por lo que se adapta en los límites de 32 a 35° de latitud norte y de 32

a 35° de latitud sur (García y Escobar, 2002). La papaya se desarrolla mejor en clima cálido, bajo las siguientes condiciones climáticas:

**a) Altitud:** Se adapta a alturas desde el nivel del mar hasta los 1600 msnm, pero se estima que en regiones con alturas menores a los 800 msnm, se obtienen mayores producciones y una mejor calidad de fruta (Guzmán, 1998). Aunque De los Santos et al. (2000) menciona que la altitud máxima es de 400msnm.

**b) Fotoperiodo:** El fotoperiodo no tiene influencia en la inducción de la floración. La inducción floral está controlada genéticamente y ocurre cuando se ha alcanzado la etapa apropiada de desarrollo (Storey, 1985). Aunque, la planta requiere de alta luminosidad, por lo que produce mejor en lugares bien soleados. El color y sabor de la fruta dependen mucho de la radiación solar (Díaz 1998)

**c) Precipitación:** La precipitación adecuada puede variar entre los 1500 y 2000mm de precipitación anual, distribuida homogéneamente durante el año; la humedad relativa debe oscilar entre 70 y 85%; en clima cálido con lluvias frecuentes y moderada, permiten una producción continua (Díaz, 1998; Guzmán, 1998). Una distribución anual de lluvias de 1200mm es suficiente si se emplean prácticas de conservación del agua. La escasez de agua en cualquier etapa, atrasa el crecimiento y reduce la producción. Por el contrario, los encharcamientos prolongados pueden ocasionar pudriciones radiculares y muerte de la planta (Guzmán, 1998).

**d) Temperatura:** El rango de temperatura es de 15 a 35°C, con un óptimo para fotosíntesis de 25-30°C (Benacchio, 1982). La temperatura mínima para un crecimiento satisfactorio es 15°C, temperaturas inferiores inhiben el desarrollo de los botones florales y causan la abscisión de flores (Storey, 1985). Baradas (1994), menciona que requiere una temperatura media diaria de 21-33°C, temperaturas de 0°C causan fuertes daños al follaje, temperaturas de -2°C causan dañar a los frutos y a -4°C la planta muere.

**e) Vientos:** El viento es un factor que afecta a esta planta por su consistencia herbácea, por su sistema radical superficial y el peso que soporta su fruta. En zonas donde el viento es muy fuerte deben sembrarse árboles como cortinas rompevientos. Si la planta tiene desarrollado un buen sistema radicular y bien profundo, puede soportar vientos de 80 km por hora (OIRSA, 2003).

#### 5.8.7 Requerimientos nutricionales

El cultivo de la papaya presenta un desarrollo rápido y constante acompañado de una floración precoz, continua y paralela al desarrollo de los frutos, por lo cual requiere de un suministro alto de agua y nutrientes durante todo el ciclo.

Para la evaluación de las exigencias nutricionales es importante determinar las cantidades extraídas por la raíz y la parte aérea y las exportadas a flores y frutos, también las épocas de mayor demanda de nutrientes. La extracción de nitrógeno (N) del cultivo de papaya es relativamente alta, por lo tanto exige altas dosis de fertilizantes

para obtener una alta producción de frutos de buena calidad, como también para obtener plantas con resistencia al ataque de plagas o variaciones de clima. El fruto presenta dos períodos de mayor desarrollo: primero, durante los tres meses posteriores a la abertura de la flor y segundo, durante los treinta días anteriores a la cosecha, debido en gran parte a la mayor acumulación de agua en los tejidos (Malavolta, 1980). Los dos elementos mayores que más consume la papaya son en su orden, el potasio (K) y el nitrógeno (N), y en bastante menor cantidad, en orden descendente, el calcio (Ca), el fósforo (P), el azufre (S) y por último el magnesio (Mg). Los elementos menores de mayor consumo son en su orden, el hierro (Fe), el manganeso (Mn) y el zinc (Zn), pero el más limitante es el boro. En relación a la exportación de macro y micronutrientes se verifica que el orden decreciente es:  $K > N > Ca > P > S > Mg$ ;  $Cl > Fe > Mn > Zn > B > Cu > Mo$  (Cunha y Hag 1980).

La interacción entre nutrientes o relación, que más afecta la producción y calidad de la papaya es la relación N/K. Una relación N/K elevada puede provocar excesivo crecimiento vegetativo y menor producción, frutos más distanciados y de menor calidad, sin sabor y con aspecto acuoso. Ruggiero (1988) y Awada y Long (1971) encontraron una alta relación entre el contenido de potasio, el rendimiento y el contenido de azúcares del fruto.

#### 5.8.8. Propagación

**Propagación sexual:** La forma típica para la propagación de la papaya, ha sido la reproducción por semillas o sexual. Aunque, la heterogeneidad causada por la

polinización cruzada puede ser una desventaja. Semillas derivadas de flores con polinización abierta pueden producir plantas con una considerable variación en el tipo de sexo (una mezcla de plantas machos, hembras y hermafroditas) lo cual es altamente indeseable, ya que esto da como resultado la variación en la calidad y tipo de frutos (Teixeira da Silva, 2007).

**Propagación asexual o vegetativa:** La propagación vegetativa de papaya se puede realizar mediante esquejes obtenidos de las ramificaciones del árbol de forma artificial, ya que la papaya no se ramifica hasta cuando tienen tres o cuatro años. Los árboles viejos sufrirán la operación de desmoche o eliminación de la cabeza o cogollo del árbol, lo cual provocará así la producción de ramas o cogollos laterales. Este método de propagación es muy laborioso y costoso ya que implica el mantenimiento de plantaciones de más de tres años para la obtención de plantas madre (CEA, 2001).

La propagación vegetativa también se puede realizar por medio de estacas o injertos pero no brinda los efectos deseados, las primeras son de lento desarrollo y las segundas degeneran y no mantienen las características, por lo que rara vez se hace en plantaciones comerciales debido a que el costo no se justifica por la vida económicamente corta de la plantación (Malo y Campbell, 1986). En Sudáfrica la propagación vegetativa de papaya es una práctica muy extendida, donde el enraizamiento de esquejes se utiliza para eliminar la variabilidad en algunas variedades de papaya (Allan 1995; Allan y Carlson 2007).

También se han desarrollado diferentes métodos de propagación a partir del cultivo de tejidos tanto por organogénesis (Hossain et al., 1993) como por embriogénesis somática (Posada, 1995; Del Sol et al., 2001), sin embargo por ser los métodos biotecnológicos hasta el presente más costosos respecto a la vía por semilla botánica su empleo está limitado solamente para genotipos híbridos que lo justifiquen (Elder y Macleod, 2000).

#### 5.8.9 Problemas en la germinación de semillas de papaya

Aunque, la producción comercial de papaya generalmente se realiza por semillas, esta forma de propagación tiene tanto efectos positivos como negativos. Como se ha mencionado, es la forma más fácil y económica de propagación y se encuentra accesible para los productores ya que de un solo fruto de papaya se pueden extraer numerosas semillas, pero las semillas muchas veces presentan problemas en la germinación, la cual puede ser lenta y esporádica (Pérez et al., 1980).

De acuerdo a Yahiro (1979) las semillas de papaya presentan varios problemas con la germinación, poseen un poder germinativo corto, lento e irregular, y pueden tardar entre 4 y 8 semanas para germinar. Lo cual, se ha correlacionado con la presencia de inhibidores de germinación, principalmente compuestos fenólicos en la testa y sarcotesta (Tokuhisa et al., 2007), ya que estos compuestos consumen oxígeno durante el proceso de oxidación restringiendo la entrada de oxígeno que llega al embrión (Bewley y Black, 1994). Por otra parte, en semillas de diferentes especies la dormancia es ocasionada por un balance hormonal desfavorable entre promotores de crecimiento

como las giberelinas (GA) e inhibidores de la germinación, como el ácido abscísico (ABA) (Bewley, 1997).

Pero de acuerdo a Ellis et al. (1991) la baja germinación, también se ha relacionado con el estrés por desecación que experimentan las semillas de papaya a bajos contenidos de humedad. La desecación induce quiescencia metabólica o dormancia (Wood et al., 2000). En adición a estos factores que interfieren con la germinación, Nagao y Furatani (1986) reportaron que aproximadamente el 20% de las semillas de papaya carecen de embrión. La presencia de una cubierta mucilaginoso denominada sarcotesta, que cubre externamente a las semillas de papaya, puede ocasionar dormancia física (Lange, 1961; Tokuhisa et al., 2006).

Para superar la dormancia e incrementar el porcentaje de germinación y emergencia así como su homogeneidad, se han empleado diversos métodos, desde el remojo y el enjuague de la semilla en agua (Artola et al., 2003), secado al sol (Wood et al., 2000), la remoción de la sarcotesta (Lange 1961), almacenamiento de las semillas a diferentes periodos de tiempo (Aroucha et al., 2005; Tokuhisa et al., 2006), la inmersión de semillas en promotores del crecimiento como el  $\text{KNO}_3$  (Furatani y Nagao 1987), el ácido giberélico (Tokuhisa et al., 2006; Bautista-Calles et al., 2008; Andrade-Rodríguez et al., 2008) y en  $\text{NaOCl}$  (Tokuhisa et al., 2007). El tratamiento de semillas con inoculantes microbianos o biofertilizantes también ha sido empleado para promover y acelerar la germinación de semillas. Según Kloepper et al. (1991), ciertas bacterias dentro de las denominadas Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, del inglés PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), pueden mejorar la germinación de semillas, a través



de la producción y liberación de algunas sustancias reguladoras del crecimiento vegetal como auxinas, citoquininas o giberelinas en medios químicamente definidos y en asociación con las plantas (Janzen et al., 1992, Piccoli et al., 1997; Cassán et al., 2009).

### *5.9 Prácticas del cultivo de C. papaya en vivero*

La plantación de papaya puede establecerse sembrando directamente en campo; pero generalmente se realiza con plantas de vivero, debido al alto costo de las semillas, el crecimiento inicial lento de las plántulas de papaya y la baja capacidad competitiva con las malas hierbas (Morales-Payan y Stall, 1997). Los trasplantes de papaya son considerados adecuados para ser plantados en el campo cuando la planta mide al menos 20 cm de altura y el tallo 1 cm de diámetro y tiene al menos 4 hojas verdaderas, lo cual ocurre usualmente de 35 a 45 días después de la emergencia (Morales-Payan, 1998; Nishina et al., 2000). El tiempo para producir trasplantes adecuados de papaya puede ser afectado por numerosos factores, incluyendo la variedad, el substrato, la nutrición mineral y reguladores del crecimiento (Morales-payan y Stall, 2003; 2005).

Por lo que esta etapa, es la de mayor importancia en el proceso productivo, permitiendo además tener cierta uniformidad en el tamaño de las plántulas, una mejor planeación del abastecimiento de plántulas sanas y vigorosas y obtener una reducción en los costos de producción (PRODUCE-ITESM, 2003). En la producción de plantas en vivero ó cultivo protegido es importante considerar varios factores como la calidad de la

semilla, el sustrato, el contenedor, luz, humedad, temperatura y manejo principalmente (aplicación de fungicidas, fertilizante foliar, insecticidas, riegos, etc.).

## 6.- MATERIALES Y MÉTODOS

**6.1 Experimento 1:** Efecto de la biofertilización y bioreguladores en la germinación y crecimiento de papaya.

El trabajo se llevo a cabo en las instalaciones de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Unidad Villahermosa, Tabasco México. Las plantas fueron crecidas bajo condiciones de vivero (Figura 7) a una temperatura media mínima / máxima de 28.5 / 36.5 °C, una humedad relativa de 85 % y una altitud de 10 msnm.



**Figura 7.** Vivero de ECOSUR, Unidad Villahermosa.

### 6.1.1 Material vegetal:

Se emplearon semillas de *Carica papaya* L. cv. Maradol, colectadas en el mes de febrero de frutos maduros provenientes de una plantación establecida en el campo experimental de ECOSUR. Las semillas recién sacadas del fruto fueron puestas en agua destilada por 24 horas y se removió manualmente la sarcotesta (cubierta mucilaginosa que rodea a la testa). Posteriormente se eliminaron los restos de sarcotesta y las semillas que flotaban se descartaron por considerarse no viables. Las semillas se extendieron en papel formando una sola capa y se secaron durante 3 días en condiciones de sombra a temperatura ambiente (32 °C) (Figura 8), después se colocaron en bolsas de plástico y se almacenaron en refrigeración a  $15 \pm 2$  °C durante un mes.



**Figura 8.** Semillas de papaya sin sarcotesta

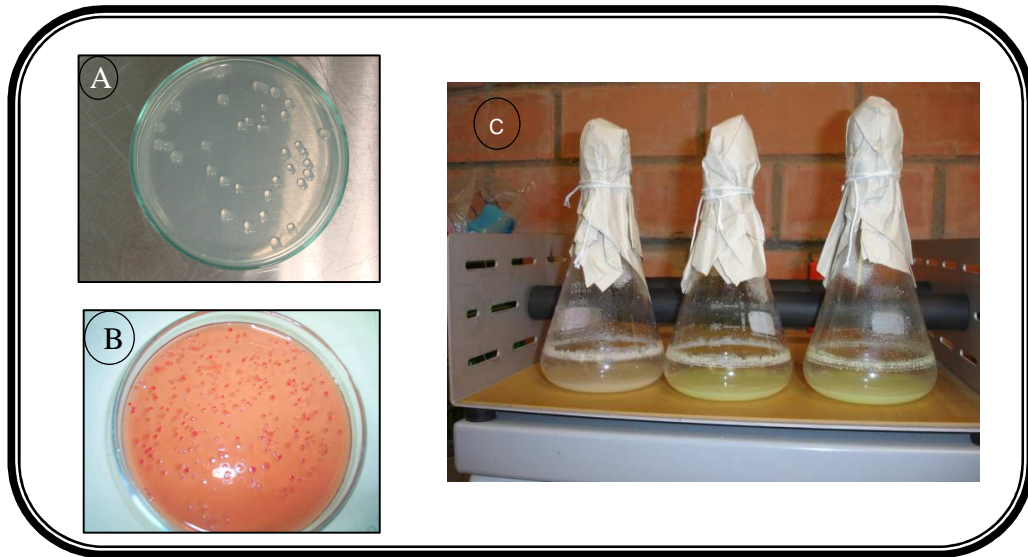
### 6.1.2 Material microbiológico y biorreguladores:

En los experimentos se utilizaron las cepas de las rizobacterias *Azotobacter chroococcum* y *Azospirillum brasilense* aisladas por el Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT) de la Habana, Cuba y reproducidas en los laboratorios de ECOSUR. En la formulación de los biofertilizantes líquidos, *A. chroococcum* fue cultivado en medio líquido Ashby enriquecido con  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ( $3 \text{ g l}^{-1}$ ) y extracto de levadura ( $0.1 \text{ g l}^{-1}$ ); mientras que *A. brasilense* fue crecido en caldo nutriente (Merck) y se mantuvieron con agitación orbital (150 rpm) a  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  por 60 horas para *A. chroococcum* y 48 horas para *A. brasilense*, hasta obtener una concentración de  $1 \times 10^9$  unidades formadoras de colonias por mililitro ( $\text{ufc ml}^{-1}$ ) (Figura 9). El inóculo micorrízico empleado fue *Glomus intraradices*, con una concentración de 1050 esporas en 100 g de Tezontle, que incluye raíces de alfalfa con un 85% de colonización, proporcionado por el área de Microbiología de El Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. La solución de ácido giberélico empleada fue de 500 ppm y se preparó a partir del producto comercial Activol (Valent Biosciences).

### 6.1.3 Sustrato:

El sustrato empleado contiene una mezcla en una proporción de 1:1:1 de arena: suelo: materia orgánica (cascarilla de cacao previamente seca y tamizada). La proporción fue hecha en base a peso (p/p). La esterilización del sustrato se realizó en autoclave a  $121 \text{ }^\circ\text{C}$  por 1 hora por tres días consecutivos. Las características fisicoquímicas del sustrato son: textura franco-arcillo-arenoso (arcilla 25 %, limo 21 % y arena 54 %), pH ( $\text{H}_2\text{O}$ ): 6.1, materia orgánica: 11.2 % (Walkey y Black), N total: 0.6 % (semimicroKjeldhal), P:

66.04 mg.kg<sup>-1</sup> (Olsen). Las bases intercambiables fueron extraídas con acetato de amonio 1N a pH 7 y determinado por espectrofotometría de absorción atómica, K<sup>+</sup> 2.64 cmol kg<sup>-1</sup>, Ca<sup>2+</sup> 29.44 cmol kg<sup>-1</sup>, Mg<sup>2+</sup> 10.20 cmol kg<sup>-1</sup>, Na<sup>+</sup> 0.46 cmol kg<sup>-1</sup>.



**Figura 9.** Colonias de *A. chroococcum* en medio Burk (A), Colonias de *A. brasilense* en medio Rojo Congo (B), preparación de los inóculos bacterianos en medio de cultivo líquido.

#### 6.1.4 Tratamiento pre-germinativo:

Previamente las semillas fueron desinfectadas sumergiéndolas en una solución de peróxido de hidrógeno al 10% por 3 min y posteriormente fueron lavadas tres veces con agua destilada estéril. El tratamiento de pre-germinación consistió en la inmersión de las semillas en agua destilada estéril a temperatura alternada de 15–35 °C por 24 y 4 horas respectivamente.

### 6.1.5 Siembra y aplicación de los tratamientos:

La siembra de la semilla se realizó en charolas de germinación, sembrándose una semilla por cavidad. Para la inoculación de las rizobacterias y la aplicación de AG<sub>3</sub> las semillas previamente se sumergieron respectivamente en cada uno de estos tratamientos por una hora. La concentración de *A. chroococcum* y *A. brasilense* empleada fue de  $1 \times 10^9$  ufc ml<sup>-1</sup>, mientras que la concentración de la solución de AG<sub>3</sub> empleada fue de 500 ppm. Para la inoculación de *G. intraradices* se aplicó directamente en el sustrato 3 g por cavidad antes de la siembra de la semilla.

En los tratamientos con las mezclas de *G. intraradices* + *A. chroococcum* y de *G. intraradices*+ *A. brasilense*, las semillas se sumergieron por una hora en el biofertilizante bacteriano y posteriormente se sembró a razón de una semilla por cavidad, donde previamente se había inoculado cada cavidad con 3 g de *G. intraradices*.

### 6.1.6 Diseño del experimento de germinación de semillas de papaya.

Se realizó un diseño completamente al azar con 8 tratamientos y tres repeticiones. La unidad experimental para evaluar la germinación consistió de una charola de plástico con 24 cavidades (Figura 10). El experimento se realizó por duplicado en dos periodos de tiempo, el primero en abril y el segundo en el mes de julio de 2009. Los tratamientos empleados están descritos en la Tabla 4. El testigo recibió el tratamiento pre-germinativo de alternancia de temperatura, mientras que el control no fue sometido a este procedimiento.



**Figura 10.** Charolas de plástico con 24 cavidades empleadas en los experimentos.

La germinación se evaluó diariamente durante 18 días y se consideró como germinada cuando la radícula había emergido 0.5 mm aproximadamente. Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de germinación (CG), la velocidad de germinación (VG) y el tiempo medio de germinación (TMG). La velocidad de germinación (VG) se obtuvo mediante la fórmula sugerida por Copeland (1976). El tiempo medio de germinación (TMG) es el tiempo promedio requerido para que las semillas germinen, fue determinado usando la fórmula de Ellis y Roberts (1980). No se encontraron diferencias entre los dos experimentos realizados, por lo tanto los datos fueron combinados para los análisis estadísticos.

Tabla 4. Tratamientos experimentales.

TRATAMIENTOS	DESCRIPCIÓN	ALTERNANCIA DE TEMPERATURA
Ac	<i>A. chroococcum</i>	+
Gi+Ac	<i>G. intraradices</i> + <i>A. chroococcum</i>	+
AZOS	<i>A. brasilense</i>	+
Gi+AZOS	<i>G. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	+
Gi	<i>G. intraradices</i>	+
AG <sub>3</sub>	Ácido giberélico	-
TESTIGO	---	+
CONTROL	---	-

#### 6.1.7 Diseño del experimento del crecimiento vegetal:

Al terminar el experimento de germinación (35 días después de la siembra), se seleccionaron al azar 5 plántulas por cada repetición (n=15 por cada tratamiento), excluyendo las plántulas del tratamiento control ya que solo el 20 % de las semillas germinadas lograron sobrevivir. Las variables evaluadas fueron: altura (cm), diámetro del tallo (mm), número de hojas, biomasa fresca (g) y biomasa seca (g). Para determinar la población de *A. chroococcum* y *A. brasilense* en los tratamientos que recibieron estas rizobacterias, se muestrearon cinco gramos de raíces + rizósfera por plántula y se realizó el método de diluciones seriadas, sembrando por triplicado 100 µl de las diluciones 10<sup>-2</sup> a 10<sup>-4</sup> en cajas de petri con medio de cultivo Burk libre de nitrógeno, adicionado con ácido nalidixico (20 µg ml<sup>-1</sup> de medio de cultivo) para *A. chroococcum*, mientras que para *A. brasilense* se empleó el medio de cultivo Rojo Congo. El porcentaje de colonización micorrízica se evaluó usando el método de clareo y tinción de Phillips y Hayman (1978).



### 6.1.8 Análisis estadístico:

Los resultados del porcentaje de germinación previamente fueron transformados a valores de raíz cuadrada debido a la no normalidad de los datos. Posteriormente estos resultados y los de TMG, VG y las variables de crecimiento vegetal, fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Datos no transformados se presentan en la figura 11. La comparación de medias se realizó con la prueba de rango múltiple de Duncan ( $p < 0.05$ ), usando el paquete estadístico STATISTICA versión 8.0.

**6.2 Experimento 2:** Efecto de la doble y simple biofertilización de *Azotobacter* y micorrizas, y la aplicación de materia orgánica en el crecimiento y nutrición de papaya en fase de vivero.

#### 6.2.1 Material microbiológico:

Se utilizó la misma cepa de *Azotobacter chroococcum*, así como el mismo inóculo micorrízico descritos en el experimento 1.

#### 6.2.2 Sustratos:

Se utilizaron dos tipos de sustratos: a) sustrato con composta hecha con residuos de hojarasca (suelo: composta, en base a peso/peso, en cuatro diferentes proporciones porcentuales 100:0, 87.5:12.5, 75:25, 50:50 %, y b) sustrato con cascarilla de cacao, previamente seca y tamizada; la proporción fue hecha en base a peso/peso y se hizo en proporción porcentual 30:35:35 de arena: suelo: cascarilla de cacao. Después de

realizar las mezclas se esterilizaron en autoclave a 1.5 atm por dos horas, por tres días consecutivos. El sustrato con cascarilla de cacao es utilizado en diversos viveros de papaya de Tabasco, por ser un material disponible en la región. Las características físicas y químicas del suelo y los sustratos se describen en la Tabla 5.

### 6.2.3 Material vegetal:

Se emplearon semillas de papaya cv. Maradol previamente desinfectadas en una solución de peróxido de hidrogeno al 10% por 3 min y posteriormente fueron lavadas tres veces con agua destilada estéril. En seguida, se aplicó el tratamiento de pre-germinación descrito en el experimento 1.

Tabla 5. Propiedades físicas y químicas del suelo y los sustratos utilizados en los experimentos: Composta (12, 25, 50 %) y sustrato con cascarilla de cacao (CC).

SUSTRATOS	SUELO	Sustrato Composta			Sustrato Cascarilla Cacao	
		C-12%	C-25%	C50%	CC-35%	
<b>Textura</b>	Franco-Arcilloso	Franco-arcilloso	Franco-arcilloso	Franco	Franco-arcillo-arenoso	
<b>Arcilla (%)</b>	40	37	28	23	25	
<b>Limo (%)</b>	38	39	40	29	21	
<b>Arena (%)</b>	22	24	32	48	54	
<b>Materia orgánica (%)</b>	2,4	5,0	6,5	16,4	11,2	
<b>C/N</b>	23,89	18,67	24,88	21,56	19,29	
<b>pH</b>	7,8	7,4	7,2	7,2	6,1	
<b>N Total (%)</b>	0,1	0,2	0,3	0,9	0,6	
<b>P (mg.kg<sup>-1</sup>)</b>	22,39	446,38	513,90	566,49	66,04	
<b>K (cmol.kg<sup>-1</sup>)</b>	0,9	1,88	4,14	5,55	2,64	
<b>Ca (cmol.kg<sup>-1</sup>)</b>	16,00	22,87	22,75	14,38	29,44	
<b>Mg (cmol.kg<sup>-1</sup>)</b>	6,4	7,25	14,10	14,14	10,20	
<b>Na (cmol.kg<sup>-1</sup>)</b>	0,13	0,65	1,26	1,02	0,46	

#### 6.2.4 Inoculación y siembra en la doble biofertilización:

La aplicación de los biofertilizantes en semillas se realizó inmediatamente después del tratamiento pre-germinativo, de acuerdo a los tratamientos establecidos (Tabla 6). Para el tratamiento con *Azotobacter* las semillas se sumergieron por una hora en el inoculante líquido bacteriano. Posteriormente, las semillas se sembraron en charolas de germinación con 24 cavidades, sembrándose una semilla por cavidad y se empleó una charola por tratamiento. Las charolas fueron llenadas con el sustrato con cascarilla de cacao.

La inoculación de *G. intraradices* se aplicó directamente en el sustrato 3 g por cavidad justo antes de la siembra de la semilla. En los tratamientos con las mezclas de *A. chroococcum* + *G. intraradices*, las semillas se sumergieron por una hora en el biofertilizante bacteriano y posteriormente se sembró a razón de una semilla por cavidad, donde previamente se había inoculado cada cavidad con 3 g de *G. intraradices*.

A los treinta días después de la emergencia de las plántulas, se realizó la segunda inoculación en el trasplante a macetas plásticas de 1.5 kg. Cada maceta fue llenada con los respectivos sustratos. La inoculación de *A. chroococcum* se hizo directamente al sistema radical, aplicando 5 ml plántula<sup>-1</sup>, mientras que la aplicación de *G. intraradices* se hizo aplicando 3 g plántula<sup>-1</sup>, también al sistema radical. Para el tratamiento combinado de *A. chroococcum* y *G. intraradices* primero se aplicó los 3 g de inóculo micorrízico y después los 5 ml plántula<sup>-1</sup> del inoculante bacteriano. Las plántulas se

mantuvieron bajo una temperatura entre 26 y 38°C y una humedad relativa de 45%, con riego diario durante 60 días.

#### 6.2.5 Inoculación y siembra en la simple biofertilización:

En la inoculación simple, los biofertilizantes fueron aplicados directamente en el sistema radical de las plántulas con 30 días de crecimiento. Para la obtención de las plántulas, las semillas recibieron el tratamiento pre-germinativo descrito en el experimento 1. Posteriormente, las semillas fueron sembradas en charolas de germinación llenas con el sustrato con cascarilla de cacao y se dejaron crecer por 30 días, bajo las condiciones ambientales de vivero descritas anteriormente. Después de este tiempo, las plántulas fueron trasplantadas a macetas de 1.0 kg con los respectivos sustratos en cada tratamiento.

La biofertilización de las plántulas se realizó al momento del trasplante en el sistema radical para *A. chroococcum* y en el sustrato para *G. intraradices*, de acuerdo a cada uno de los tratamientos (Tabla 6). La biofertilización simple y combinada de *A. chroococcum* y *G. intraradices*, se realizó de igual forma que se hizo en la segunda aplicación del primer experimento.

### 6.2.6 Diseño de experimento:

En la doble y simple biofertilización se aplicó un diseño factorial con arreglo completamente al azar, evaluándose dos factores: el factor 1 con cinco niveles correspondientes al tipo de sustrato. Para el factor 2, con cuatro niveles correspondientes a los biofertilizantes aplicados solos y en combinación y un testigo sin tratar (Tabla 6). Para dar un total de 20 tratamientos con tres repeticiones cada uno.

Tabla 6. Descripción de los tratamientos experimentales.

Tratamientos	Código	Biofertilizantes	Sustratos	Proporción (%)
1	Ac+C0	<i>Azotobacter chroococcum</i>	Suelo: Composta	100:0
2	Ac+C12	<i>Azotobacter chroococcum</i>	Suelo: Composta	88:12
3	Ac+C25	<i>Azotobacter chroococcum</i>	Suelo: Composta	75:25
4	Ac+C50	<i>Azotobacter chroococcum</i>	Suelo: Composta	50:50
5	Ac+CCC	<i>Azotobacter chroococcum</i>	Arena:Suelo:Cascarilla de cacao	35:40:35
6	Gi+C0	<i>Glomus intraradices</i>	Suelo: Composta	100:0
7	Gi+C12	<i>Glomus intraradices</i>	Suelo: Composta	88:12
8	Gi+C25	<i>Glomus intraradices</i>	Suelo: Composta	75:25
9	Gi+C50	<i>Glomus intraradices</i>	Suelo: Composta	50:50
10	Gi+CCC	<i>G. intraradices</i> + <i>A. chroococcum</i>	Arena:Suelo:Cascarilla de cacao	35:40:35
11	Gi+Ac+C0	<i>G. intraradices</i> + <i>A. chroococcum</i>	Suelo: Composta	100:0
12	Gi+Ac+C12	<i>G. intraradices</i> + <i>A. chroococcum</i>	Suelo: Composta	88:12
13	Gi+Ac+C25	<i>G. intraradices</i> + <i>A. chroococcum</i>	Suelo: Composta	75:25
14	Gi+Ac+C50	<i>G. intraradices</i> + <i>A. chroococcum</i>	Suelo: Composta	50:50
15	Gi+Ac+CCC	<i>G. intraradices</i> + <i>A. chroococcum</i>	Arena:Suelo:Cascarilla de cacao	35:40:35
16	T+C0	TESTIGO	Suelo: Composta	100:0
17	T+C12	TESTIGO	Suelo: Composta	88:12
18	T+C25	TESTIGO	Suelo: Composta	75:25
19	T+C50	TESTIGO	Suelo: Composta	50:50
20	T+CCC	TESTIGO	Arena:Suelo:Cascarilla de cacao	35:40:35

### 6.2.7 Variables de crecimiento y nutrición evaluadas.

Las variables de crecimiento evaluadas a los 90 días después de la emergencia fueron: altura de la planta (cm), diámetro del tallo (mm), biomasa fresca (g) y biomasa seca (g).

El peso seco de las plantas se evaluó después de la deshidratación en estufa a 60°C durante 72 h y posteriormente se pesaron en una balanza de precisión. Para el análisis de los nutrientes, el contenido de N fue determinado por el método semi-micro Kjeldahl

(Bremmer, 1969). El contenido de P y K fueron determinados por  $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$  y fueron medidos por el método espectrofotométrico empleando la mezcla vanadomolibdica y espectrometría de absorción atómica respectivamente.

#### 6.2.8 Variables microbiológicas:

La población de *A. chroococcum* se determinó pesando 10 g de suelo rizosférico por planta y se agrego en un matraz con 100 ml de agua destilada estéril, realizando posteriormente una serie de diluciones de  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ . Se inocularon por triplicado 100  $\mu\text{l}$  de las tres últimas diluciones en cajas de petri con medio de cultivo Burk-sacarosa (BS) adicionado con Acido Nalidixico ( $20 \mu\text{g ml}^{-1}$  de medio de cultivo). El porcentaje de colonización micorrízica se evaluó usando el método de clareo y tinción de Phillips y Hayman (1978).

#### 6.2.9 Análisis estadístico:

Se realizó un ANOVA factorial y la comparación de medias se realizó con la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ ). La comparación estadística de los dos métodos se efectuó para conocer la posible variabilidad de los resultados obtenidos entre el método simple inoculación y el método de la doble inoculación, la comparación de las medias de los dos métodos se hizo aplicando la prueba t de Student para dos muestras independientes. Los datos también fueron sometidos a un análisis de Correlación Lineal de Pearson, para evaluar la relación entre los contenidos de nutrientes y el crecimiento

de las plántulas de papaya. Los análisis se realizaron usando el paquete estadístico STATISTICA Versión 8.0.

## 7. RESULTADOS

### *7.1 Experimento 1: Efecto de la biofertilización y bioreguladores en la germinación y crecimiento de papaya.*

La germinación de semillas de papaya inició al sexto día después de la siembra, en los tratamientos que se sometieron a la alternancia de temperatura. Para el tratamiento control, el día inicial de germinación se observó al décimo día (Figura 11). La aplicación de la alternancia de temperatura en las semillas de papaya incrementó los valores de todos los parámetros de germinación evaluados (porcentaje de germinación, velocidad de germinación y tiempo medio de germinación), en comparación con el tratamiento control, en el cual las semillas no se sometieron a este tratamiento pre-germinativo (Tabla 7). El tratamiento con Ac registró el mayor porcentaje de germinación (90.28 %), pero solo resultó significativamente diferente ( $p < 0.05$ ) al tratamiento Gi (76.39 %) y al tratamiento control (15.28 %) los cuales reportaron los valores más bajos de porcentaje de germinación (Tabla 7). Esto podría indicarnos que la alternancia de la temperatura fue el principal factor que influyó en la superación de la dormancia y en la promoción de la germinación, más que la aplicación de biofertilizantes y el ácido giberélico.

La máxima velocidad de germinación se registro para los tratamiento AG<sub>3</sub> y AZOS (8.99 % y 8.94 % de semillas día<sup>-1</sup> respectivamente) pero solo resultaron significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ) a los tratamientos Ac+Gi, Ac y control los cuales registraron la

velocidad de germinación más bajas con 7.53 %, 6.40 % y 1.05 % de semillas día<sup>-1</sup> respectivamente (Tabla 7). El tiempo promedio para la germinación de las semillas (TMG), se redujo de manera significativa a 10 días en las semillas que fueron tratadas con AG<sub>3</sub>, AZOS, Gi+AZOS, y Testigo en comparación con los demás tratamientos que reportaron valores desde 11 días (Ac y Ac+Gi), 12 días (Gi) y 14 días (control) (Tabla 7).

En los resultados de la Tabla 7 se puede observar que la aplicación de 500 ppm de AG<sub>3</sub> mejoró el porcentaje de germinación, la velocidad y el tiempo medio de germinación en comparación con el control, aunque no se encontraron diferencias significativas con el Testigo. Para romper la dormancia de las semillas de papaya fue necesario someterlas al tratamiento de alternancia de temperatura, y aunque la aplicación de los biofertilizantes y el ácido giberélico incrementaron los parámetros de germinación, estos resultados no fueron significativamente diferentes al Testigo el cual solo recibió la alternancia de temperatura.



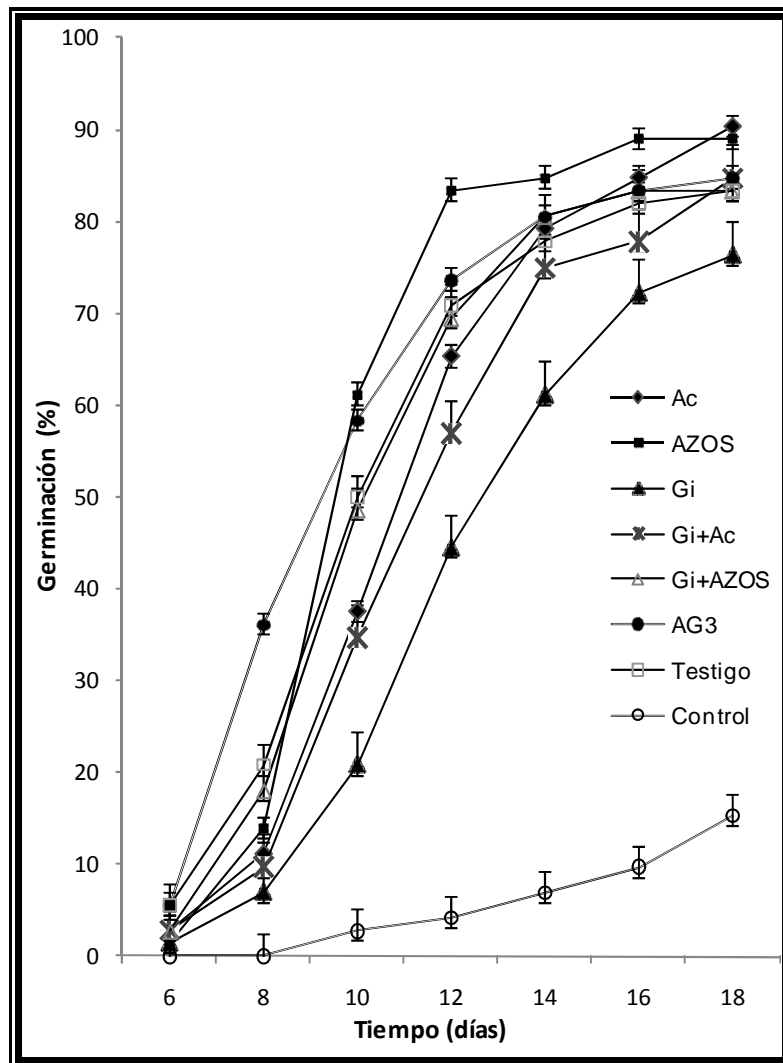


Figura 11. Germinación acumulada de semillas de papaya bajo diferentes tratamientos. Las claves de los tratamientos están descritas en la Tabla 4. Cada punto representa el promedio de los dos experimentos con tres repeticiones. Las barras de error indican el error estándar de la media.

Tabla 7. Efecto de la biofertilización y ácido giberélico en los parámetros de Germinación: Porcentaje de Germinación, Velocidad de Germinación (VG) y Tiempo Medio de Germinación (TMG).

TRATAMIENTOS	PORCENTAJE DE GERMINACIÓN	VG (Días)	TMG (Días)
Ac	90.28 a	1.95 ab	11.78 bcd
Gi+Ac	84.72 ab	1.81 b	11.95 cd
AZOS	88.89 a	2.09 a	10.50 ab
Gi+AZOS	83.33 ab	1.95 ab	10.71 abc
Gi	76.39 b	1.54 c	12.59 d
AG <sub>3</sub>	84.72 ab	2.16 a	10.02 a
TESTIGO	83.33 ab	1.99 ab	10.67 abc
CONTROL	15.28 c	0.25 d	14.98 e

Medias con letras diferentes, difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ )  $a > b > c > d > e$ . Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 4.

El efecto de los biofertilizantes y el ácido giberélico en el crecimiento de las plántulas evaluado a los 35 días después de la siembra (Figura 12), demostró que las plántulas generadas a partir de semillas tratadas con AG<sub>3</sub>, incrementaron de forma significativa ( $p < 0.05\%$ ) todos los parámetros de crecimiento evaluados, en comparación a los otros tratamientos (Tabla 8). Resultados similares fueron encontrados por Andrade-Rodríguez et al. (2008), en plántulas de papaya emergidas de semillas tratadas con una solución de 1mM de AG<sub>3</sub>, obteniéndose un incremento en la altura y en el número de hojas en comparación con el tratamiento Testigo que solo recibió agua destilada.

La inoculación de *A. chroococcum*, *A. brasilense* y *G. intraradices* solos o en combinación registraron valores de biomasa fresca y seca significativamente mayor con respecto al tratamiento testigo (Tabla 8). Por otra parte, no se encontraron diferencias significativas cuando se aplicó *A. chroococcum* simple (Ac) o en combinación con *G.*

*intraradices* (Gi) en ninguno de los parámetros de crecimiento, pero cuando se aplicó *A. brasilense* la altura de las plántulas se incrementó significativamente en comparación cuando se aplicó en combinación con *G. intraradices*. Además, la aplicación simple de *G. intraradices* no mostró diferencias en la altura ni en la biomasa fresca de las plántulas cuando se aplicó en combinación con *A. chroococcum* ni con *A. brasilense*.

En cuanto a la biomasa seca, la aplicación combinada de *A. chroococcum* y *G. intraradices* mejoró positivamente los valores de biomasa en comparación con la aplicación simple de *G. intraradices*. Similarmente, la aplicación combinada de *A. brasilense* y *G. intraradices* incrementaron de forma positiva el diámetro de tallo de las plántulas en comparación que cuando solo se aplicó *G. intraradices*. La biofertilización foliar con *Azotobacter* en cultivos como el arroz, ha registrado incrementos en el rendimiento de grano (Kannaiyan et al., 1980).

Los resultados obtenidos demuestran que la aplicación conjunta de las PGPR con HMA promueve algunos, pero no todos los parámetros del crecimiento vegetal. Similarmente, en un trabajo realizado por Alarcón et al. (2002) encontraron que la aplicación combinada de *A. brasilense* y micorrizas en plántulas de papaya, incrementaron solo los valores de biomasa seca y el área foliar en comparación con las plántulas no micorrizadas. En cultivos como el maíz (Elgala et al., 1995) y lechuga (Brown y Carr, 1984), la aplicación combinada de *A. chroococcum* y micorrizas también incrementaron algunos parámetros de crecimiento vegetal evaluados.



Figura 12. Plántulas de papaya en vivero.

Entre las PGPR y los HMA pueden establecerse diversos tipos de relaciones, desde relaciones benéficas, neutrales o perjudiciales. Estas rizobacterias pueden influenciar la formación y función de las micorrizas, de igual forma las micorrizas pueden afectar cuantitativamente y cualitativamente las poblaciones microbianas (Azcón-Aguilera y Barea, 1992, 1995; Barea et al., 2004; Johansson et al., 2004). A los 35 días después de la siembra las poblaciones de ambas rizobacterias lograron establecerse en la rizósfera de *C. papaya*. Para *A. chroococcum* la aplicación combinada con *G. intraradices* incrementó significativamente ( $p < 0.05$ ) su población que cuando esta rizobacteria se aplicó de forma simple. Mientras que para *A. brasilense* no se encontraron diferencias significativas cuando se aplicó de forma simple o en combinación con *G. intraradices* (Tabla 9).

**Tabla 8.** Efecto de la biofertilización y ácido giberélico en el crecimiento de plántulas de papaya a los 35 días después de la siembra.

Tratamientos	Altura (cm)	Diámetro Tallo (mm)	Número Hojas	Biomasa Fresca (g)	Biomasa Seca (g)
<b>Ac</b>	10.24 c	4.47 c	5.1 c	3.4659 b	0.4573 bc
<b>Gi+Ac</b>	9.95 cd	4.63 bc	5.1 c	3.6675 b	0.4748 b
<b>AZOS</b>	11.28 b	3.81 d	5.4 bc	3.4890 b	0.4463 c
<b>Gi+AZOS</b>	9.29 de	4.81 b	5.2 c	3.3946 b	0.4500 c
<b>Gi</b>	9.80 cde	4.59 c	5.9 b	3.3793 b	0.4364 c
<b>AG<sub>3</sub></b>	21.02 a	5.35 a	7.5 a	4.1776 a	0.5199 a
<b>TESTIGO</b>	9.20 e	3.66 d	5.3 c	2.3373 c	0.3380 d

Medias con letras diferentes, difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ )  $a > b > c > d > e$ . Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 4.

**Tabla 9.** Población de rizobacterias y colonización micorrízica de *C. papaya* 35 días después de la siembra en condiciones de vivero.

Tratamientos	Población de Rizobacterias (ufc g soil <sup>-1</sup> )	Colonización Micorrízica (%)
Ac	0.71X10 <sup>5</sup> a	nd
Gi+Ac	2.14X10 <sup>5</sup> a	21.87 b
AZOS	0.15X10 <sup>5</sup> b	nd
Gi+AZOS	0.27X10 <sup>5</sup> b	26.67 a
Gi	nd	18.53 b
AG <sub>3</sub>	nd	nd
TESTIGO	nd	nd

Medias con letras diferentes, difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ )  $a > b$ . Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 4.

La evaluación de la infección micorrízica en raíces de papaya a los 35 días después de la inoculación, indicaron que el tratamiento combinado de HMA con *A. brasilense* reportó el mayor porcentaje de infección (26.67%) y difirió significativamente ( $p < 0.05$ ) con los tratamientos restantes que también recibieron HMA. Asimismo, en la aplicación simple de HMA, el porcentaje de colonización micorrízica no difirió significativamente

cuando se aplicó en combinación con *A. chroococcum*, pero si cuando se aplicó en combinación con *A. brasilense* (Tabla 9). La respuesta de la planta a la inoculación con HMA dependerá del nivel de fertilidad del suelo, de la planta hospedera y del hongo (Sharda y Rodríguez 2008). El bajo porcentaje de colonización micorrízica registrado aquí, en todos los tratamientos, pudo haber sido ocasionado por el alto contenido de P en el sustrato (Tabla 5).

**7.2 Experimento 2:** Efecto de la doble y simple biofertilización de *Azotobacter* y micorrizas, y la aplicación de materia orgánica en el crecimiento y nutrición de papaya.

7.2.1 Efecto de la doble biofertilización y la materia orgánica en el crecimiento vegetal.

Las variables de crecimiento se evaluaron a los 90 días después de la siembra (Figura 13). La altura promedio de las plántulas fue de 26.0 cm y fue significativamente afectada por la interacción entre la materia orgánica y el tipo de biofertilizante ( $p < 0.05$ ). Específicamente, las plántulas crecidas en el sustrato con 25% de composta e inoculadas solo con HMA (Gi) presentaron la mayor altura (29.6 cm) (Tabla 10). El efecto independiente de la adición de materia orgánica fue significativamente diferente ( $p < 0.05$ ) y las plántulas crecidas en los sustratos con 50 y 25% de composta (C50 y C25) presentaron la mayor altura (27.2 y 27.0 cm, respectivamente) (Tabla 11). En el factor biofertilizante, la aplicación de *Azotobacter* afectó negativamente la altura de las plántulas en comparación a los demás tratamientos (Tabla 12).

El diámetro de tallo promedio fue de 13.1 mm y también fue significativamente afectado por la interacción entre la materia orgánica y el tipo de biofertilizante ( $p < 0.05$ ). Específicamente, las plantas crecidas en sustrato CC y que recibieron una simple inoculación de micorrizas (Gi+CC), resultaron con un mayor diámetro (15.2 mm) y fueron significativamente mayor a los demás tratamientos ( $p < 0.05$ ) (Tabla 10). El efecto independiente de la adición de materia orgánica presentó diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), donde el mayor efecto se debió a la adición del sustrato CC, con un valor de 13.9 mm (Tabla 11). En cuanto al efecto del biofertilizante, el mayor efecto se debió a la inoculación combinada de HMA y *Azotobacter* (Gi+Ac), con un valor de 13.5 mm (Tabla 12).

#### 7.2.2 Efecto de la doble biofertilización y la materia orgánica en la producción de Biomasa

La aplicación de materia orgánica incrementó la acumulación de biomasa fresca, obteniéndose en promedio 33.6 g plántula<sup>-1</sup> y fue significativamente afectada por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante ( $p < 0.05$ ). Específicamente, las plántulas crecidas en sustrato CC y que fueron inoculadas con HMA (Gi+CC) acumularon la mayor biomasa fresca (47.0 g) (Tabla 10). Asimismo, el efecto independiente de la adición de materia orgánica, presentó diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), pero el mayor efecto se debió a la adición del sustrato CC (37.7 g) (Tabla 11). De igual forma, el efecto independiente del biofertilizante afectó significativamente la biomasa fresca ( $p < 0.05$ ), pero el mayor efecto se debió a la aplicación simple de HMA (Gi) (35.7 g) (Tabla 12).

La biomasa seca promedio obtenida fue de 3.74 g plántula<sup>-1</sup> y fue significativamente afectada por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante ( $p < 0.05$ ). Específicamente, las plántulas crecidas en sustrato CC y que fueron inoculadas con HMA (Gi+CC) y con *Azotobacter* (Ac+CC), acumularon la mayor biomasa seca (4.60 y 4.55 g, respectivamente) (Tabla 10). Asimismo, el efecto independiente de la adición de materia orgánica fue significativo ( $p < 0.05$ ), pero el sustrato CC acumuló el mayor contenido de biomasa seca (4.25 g) (Tabla 11). En cuanto al efecto del tipo de biofertilizante, también se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), pero el mayor efecto se debió a la inoculación simple de HMA (Gi) y en combinación con *Azotobacter* (Gi+Ac), con valores de 4.18 y 3.96 g, respectivamente (Tabla 12).



**Figura 13.** Plantas de papaya en vivero, (Ecosur).



### 7.2.3 Efecto de la doble biofertilización y la materia orgánica en la nutrición vegetal.

El contenido promedio de nitrógeno en tejido vegetal fue de 2.25% y fue afectado significativamente por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante ( $p < 0.05$ ). Específicamente, las plántulas crecidas en el sustrato con 12% de composta e inoculadas independientemente con *Azotobacter* y HMA (Ac+C12 y Gi+C12) registraron los mayores contenidos de nitrógeno vegetal (2.91 y 2.76 %, respectivamente) (Tabla 10). El efecto independiente de la adición de materia orgánica también fue significativo ( $p < 0.05$ ), donde las plántulas crecidas en los sustratos con composta al 12%, sustrato CC y composta al 25% (C12, CC y C25), obtuvieron los mayores contenidos de nitrógeno (2.50, 2.34 y 2.27%, respectivamente) (Tabla 11). De igual forma, el efecto independiente del tipo de biofertilizante, fue significativo ( $p < 0.05$ ) pero el mayor efecto se debió a la aplicación simple de HMA y su combinación con *Azotobacter* (Gi y Gi+Ac) (2.49 y 2.33 %, respectivamente) (Tabla 12).

El contenido promedio de fósforo fue de 0.24 % y también fue afectado significativamente por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante ( $p < 0.05$ ). Específicamente, las plántulas crecidas en los sustratos con 50% de composta y sustrato CC, e inoculadas independiente con *Azotobacter* y HMA (Ac+C50 y Gi+CC) y en combinación (Gi+Ac+C50), resultaron con los mayores contenidos de fósforo vegetal (0.32, 0.30 y 0.30 %, respectivamente) (Tabla 7). El efecto independiente de la adición de materia orgánica también fue significativo ( $p < 0.05$ ), pero el mayor efecto de igual forma se debió a la aplicación de composta al 50% y sustrato

CC (C50 y CC) (0.29 y 0.28 %, respectivamente) (Tabla 8). En contraste, el efecto independiente de la aplicación de biofertilizantes no fue significativamente diferente ( $p=0.8501$ ) (Tabla 9).

**Tabla 10. Efecto de la interacción de la materia orgánica y Biofertilizantes en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia; aplicando una doble biofertilización (en semilla y a los 30 días después de la emergencia).**

Tratamientos	Parámetros Crecimiento y Biomasa								Parámetros de Nutrición					
	Altura (cm)	Diámetro de Tallo (mm)		Biomasa Fresca (g)		Biomasa Seca (g)		N (%)	P (%)	K (%)				
Ac+C0	20,6	h	11,7	i	26,9	j	2,37	i	1,30	f	0,10	j	0,91	n.s.
Ac+C12	22,4	gh	12,8	efgh	28,3	hij	2,78	hi	2,91	a	0,22	efghi	1,62	n.s.
Ac+C25	24,1	efg	13,0	defgh	28,8	ghij	3,54	efg	2,24	bcde	0,28	abcd	1,06	n.s.
Ac+C50	23,4	fg	13,1	bc	28,0	ij	3,78	cdefg	1,67	ef	0,32	a	1,37	n.s.
Ac+CC	23,3	fg	13,8	bcd	36,7	bc	4,55	a	2,18	bcde	0,27	abcde	1,02	n.s.
Gi+C0	24,6	defg	12,1	hi	31,6	defghi	4,14	abcd	2,18	bcde	0,21	fghi	1,18	n.s.
Gi+C12	25,1	def	13,1	cdefg	32,6	defg	4,10	abcde	2,76	ab	0,23	cdefg	1,59	n.s.
Gi+C25	29,6	a	12,5	fghi	35,2	bcd	4,49	ab	2,51	abcd	0,22	defgh	1,35	n.s.
Gi+C50	27,9	abc	12,5	fghi	32,1	defgh	3,58	defg	2,63	abc	0,25	bcdefg	1,68	n.s.
Gi+CC	28,5	abc	15,2	a	47,0	a	4,60	a	2,35	abcd	0,30	ab	1,66	n.s.
Gi+Ac+C0	26,7	bcd	12,8	efgh	30,8	efghij	3,74	cdefg	2,24	bcde	0,19	hi	1,06	n.s.
Gi+Ac+C12	28,8	ab	13,4	cdef	34,5	bcdef	3,88	cdef	2,33	abcd	0,19	ghi	1,01	n.s.
Gi+Ac+C25	28,0	abc	13,7	bcde	34,8	bcde	4,32	abc	2,25	bcde	0,26	bcdef	1,14	n.s.
Gi+Ac+C50	28,9	ab	14,4	ab	37,0	b	3,92	bcdef	2,44	abcd	0,30	ab	1,22	n.s.
Gi+Ac+CC	25,1	def	13,3	cdefg	32,8	cdefg	3,94	bcdef	2,38	abcd	0,28	abcde	1,38	n.s.
T+C0	25,1	def	12,0	ghi	27,2	j	2,80	hi	2,19	bcde	0,16	i	1,25	n.s.
T+C12	26,8	bcd	12,7	defgh	29,4	ghij	3,29	gh	2,02	cde	0,24	bcdefgh	1,30	n.s.
T+C25	26,2	ced	13,0	bcd	30,5	fghij	3,44	fg	2,09	cde	0,27	abcde	1,50	n.s.
T+C50	28,5	ab	13,1	defgh	32,4	defgh	3,62	defg	1,89	de	0,29	abc	1,54	n.s.
T+CC	26,9	bcd	13,4	ab	34,5	bcdef	3,92	bcdef	2,45	abcd	0,28	abcd	1,50	n.s.

Medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ ). (n.s.= no significativo a  $p < 0.05$ ). Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 6.

**Tabla 11.** Efecto independiente de la materia orgánica en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia de las plántulas; aplicando una doble biofertilización (en semilla y a los 30 días después de la emergencia).

Tratamientos	Parámetros de Crecimiento y Biomasa				Parámetros de Nutrición		
	Altura (cm)	Diámetro de Tallo (mm)	Biomasa Fresca (g)	Biomasa Seca (g)	N (%)	P (%)	K (%)
C0	24,3 c	12,1 c	29,1 c	3,3 d	1,98 c	0,17 d	1,10 b
C12	25,8 b	13,0 b	31,2 b	3,5 cd	2,50 a	0,22 c	1,38 a
C25	27,0 a	13,0 b	32,3 b	3,9 b	2,27 ab	0,26 b	1,26 ab
C50	27,2 a	13,3 b	32,4 b	3,7 bc	2,16 bc	0,29 a	1,45 a
CC	26,0 b	13,9 a	37,7 a	4,3 a	2,34 ab	0,28 ab	1,39 a

Medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ ). Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 6.

**Tabla 12.** Efecto independiente del tipo de Biofertilizante en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia de las plántulas; aplicando una doble biofertilización (en semilla y a los 30 días después de la emergencia).

Tratamientos	Parámetros de Crecimiento y Biomasa				Parámetros de Nutrición		
	Altura (cm)	Diámetro de Tallo (mm)	Biomasa Fresca (g)	Biomasa Seca (g)	N (%)	P (%)	K (%)
Ac	22,8 b	12,9 b	29,8 c	3,4 b	2,06 c	0,24 n. s.	1,20 b
Gi	27,1 a	13,1 b	35,7 a	4,2 a	2,49 a	0,24 n. s.	1,49 a
Gi+Ac	27,5 a	13,5 a	34,0 b	4,0 a	2,33 ab	0,24 n. s.	1,16 b
TESTIGO	26,7 a	12,8 b	30,8 c	3,4 b	2,13 bc	0,25 n. s.	1,42 a

Medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ ). (n.s.= no significativo a  $p < 0.05$ ). Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 6.

El contenido promedio de potasio fue de 1.32% pero no fue afectado significativamente por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante ( $p = 0.1122$ ) (Tabla 7). En

contraste, el efecto independiente de la adición de materia orgánica fue significativo ( $p < 0.05$ ), en el cual, la no adición de materia orgánica disminuyó el contenido de potasio en las plántulas, en comparación con los tratamientos que si recibieron materia orgánica (Tabla 8). En cuanto al efecto independiente de los biofertilizantes, también resulto significativo ( $p < 0.05$ ), pero la aplicación de *Azotobacter* solo y en combinación con HMA (Ac y Gi+Ac) decrecieron los contenidos de potasio vegetal, con respecto a los demás tratamientos (Tabla 9).

#### 7.2.4 Estudio de correlación de la doble biofertilización:

Los resultados de los análisis de correlación de Pearson están presentados en la Tabla 13, donde los datos de las variables de crecimiento y biomasa (altura, diámetro de tallo, biomasa fresca y biomasa seca), están relacionados significativamente con el contenido de fósforo foliar; aunque la correlación mas alta se registró entre el fósforo foliar y la biomasa seca ( $r = 0.460$ ) y el diámetro de tallo ( $r = 0.590$ ) a un valor de significancia de  $p < 0.01$  (Figura 14). Por otra parte, también se observó que el contenido de nitrógeno y potasio foliar no están correlacionados con ninguna de las variables de crecimiento y biomasa (Tabla 13).

Tabla 13. Correlación entre el contenido de nutrientes y los parámetros de crecimiento y biomasa en la doble biofertilización.

Variables	Altura	Diámetro Tallo	Biomasa Fresca	Biomasa seca	Nitrógeno	Fósforo	Potasio
<b>Crecimiento y Biomasa</b>							
Altura	1	0,466*	0,552*	0,470*	0,238	0,294*	0,167
Diámetro de Tallo	0,466*	1	0,781*	0,546*	0,177	0,590*	0,181
Biomasa Fresca	0,552*	0,781*	1	0,667*	0,190	0,392*	0,082
Biomasa Seca	0,470*	0,546*	0,667*	1	0,194	0,460*	0,102
<b>Contenido de nutrientes</b>							
Nitrógeno	0,238	0,177	0,190	0,194	1	0,175	0,387*
Fósforo	0,294	0,590*	0,392*	0,460*	0,175	1	0,374*
Potasio	0,167	0,181	0,082	0,102	0,387*	0,374*	1

\*Correlación de Pearson significativa a  $p < 0.01$

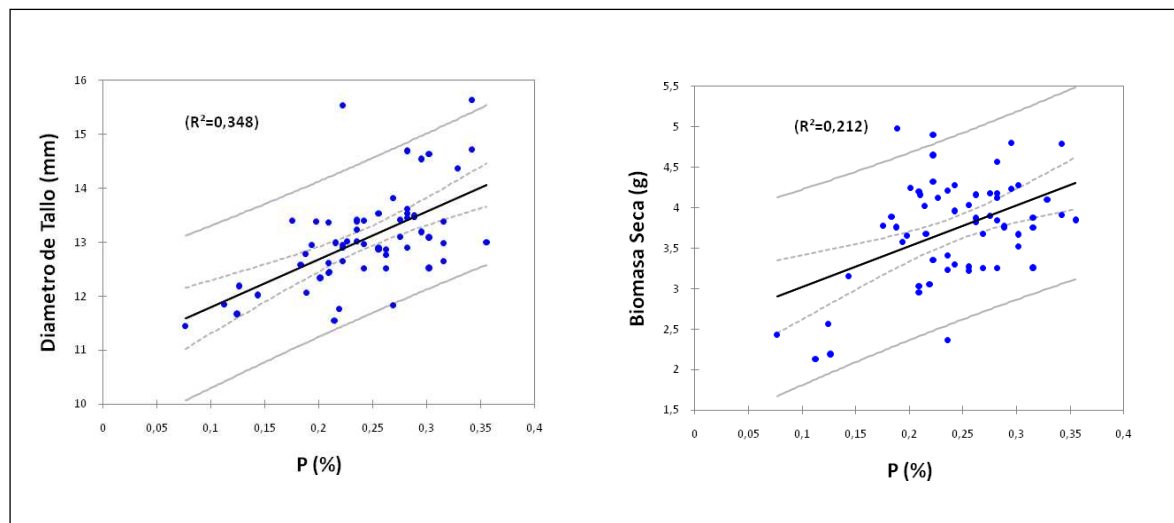


Figura 14. Relación entre el contenido de fósforo foliar y el diámetro de tallo (A) y entre la biomasa seca (B), ( $p < 0.05$ ).

### 7.2.5 Efecto de la simple biofertilización y la materia orgánica en el crecimiento vegetal.

La altura promedio de las plántulas que recibieron una simple biofertilización en etapa de plántula fue 22.2 cm y es significativamente menor ( $p < 0.05$ ) a las que recibieron una doble biofertilización en el experimento 1. La altura de las plántulas en la simple biofertilización fue significativamente afectada por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante ( $p < 0.05$ ). Específicamente, las plántulas crecidas en el sustrato con 25% de composta y que fueron inoculadas independientemente con HMA y con *Azotobacter* (Gi+C25 y Ac+C25), fueron más altas que en los demás tratamientos (29.3 y 28.4 cm, respectivamente) (Tabla 14). El efecto independiente de la adición de materia orgánica fue significativo ( $p < 0.05$ ), pero el mayor efecto se debió a la aplicación de composta al 25% (25.5 cm) (Tabla 15). De igual forma, el efecto independiente de los biofertilizantes fue significativo ( $p < 0.05$ ), pero la aplicación independiente de HMA (Gi) registró la mayor altura con respecto a los otros tratamientos (24.7 cm) (Tabla 16).

El diámetro de tallo promedio de las plántulas que recibieron una simple biofertilización en etapa de plántula fue 8.2 mm y es significativamente menor ( $p < 0.05$ ) a las que recibieron una doble biofertilización. El diámetro de tallo de las plántulas en la simple biofertilización fue significativamente afectada por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante ( $p < 0.05$ ). Específicamente, las plántulas crecidas en sustrato CC y que fueron inoculadas solo con HMA (Gi+CC), registraron el mayor diámetro de tallo con 10.4 mm (Tabla 14). El efecto independiente de la adición de materia orgánica fue significativo ( $p < 0.05$ ), pero el mayor efecto se debió a la aplicación de sustrato CC y

composta al 25% (9.0 y 8.7 mm, respectivamente) (Tabla 15). El efecto independiente de la aplicación sola y combinada de HMA (Gi y Gi+Ac), incrementaron significativamente el diámetro de tallo con respecto a los demás tratamientos (8.8 y 8.5 mm, respectivamente) (Tabla 16).

#### 7.2.6 Efecto de la simple biofertilización y la materia orgánica en la producción de biomasa.

La acumulación promedio de biomasa fresca y seca de las plántulas que recibieron una simple biofertilización es significativamente menor a las que recibieron una doble biofertilización ( $p < 0.05$ ). De igual forma, la biomasa seca y fresca de las plántulas con una simple biofertilización fue afectada significativamente por la interacción entre la materia orgánica y los biofertilizantes. Específicamente, las plántulas crecidas en sustrato CC y que fueron inoculadas solo con HMA (Gi+CC), registraron la mayor biomasa en fresco y seco (biomasa fresca=23.99 g, biomasa seca=2.52 g) (Tabla 14). El efecto independiente de la adición de materia orgánica fue significativo, pero el mayor efecto en la biomasa fresca y seca se observó con la adición de sustrato CC (biomasa fresca=17.37g y biomasa seca=1.99 g) (Tabla 15). En el factor biofertilizante, la aplicación simple de HMA (Gi) registró la mayor acumulación de biomasa fresca y seca (biomasa fresca=15.0g, biomasa seca=1.76g) y fue significativamente mayor a los demás tratamientos ( $p < 0.05$ ) (Tabla 16).



### 7.2.7 Efecto de la simple biofertilización y la materia orgánica en la nutrición vegetal

El contenido promedio de nitrógeno en las plántulas con simple biofertilización fue de 2.5% pero no es significativamente diferente ( $p=0.972$ ) al contenido de N registrado en las plántulas con doble biofertilización. En la biofertilización simple el contenido de N fue significativamente afectado por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante ( $p<0.05$ ). Específicamente, las plántulas crecidas en sustrato CC y que fueron inoculadas con HMA en combinación con *Azotobacter* y HMA solas (Gi+Ac+CC y Gi+CC), obtuvieron los mayores contenidos de nitrógeno en tejido vegetal (3.82 y 3.70 %, respectivamente) (Tabla 14). El efecto independiente de la adición de materia orgánica sustrato fue significativo, pero el mayor efecto se debió a la adición de sustrato CC (3.24%) (Tabla 15). De igual forma, el efecto independiente de la inoculación combinada de HMA y *Azotobacter* (Gi+Ac), incrementaron significativamente el contenido de nitrógeno con respecto a los otros tratamientos (3.12%) (Tabla 16).

El contenido promedio de fósforo en tejido vegetal, en las plántulas con simple biofertilización fue de 0.26 % pero no es significativamente diferente al contenido de P en las plántulas con doble biofertilización ( $p=0.909$ ). Por otra parte, el contenido de P en la simple biofertilización fue afectada significativamente por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante. Específicamente, las plántulas crecidas en sustrato CC que fueron inoculadas solo con HMA (Gi+CC), registraron el mayor contenido de P (0.41%) (Tabla 14). El efecto independiente de la adición de materia orgánica fue significativo, pero el mayor efecto se debió a la adición de sustrato CC (0.40 %) (Tabla

15). En cuanto al efecto de los biofertilizantes, la inoculación de micorrizas combinada con *Azotobacter* y la inoculación sola de HMA (Gi+Ac y Gi), promovieron la mayor acumulación de P en tejido vegetal (0.29 y 0.28%, respectivamente) (Tabla 16).

El contenido promedio de potasio en tejido vegetal en las plántulas con simple biofertilización fue de 1.43% pero no es significativamente diferente ( $p=0.067$ ) al contenido de K en las plántulas con doble biofertilización. En la simple biofertilización, el contenido de K no fue afectado significativamente por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante ( $p=0.4837$ ) (Tabla 14). En contraste, el efecto independiente de la adición de materia orgánica fue significativo ( $p<0.05$ ), pero el mayor efecto se debió a la adición de sustrato CC y composta al 50% (CC y C50) (Tabla 15). De igual forma, el efecto de los biofertilizantes no fue significativo en el contenido de potasio vegetal ( $p=0.3500$ ) (Tabla 16). En la doble y simple inoculación, los mejores resultados correspondieron a la aplicación de 35% de cascarilla de cacao más la inoculación de *G. intraradices* de forma independiente.

**Tabla 14.** Efecto de la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia; aplicando una simple biofertilización (30 días después de la emergencia).

Tratamientos	Parámetros de Crecimiento y Biomasa						Parámetros de Nutrición							
	Altura (cm)		Diámetro de Tallo (mm)		Biomasa Fresca (g)		Biomasa Seca (g)		N (%)		P (%)		K (%)	
Ac+C0	20,2	fgh	7,2	fg	6,9	hi	1,1	hi	1,76	h	0,11	i	1,23	n.s.
Ac+C12	18,9	h	7,5	ef	7,8	ghi	1,3	fgh	3,17	cd	0,16	ghi	1,08	n.s.
Ac+C25	28,4	ab	9,0	bc	16,6	b	2,0	b	2,90	de	0,23	ef	1,23	n.s.
Ac+C50	20,5	fgh	7,6	ef	11,2	de	1,5	def	1,54	hi	0,33	bc	1,37	n.s.
Ac+CC	22,3	ef	8,4	bcde	15,7	b	1,9	bc	3,20	cd	0,36	abc	1,86	n.s.
Gi+C0	20,2	fgh	7,3	fg	8,7	fgh	1,2	fgh	1,15	i	0,17	ghi	1,12	n.s.
Gi+C12	21,6	efg	7,8	ef	9,4	efg	1,4	efg	1,75	h	0,17	ghi	1,37	n.s.
Gi+C25	29,3	a	9,0	bcd	17,5	b	2,0	bc	3,02	cde	0,26	de	1,57	n.s.
Gi+C50	27,1	bc	8,2	bcdef	15,5	b	1,7	cd	1,23	i	0,38	ab	1,88	n.s.
Gi+CC	25,1	cd	10,4	a	24,0	a	2,5	a	3,70	ab	0,41	a	1,65	n.s.
Gi+Ac+C0	20,1	fgh	8,0	cdef	9,3	efg	1,2	gh	2,35	fg	0,18	fgh	1,38	n.s.
Gi+Ac+C12	20,8	fgh	9,0	bcd	10,9	de	1,3	efgh	2,73	ef	0,22	efg	1,39	n.s.
Gi+Ac+C25	22,3	ef	9,1	bc	13,2	c	1,3	fgh	3,38	bc	0,31	cd	1,53	n.s.
Gi+Ac+C50	21,9	efg	9,1	bc	13,5	c	1,5	def	3,34	bc	0,34	bc	1,70	n.s.
Gi+Ac+CC	19,5	gh	9,1	b	13,4	c	1,6	def	3,82	a	0,39	ab	1,50	n.s.
T+C0	15,9	i	6,5	g	4,8	j	0,8	j	1,18	i	0,14	hi	1,05	n.s.
T+C12	18,5	h	6,5	g	6,5	ij	0,8	ij	1,49	hi	0,16	ghi	1,01	n.s.
T+C25	22,2	ef	7,7	ef	10,7	def	1,2	fgh	2,71	ef	0,19	fgh	1,31	n.s.
T+C50	23,6	de	8,0	def	11,9	cd	1,5	def	3,38	bc	0,37	abc	1,57	n.s.
T+CC	26,6	bc	8,0	def	16,4	b	1,9	bc	2,28	g	0,41	a	1,89	n.s.

Medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ ). (n.s.= no significativo a  $p < 0.05$ ). Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 6.

**Tabla 15.** Efecto independiente de la materia orgánica en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia; aplicando una simple biofertilización (30 días después de la emergencia).

Tratamientos	Parámetros de Crecimiento y Biomasa				Parámetros de Nutrición		
	Altura (cm)	Diámetro Tallo (mm)	Biomasa Fresca (g)	Biomasa Seca (g)	N (%)	P (%)	K (%)
C0	19.1 c	7.3 c	7.4 e	1.0 d	1.61 d	0.15 d	1.19 c
C12	19.9 c	7.7 c	8.6 d	1.2 c	2.28 c	0.18 d	1.21 c
C25	25.5 a	8.7 a	14.5 b	1.6 b	3.00 b	0.25 c	1.41 bc
C50	23.3 b	8.2 b	13.0 c	1.5 b	2.37 c	0.35 b	1.63 ab
CC	23.4 b	9.0 a	17.4 a	2.0 a	3.25 a	0.39 a	1.72 a

Medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ ). Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 6.

**Tabla 16.** Efecto independiente del tipo de Biofertilizante en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia; aplicando una doble biofertilización (30 días después de la emergencia).

Tratamientos	Parámetros de Crecimiento y Biomasa				Parámetros de Nutrición		
	Altura (cm)	Diámetro Tallo (mm)	Biomasa Fresca (g)	Biomasa Seca (g)	N (%)	P (%)	K (%)
Ac	22,1 b	7,9 b	11,6 b	1,6 b	2,51 b	0,24 b	1,35 n. s
Gi	24,7 a	8,5 a	15,0 a	1,8 a	2,17 c	0,28 a	1,52 n. s
Gi+Ac	20,9 c	8,8 a	12,1 b	1,3 c	3,12 a	0,29 a	1,50 n. s
TESTIGO	21,4 bc	7,3 c	10,1 c	1,2 c	2,21 c	0,25 b	1,37 n. s

Medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ ). (n.s.= no significativo a  $p < 0.05$ ). Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 6.

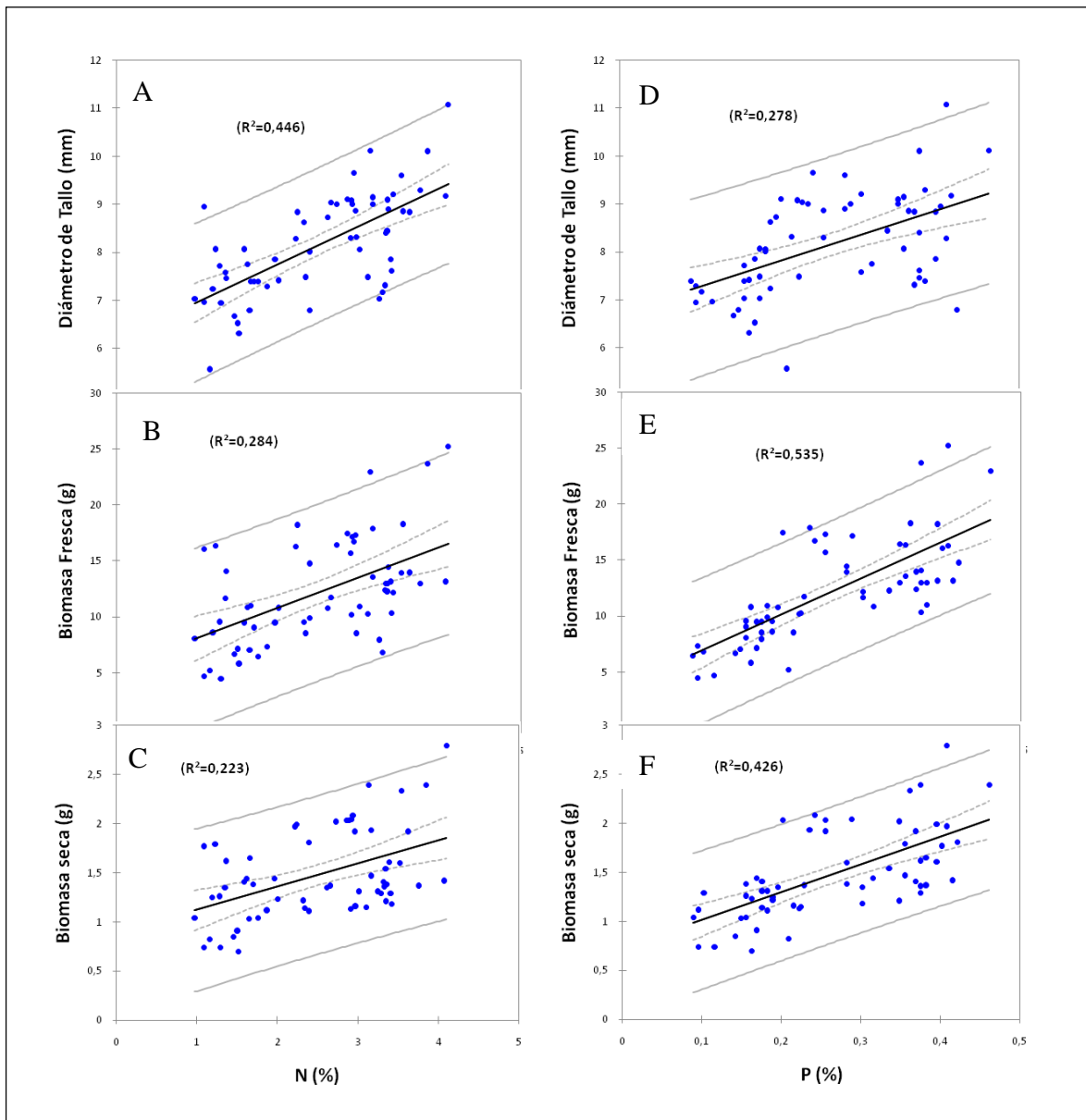
### 7.2.8 Estudio de correlación de la simple biofertilización:

Los resultados de los análisis de correlación de Pearson están presentados en la Tabla 17. Donde los datos de las variables de crecimiento y biomasa (altura, diámetro de tallo, biomasa fresca y biomasa seca), presentan una relación lineal positiva con el contenido de nitrógeno, fósforo y potasio foliar. Con excepción del nitrógeno y la altura donde no se encontró una relación significativa ( $r=0.254$ ). Las correlaciones mas altas se observaron entre el nitrógeno con la biomasa fresca( $r=0.533$ ), con la biomasa seca ( $r=0.472$ ) y con el diámetro de tallo ( $r=0.668$ ), y entre el fósforo con la biomasa fresca ( $r=0.732$ ), con el diámetro de tallo ( $r=0.528$ ) y con la biomasa seca ( $r=0.652$ ), a un nivel de significancia de  $p<0.01$  (Figura 15).

Tabla 17. Correlación entre los parámetros de contenido de nutrientes y crecimiento y biomasa, en la simple biofertilización.

Variables	Altura	Diámetro de tallo	Biomasa Fresca	Biomasa Seca	Nitrógeno	Fósforo	Potasio
<b>Parámetros de Crecimiento y biomasa</b>							
Altura	1	0,449*	0,737*	0,721*	0,254	0,467*	0,435*
Diámetro de tallo	0,449*	1	0,807*	0,718*	0,668*	0,528*	0,415*
Biomasa Fresca	0,737*	0,807*	1	0,943*	0,533*	0,732*	0,482*
Biomasa Seca	0,721*	0,718*	0,943*	1	0,472*	0,652*	0,395*
<b>Parámetros de Nutrición</b>							
Nitrógeno	0,254	0,668*	0,533*	0,472*	1	0,463*	0,317
Fósforo	0,467*	0,528*	0,732*	0,652*	0,463*	1	0,590*
Potasio	0,435*	0,415*	0,482*	0,395*	0,317	0,590*	1

\*Correlación de Pearson significativa a  $p<0.01$ .



**Figura 15.** Relación entre el contenido de nitrógeno foliar y el diámetro de tallo (A), la biomasa fresca (B) y biomasa seca (C) y entre el fósforo foliar y el diámetro de tallo (D), la biomasa fresca (E) y la biomasa seca (F), ( $p < 0.05$ ).

### 7.2.9 Efecto de la doble y simple biofertilización y la materia orgánica en la población de *A. chroococcum* y en la colonización de *G. intraradices*.

El efecto de la inoculación simple y combinada de los biofertilizantes y de la materia orgánica en la población de *A. chroococcum* y en la colonización de *G. intraradices* se evaluó de forma independiente. A los 90 días después de la siembra, aplicando una doble biofertilización se encontró una mayor población de *Azotobacter* con la aplicación de dosis bajas de materia orgánica. Por lo que la población de *A. chroococcum* fue mayor a menor contenido de materia orgánica adicionada, siendo los tratamientos Ac+C12 y Gi+Ac+C12 los que registraron una concentración bacteriana significativamente mayor a los demás tratamientos ( $p < 0.05$ ).

En los tratamientos donde se adicionó mayores dosis de materia orgánica (25, 35 y 50%), y en el tratamiento sin adición de materia orgánica, se observó que la población de *A. chroococcum* fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) cuando se aplicó sin combinación con *G. intraradices* (Tabla 18). En cuanto a la simple biofertilización, no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los tratamientos evaluados, por lo que ni la adición de materia orgánica ni la aplicación combinada con *G. intraradices*, tuvieron un efecto en la concentración de la población de *A. chroococcum* (Tabla 18). De igual forma, no se encontraron diferencias significativas en la población de *Azotobacter* al aplicar una doble o una simple biofertilización (de acuerdo a la prueba t de Student,  $p > 0.05$ ).

La evaluación de la infección micorrízica en raíces de papaya aplicando una doble biofertilización, indicó que la adición de materia orgánica en porcentajes de 25, 35 y 50% estimuló una mayor colonización. Específicamente los tratamientos Gi+CC, Gi+C50 y Gi+Ac+C25 reportaron los mayores porcentajes de colonización (61.58, 57.59, 56.69 y 54.94 %, respectivamente). En general, la aplicación simple de *G. intraradices* registró una mayor colonización en comparación cuando se aplicó en combinación con *A. chroococcum* (Tabla 18). En la biofertilización simple se observó el mismo efecto, registrándose una mayor colonización con la adición de 25, 35 y 50% de materia orgánica. Los tratamientos Gi+CC, Gi+C50, Gi+Ac+C25 y Gi+Ac+C50 reportaron los valores más altos de colonización, mientras que en los tratamientos sin adición de materia orgánica se observaron los valores más bajos de colonización micorrízica (Tabla 18). Por otra parte, también se encontró que la aplicación de una doble inoculación fue significativamente mayor que la aplicación de una simple inoculación (de acuerdo a la prueba t de Student,  $p < 0.05$ ).



**Tabla 18** Efecto de la inoculación simple y combinada de los biofertilizantes y la materia orgánica en la población de *A. chroococcum* y en la colonización de *G. intraradices*.

Tratamientos	Población de Rizobacterias (ufc g soil <sup>-1</sup> )		Colonización Micorrízica (%)	
	Doble Inoculación	Simple Inoculación	Doble Inoculación	Simple Inoculación
Ac+C0	3,78 X10 <sup>5</sup> b	4,46X10 <sup>4</sup> n.s.	-	-
Ac+C12	4,29 X10 <sup>5</sup> a	1,60X10 <sup>4</sup> n.s.	-	-
Ac+C25	1,37 X10 <sup>5</sup> d	1,39X10 <sup>4</sup> n.s.	-	-
Ac+C50	7,96 X10 <sup>4</sup> e	2,46X10 <sup>4</sup> n.s.	-	-
Ac+CC	9,41 X10 <sup>4</sup> e	1,39X10 <sup>4</sup> n.s.	-	-
Gi+C0	-	-	31,44 f	26,20 e
Gi+C12	-	-	35,63 ef	29,69 de
Gi+C25	-	-	51,02 c	34,01 bc
Gi+C50	-	-	57,59 ab	38,40 a
Gi+CC	-	-	61,58 a	41,06 a
Gi+Ac+C0	3,31 X10 <sup>5</sup> c	2,42X10 <sup>4</sup> n.s.	24,16 g	20,13 f
Gi+Ac+C12	4,23 X 10 <sup>5</sup> a	3,31X10 <sup>4</sup> n.s.	39,47 d	32,89 cd
Gi+Ac+C25	3,61 X10 <sup>4</sup> f	1,92X10 <sup>4</sup> n.s.	56,69 abc	37,79 ab
Gi+Ac+C50	2,24 X10 <sup>4</sup> fg	1,67X10 <sup>4</sup> n.s.	54,94 bc	36,63 abc
Gi+Ac+CC	1,47 X10 <sup>4</sup> g	1,77X10 <sup>4</sup> n.s.	39,47 e	26,32 e

Medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ ). n.s.= no significativo a  $p < 0.05$ .

## 8. DISCUSIÓN

### *8.1 Efecto de la biofertilización y bioreguladores en la germinación y crecimiento de papaya*

De acuerdo a Vleeshouwers *et al.* (1995) la temperatura puede inducir o romper la dormancia de las semillas. En *Carica papaya* se ha observado una estrecha correlación entre los ciclos de temperatura y la pérdida de la dormancia (Tokuhisa *et al.*, 2006). Los resultados obtenidos aquí sugieren que la germinación de semillas de papaya mejora al someterlas a una temperatura menor a la cual geminan antes de la siembra. Resultados similares fueron encontrados por Furatani y Nagao (1989), al someter las semillas a un tratamiento de pre-acondicionamiento a 24 °C antes de la germinación a 32 °C.

De acuerdo a Carvalho y Nacagawa (2000), la acción de bajas temperaturas aunado a una alta humedad está relacionada con cambios en el equilibrio entre hormonas inhibitoras (ácido abscísico) y promotoras de la germinación (giberelinas). Asimismo, la eliminación de la sarcotesta mejora la germinación, ya que esta puede actuar como una barrera evitando la lixiviación de las sustancias inhibitoras de la germinación (principalmente compuestos fenólicos), durante la inmersión de las semillas en agua (Lange, 1961; Tokuhisa *et al.*, 2006).

El ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) es uno de los bioregulador más usados comercialmente, posee más de un sitio de acción en la estructura de la semilla y está directamente relacionado con la terminación de la latencia del embrión, con la velocidad de germinación de semillas y el crecimiento inicial de las plántulas (Hartmann y Kester, 1987). De acuerdo a Furatani y Nagao (1987) y Andrade-Rodríguez *et al.* (2008) la

aplicación de 600 mg l<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub> incrementó el porcentaje de germinación de semillas de papaya. En frutales como el aguacate (*Persea americana Mill.*) y kiwi (*Actinidia deliciosa Chev.*), la aplicación de AG<sub>3</sub> también ha registrado efectos positivos en el porcentaje de germinación de semillas (Sauls y Campbell, 1980; Celik *et al.*, 2006).

Asimismo, diversos autores han encontrado que al aplicar *Azotobacter* y *Azospirillum* a semillas antes de la siembra, se mejora la germinación y el crecimiento de plantas, debido a que estos géneros de bacterias aparte de tener la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, también sintetizan sustancias biológicamente activas como aminoácidos, vitaminas, ácido indol acético (AIA) y giberelinas en cultivos puros (Perrig *et al.*, 2007). De acuerdo a Nezarat y Gholami (2009), la aplicación de seis rizobacterias, *A. brasilense*, *A. lipoferum*, *P. putida*, *P. fluorescens*, *P. fluorescens* y *P. putida* a semillas de maíz, incrementaron el porcentaje de germinación. En semillas de chile habanero, la aplicación de *Azospirillum* sp. aceleró el proceso de germinación en 24 horas (Canto-Martín *et al.*, 2004).

El ácido giberélico también se ha empleado para aumentar el crecimiento vegetal de plántulas y reducir el tiempo de la etapa en vivero, en diversos frutales entre ellos papaya (*Carica papaya L.*) (Andrade-Rodríguez *et al.*, 2008), manzana golden (*Spondias dulcis Parkinson*), lima o limoncillo (*Melicoccus bijugatus Jacq.*), tamarindo (*Tamarindus indica L.*), chicozapote (*Manilkara zapota*) (Morales-Payan y Santos, 1997a, b).

Por otra parte, de acuerdo a Allan *et al.* (2000), las semillas de papaya variedad Solo, contienen una importante reserva de nutrientes, específicamente de nitrógeno y fósforo.

Además, los altos contenidos de N y P determinados en el sustrato empleado, podrían haber influido en la escasa respuesta a los tratamientos evaluados. Estos factores podrían explicar porque en esta etapa temprana de crecimiento, las semillas que no recibieron ningún tratamiento de biofertilización o de  $AG_3$  no difirieron significativamente en algunos parámetros de crecimiento evaluados (Tabla 8). Asimismo, se ha observado que las etapas iniciales después de la inoculación con HMA no afecta significativamente el crecimiento vegetal, pero después crece mucho más rápido que las plantas no micorrizadas (Manjunat y Bagyaraj, 1981). Lo cual podría explicarse al tiempo requerido por las esporas o hifas fúngicas para infectar y ramificarse dentro de las raíces y para establecer una relación simbiótica con las plantas (Manjunat y Bagyaraj, 1981).

En diversos trabajos se ha demostrado que *C. papaya* es una especie micotrófica, es decir, dependiente de la inoculación micorrízica (Jaizme-Vega y Azcón, 1995). En especies altamente micotróficas como la cebolla, se ha observado infección micorrízica con hifas internas y presencia de arbusculos a los 15 días después de la siembra, con un incremento progresivo en el porcentaje de infección a los 35 días (Manjunath y Bagyaraj, 1981). Aunque, niveles altos o muy bajos de P según Koide (1991), pueden reducir la infección y colonización de la raíz. De acuerdo a Trindade et al. (2001), altas dosis de fósforo disponible afectaron la eficiencia de los HMA para colonizar las raíces de cuatro variedades de papaya, recomendando además, que una dosis de 12 a 16 mg  $dm^3$  de fósforo es suficiente para incrementar la colonización micorrízica. Sin embargo, el nivel de fósforo más adecuado, dependerá de la especie vegetal y el hongo (Graham et al., 1996).

## *8.2 Efecto de la doble y simple biofertilización de Azotobacter y micorrizas, y la aplicación de materia orgánica en el crecimiento y nutrición de la papaya.*

La mayoría de las investigaciones se han conducido en evaluar solamente una aplicación de biofertilizantes, aunque también se han realizado diversos trabajos en los que se han aplicado inoculaciones sucesivas (Albrecht et al., 1981; Millet et al., 1984; Nowak et al., 2004), pero de acuerdo a Bashan (1986), la aplicación de múltiples inoculaciones tiene un efecto mínimo en el crecimiento vegetal, debido a que muchos de los sitios de inoculación en las raíces ya han sido ocupados por las bacterias.

En contraste, los resultados aquí obtenidos demostraron que la doble inoculación incrementó el crecimiento y la biomasa vegetal en comparación con la inoculación simple de plántulas. Aunque, esto pudo deberse a que en la doble inoculación la primera aplicación de los biofertilizantes se hizo a las semillas y en la inoculación simple los biofertilizantes se aplicaron en las raíces 30 días después de la emergencia; y de acuerdo a Kalpunik et al. (1985) y a Bashan (1986), la respuesta de las plantas es más alta cuando las semillas han sido inoculadas, pero es menor cuando las plántulas son inoculadas.

El efecto sinérgico de PGPR y HMA sobre el crecimiento vegetal, toma de nutrientes y rendimiento de varios cultivos han sido reportados (Brown y Carr 1984; Veeraswamy et al., 1992; Alarcón et al., 2002; Singh et al., 2004). Aunque, algunos efectos negativos pueden ser obtenidos (Staley et al., 1992; Alarcón et al., 2002); debido a que la actividad fisiológica de la bacteria podrían mostrar cierta inhibición sobre el

establecimiento y la efectividad fúngica (Paulitz y Linderman 1989). La inoculación de papaya con *A. chroococcum* y *G. intraradices* en este estudio, registró un efecto sinérgico solo en algunos de los parámetros evaluados. La respuesta sinérgica del hospedero podría ser principalmente debido a la producción de fitohormonas o reguladores del crecimiento por estos microorganismos más que por pequeños incrementos en la disponibilidad en N y P (Barea et al., 1975; Vessey 2003). Sin embargo, este beneficio parece estar asociado por la presencia de HMA, las cuales incrementaron considerablemente la biomasa fresca y seca en comparación con la inoculación de *Azotobacter* y las plantas no inoculadas (Tabla 12 y 16).

La reducida respuesta de la inoculación simple de *Azotobacter* en el crecimiento y nutrición de papaya, estuvo influenciado por el momento de inoculación y por el tipo de sustrato. En el experimento con doble inoculación (en semilla y plántula), donde la rizobacteria se aplicó por imbibición en las semillas (24 horas en agua y 1 hora en el inoculo) y las plántulas crecieron en un sustrato adicionado con altos contenidos de materia orgánica (Tabla 5), se registro una mayor biomasa seca y contenido de fósforo en comparación al experimento con una simple inoculación, donde la rizobacteria fue aplicada 30 días después de la emergencia (Tablas 12 y 16). Esto se pudo deber a que la rizobacteria no fue adicionada hasta que las plántulas habían pasado la etapa más receptiva en la que *Azotobacter* afecta el crecimiento vegetal (Brown y Burlingham 1968).

Estos resultados coinciden con los resultados obtenidos por Kapulnik et al. (1985), quienes encontraron que la inoculación de semillas de trigo con *Azospirillum* fue más

eficiente que cuando se inocularon plantas, 20 días después de la emergencia, indicando además que la rizobacteria afectó a las semillas principalmente en la germinación y menos en la etapa de colonización de raíces.

Por otra parte, el cultivo de papaya ha sido considerada como una planta dependiente de la inoculación micorrízica (Jaizme-Vega y Azcón, 1995; Sukhada, 1989) y de la materia orgánica (Rodríguez, 1984) lo cual explicaría los efectos benéficos obtenidos en este trabajo de la interacción entre la materia orgánica y la inoculación de HMA. Resultados similares han sido encontrados en diversos estudios, desde el incremento del crecimiento vegetal y biomasa fresca y seca de tallos y raíces (Khade y Rodríguez 2009a), incremento en el área foliar y peso seco (López-Moctezuma et al., 2005), aumento en el contenido total de potasio y fósforo en el tejido vegetal (pecíolo) (Khade y Rodríguez, 2009b), así como también, incrementos en la actividad enzimática de la fosfatasa acida en raíz (Alarcón, 2002). Los incrementos en la biomasa fresca obtenidos es este trabajo podrían ser debido a fitohormonas como auxinas, las cuales se incrementan en plantas inoculadas con micorrizas (Barker y Tagu, 2000; Fitze et al., 2005). Mientras que el aumento en la biomasa seca puede deberse a la eficiencia de los HMA en suministrar nutrientes a las plantas.

Por otra parte, de acuerdo a Osorio et al. (2002), la aplicación de enmiendas orgánicas y la inoculación de HMA incrementó el crecimiento de plántulas de café, disminuyendo este efecto cuando no se adicionan enmiendas al suelo, y cuando se presenta bajos contenidos de materia orgánica, pH y bajas disponibilidades de P, B, Ca, Mg y K. Esto concuerda con los resultados encontrados en este estudio, ya que las plántulas que

crecieron en los sustratos con adición de materia orgánica y fueron inoculadas con *G. intraradices*, mejoraron los parámetros de crecimiento, biomasa y nutrición en comparación a cuando no se adicionó materia orgánica al sustrato, obteniendo los mejores resultados al adicionarse 35% de cascarilla de cacao como materia orgánica, lo cual tiene su explicación en que este sustrato presentó un contenido moderado de fósforo ( $66.04 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) con relación a los demás sustratos a los que también se les adicionó materia orgánica. De acuerdo a Kahiluoto et al. (2000), al incrementarse el suministro de P disminuye la colonización y la efectividad de la colonización micorrízica. Pero a pesar de lo anteriormente expuesto en diversas ocasiones se han obtenido beneficios de los HMA en las plantas a niveles moderados de fósforo por efecto sinérgico de las interacciones entre los diferentes microorganismos presentes en la rizósfera de las plantas (Thompson, 1987; Yao et al., 2001).

Por otra parte, la aplicación de composta al 12% y sustrato con cascarilla de cacao (35%), estimularon el mayor contenido de nitrógeno en tejido vegetal, lo cual puede haberse debido a que estos sustratos presentaron una relación C/N menor de 20 (Tabla 5), y de acuerdo a Day y Shaw (2001) los tratamientos con relaciones C/N <10 permiten una mayor liberación de nutrimentos que aquellos con valores >20, considerando que la relación C/N ha sido utilizada como un índice de la velocidad de descomposición de los abonos y la posterior mineralización de sus nutrimentos.

El nitrógeno, fósforo y potasio forman parte de los macronutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas, por lo cual existe una relación entre estos nutrientes y los parámetros de crecimiento vegetal. Los resultados aquí obtenidos



demuestran una correlación positiva, entre el contenido de nitrógeno y fósforo foliar y el aumento de la biomasa fresca y seca así como del diámetro del tallo en las plántulas de papaya. Resultados similares se han observado en otros cultivos como el tabaco, donde también se observó que el fósforo aumentó el grosor del tallo, número de rebrotes y la calidad de las hojas (Chaverri, 1995). Uno de los síntomas de la carencia de este nutriente es la producción de tallos finos y débiles (Zeiger, 2006).

Por otra parte, de acuerdo al análisis de tejido vegetal realizados a los 90 días de crecimiento, los contenidos de nitrógeno, fósforo y potasio determinados en papaya en la doble y simple biofertilización, indicaron un contenido medio, medio y bajo respectivamente, al compararlos con los datos teóricos obtenidos en pecíolos de hojas jóvenes y maduras de papaya determinados por Jones et al. (1991).

Es importante mencionar, que el nitrógeno es el componente fundamental de todas las moléculas orgánicas involucradas en los procesos de crecimiento y desarrollo vegetal. Constituyente de aminoácidos (proteínas estructurales y enzimas), ácidos nucleicos, clorofila, cito-cromos, coenzimas, hormonas y otros compuestos nitrogenados con funciones variadas (ureidos, amidas, alcaloides). Por lo tanto, participa activamente en los principales procesos metabólicos: la fotosíntesis, la respiración, la síntesis proteica. De igual forma, el fósforo participa en múltiples funciones como elemento estructural clave, en los ácidos nucleicos, fosfolípidos y diversas enzimas y coenzimas. También está involucrado en el metabolismo energético, activación de intermediarios metabólicos, cascadas de señales de transducción, y regulación de enzimas (Karandashov y Bucher 2005). El ácido fitico (hexafosfato de inositol) o más

exactamente, su sal cálcica o magnésica (denominada fitina), se forma en las semillas y proporciona los fosfatos necesarios durante el proceso de la germinación (Wild et al., 1992). Por lo que, una fuente suficiente de fósforo y el mantenimiento de la homeostasis del fósforo celular es esencial para la vida (Karandashov y Bucher 2005).

### *8.3 Efecto de la doble y simple biofertilización y la materia orgánica en la población de A. chroococcum y en la colonización de G. intraradices.*

La población de *A. chroococcum* en la doble biofertilización (en semilla y plántula), no presentó diferencias significativas en comparación con la población encontrada en la simple biofertilización. De acuerdo a Bashan (1985), múltiples inoculaciones con rizobacterias como *Azospirillum*, incrementan ligeramente su colonización en la rizósfera, pero poco después su nivel de colonización es similar a cuando se realiza una sola inoculación.

En diversos estudios se ha registrado, que la colonización de los HMA pueden ser tanto incrementados (Gryndler et al., 2006; Albertser et al., 2006) y disminuidos (Calvet et al., 1992; Ravnskov et al., 2006) por la adición de enmiendas orgánicas. Por otra parte, se ha observado que la colonización de las PGPR en la rizósfera puede ser afectado por la co-inoculación de HMA (Bianciotto y Bonfante, 2002). Los resultados aquí obtenidos demostraron que la población de *A. chroococcum* no se vio afectada por la aplicación combinada con *G. intraradices*, pero sí por la materia orgánica adicionada (Tabla 13), registrándose una mayor población de *Azotobacter* cuando se aplicaron bajos porcentajes de materia orgánica (12%).

En cuanto a la colonización micorrízica, se observó que la doble biofertilización incrementó el porcentaje de colonización, con respecto a la simple biofertilización. Además, se ha observado que la respuesta de la planta a la inoculación con HMA dependerá del nivel de fertilidad del suelo, de la planta hospedera y del hongo (Sharda y Rodrigues, 2008). También, se ha demostrado que la colonización micorrízica no es afectada por la adición de P cuando las plantas son deficientes en N, pero cuando el nitrógeno es suficiente, la adición de fósforo suprime la colonización radical (Sylvia y Neal, 1990). Asimismo, conforme a los porcentajes de colonización micorrízica encontrados y con los resultados obtenidos en el crecimiento y en la nutrición de las plantas, puede establecerse que el beneficio de la simbiosis se expresó aún en presencia de dosis elevadas de P.

## 9.-CONCLUSIONES

La aplicación a las semillas de alternancia de temperatura (15/36 °C por 24 y 4 horas respectivamente), eliminó la dormancia de las semillas de papaya. La inoculación de semillas con microorganismos y ácido giberélico, demostraron ser un método que promueve, acelera y aumenta la germinación y emergencia de plántulas.

El crecimiento vegetal de la papaya puede ser mejorado con la aplicación de los biofertilizantes y el ácido giberélico, bajo las condiciones experimentales empleadas. Además, se obtuvo un efecto sinérgico con la aplicación combinada de las rizobacterias con *G. intraradices*, en la biomasa seca y el diámetro del tallo. Por lo que, a través de éste procedimiento sencillo y económico se logró disminuir el tiempo de permanencia en el vivero de las plántulas de papaya, asegurando además la disponibilidad de plántulas de calidad y un mejor establecimiento al trasplante en campo.

El momento de inoculación fue determinante en la influencia de los biofertilizantes sobre el crecimiento vegetal. La doble biofertilización (en semilla y plántula) estimuló el crecimiento y la biomasa de las plántulas, en comparación a la simple biofertilización. Aunque, el método de aplicación no influyó en los parámetros de nutrición (N, P y K) determinados.

En general, el mejor tratamiento consistió en la aplicación de sustrato con 35% de cascarilla de cacao como materia orgánica más la inoculación de *G. intraradices* en forma independiente. La incorporación de composta al 25% asociada a la inoculación

de *G. intraradices*, también puede ser empleada como un tratamiento alternativo, cuando no se disponga de cascarilla de cacao. Además, la inoculación de semillas con los biofertilizantes antes de la germinación representa una ventaja sobre el método tradicional de inoculación de raíces, generalmente realizado en la siembra o cuando las semillas germinan.

La población de *A. chroococcum* aplicando una doble inoculación, no se vio afectada por la co-inoculación de *G. intraradices*, pero si por la materia orgánica adicionada, observándose un mayor crecimiento a dosis bajas de materia orgánica. Sin embargo en la simple biofertilización, ni la adición de materia orgánica ni la co-inoculación con *G. intraradices* afectaron la población de *A. chroococcum*.

Por otra parte, la colonización micorrízica también se vio afectada por el porcentaje de materia orgánica, observándose una mayor colonización a mayores dosis de materia orgánica adicionada, al aplicar los dos métodos de inoculación (doble y simple inoculación). Asimismo, la colonización micorrízica disminuyó con la co-inoculación de *A. chroococcum*, en ambos métodos (doble y simple inoculación). Además, la doble inoculación incrementó el porcentaje de colonización micorrízica, pero no la población de *A. chroococcum*, en comparación con la simple biofertilización.

De igual forma, se confirma la fuerte dependencia de las plántulas de papaya por la materia orgánica y la inoculación micorrízica, mostrando un efecto sinérgico entre estos dos factores sobre el crecimiento y nutrición de papaya.

## 10.-REFERENCIAS

- Abbott, L. K., Robson, A. D. 1982. Infectivity of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soil. *Australian Journal of Agriculture Research*, 33: 1049-1059.
- Aceves-Navarro, L.A., Juárez, L.J.F., Palma, L.D.J., López, L.R., Rivera, H.B., Rincón, R.J.A., Morales, C.A.R., Hernández, A.R. 2008. Estudio para determinar zonas de alta potencialidad del cultivo de la papaya (*Carica papaya* L.) en el estado de Tabasco. SAGARPA. Tomo XIII. Tabasco, México. En línea. [www.campotabasco.gob.mx/download.php?filename=estudios\\_potencialidad/papaya.pdf](http://www.campotabasco.gob.mx/download.php?filename=estudios_potencialidad/papaya.pdf) ESTUDIO PARA DETERMINAR ZONAS PAPAYA. Consulta 20 julio de 2010.
- Aguas, R.T., R. Ferrera-Cerrato, M.C. González Ch., A. Villegas-Monter y A. Martínez G. 1995. Efecto del fósforo, vermicomposta, cachaza e inoculación micorrízica en el desarrollo *Carica papaya* L. pp. 106. In: J.L. Tovar S., V. Ordaz Ch., y R. Quintero L. (eds.). *La investigación edafológica en México 1992-1995. Memorias XXVI Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo*. Cd. Victoria, Tamaulipas. México.
- Aguirre, M. J. F. 2004. Biofertilizantes microbianos: Antecedentes del programa y resultados de validación en México. Simposio de fertilización. Tamaulipas, México.
- Alarcón A., Davies F.T. Jr., Egilla J.N., Fox T.C., Estrada- Luna A. A., Ferrera-Cerrato R. 2002. Short term effects of *Glomus claroideum* and *Azospirillum brasilense* on growth and root acid phosphatase activity of *Carica papaya* L. under phosphorus stress, *Rev. Latinoam. Microbiol.* 44, 31-37.
- Alarcón, A. y R. Ferrera-Cerrato. 1995. Niveles de vermicomposta y micorriza arbuscular en el desarrollo de plántulas de *Casuarina equisetifolia* a nivel de vivero. p. 84. In: *Memorias de la Primera Reunión Internacional de Ecología Microbiana*. Centro de Investigación y Estudios Avanzados-IPN. México, DF.
- Alarcón, A., y Ferrera-Cerrato, R. 1999. Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. *Terra*, 17: 179-191.
- Alarcón, A. y Ferrera-Cerrato, R. 2000. Biofertilizantes: Importancia y utilización en la agricultura. *Agr. Téc. Méx.* 26: 191-203.

- Alarcón, A., Gonzáles Chavez, M.C., Ferrera-Cerrato, R., Villegas-Monter A. 2001: *Glomus fasciculatum* and *Glomus etunicatum* effectiveness on growth of *Vitis vinifera* L. micropropagated plantlets. *Terra* 19:29-35.
- Alarcón, A., Frederick T. Davies Jr., J. N. Egilla, T. C. Fox, A. A. Estrada-Luna, and R. Ferrera-Cerrato. 2002. Short term effects of *Glomus claroideum* and *Azospirillum brasilense* on growth and root acid phosphatase activity of *Carica papaya* L. under phosphorus stress. *Rev. Latinoam. Microbiol.* 44: 31-37.
- Albertser, A., Ravnskov, S., Green, H., Jensen, D.F., Larsen, J. 2006. Interactions between the external mycelium of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and other soil microorganisms as affected by organic matter. *Soil Biol Biochem.* 38:1008–1014.
- Albrecht, S. L., Okon, Y., Lonquist, J., Burris, R. H. 1981. Nitrogen fixation by corn-Azospirillum associations in a temperate climate. *Crop Science* 21, 301-306.
- Allan, P. 1995. Propagation of 'Honey Gold' papayas by cuttings. *Acta Horticulturae* 370: 99-102.
- Allan, P., Taylor, N. J. y Dicks, H. M. 2000. Fertilization of Solo papayas with nitrogen, phosphorus and potassium. *Acta Hort.* 511: 27-33.
- Allan, P., Carlson, C. 2007 Progress and problems in rooting clonal *Carica papaya* cuttings. *The South African Journal of Plant and Soil* 24: 22-25.
- Allen, M.F. 1991. *The Ecology of Mycorrhizae*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Andrade-Rodríguez, M., Ayala-Hernández, J. J., Alia-Tejacal, I., Rodríguez-Mendoza, H., Acosta-Durán, C.M. y López-Martínez, V. 2008. Efecto de promotores de la germinación y sustratos en el desarrollo de plántulas de papayo. *Rev. Fac. Agron.* 25: 617-635.
- Arango, W.L.V., Román, H.C.A. 1998. Aspectos Agroeconómicos. En: Arango, W. L. V. (Ed.) *Manual de asistencia Técnica No. 4. El cultivo de la papaya en los Llanos Orientales de Colombia*. Pp. 99.
- Aroucha, E.M.M.; Silva, R.F.; Oliveira, J.G.; Viana, A.P.; Gonzaga, M.P. 2005. Época de colheita e período de repouso dos frutos de mamão (*Carica papaya* L.) cv.

- Golden na qualidade fisiológica das sementes. *Ciência Rural*, Santa Maria, 35:537-543.
- Arteca, R. 1996. *Plant Growth Substances: Principles and Applications*. Springer. New York: Chapman & Hall. Pp. 332.
- Artola, A., G. Carrillo-Castañeda, G. García de los Santos. 2003. Hydropriming: a strategy to increase *Lotus corniculatus* L. seed vigor. *Seed Sci. Technol.* 31: 455-463.
- Artursson, V, Finlay, R.D., Jansson, J.K. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environ Microbiol* 8: 1–10.
- Auge, R.M. 2001. Water relations, drought and vesicular arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11: 3–42.
- Awada, M. y C. Long. 1971. The selection of the potassium index in papaya tissue analysis. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 96: 74-77.
- Azcón-Aguilar C, Barea JM. 1992. Interactions between mycorrhizal fungi and other rhizosphere micro-organisms. In: Allen MJ, ed. *Mycorrhizal functioning: an integrative plant–fungal process*. New York: Chapman & Hall, 163–198.
- Azcón-Aguilar C, Barea JM. 1995. Saprophytic growth of arbuscular–mycorrhizal fungi. In: Hock B, Varma A, eds. *Mycorrhiza structure, function, molecular biology and biotechnology*. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag, 391-407.
- Badillo, V.M. 1993. *Caricaceae*: segundo esquema. Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela. *Alcance* 43: 111.
- Bajjaraj, D.J. 2006. Quality control and constraints in biofertilizer production technology. In: *Biofertilizer Technology*. Kannaiyan, S., Kumar, K., Govindarajan, K. (Eds). Department of Agricultural Microbiology, University of Agricultural Sciences (UAS), GKVK, Bangalore-560 065, India.
- Balakrishna R., Bararaj D.J., Mallesha B.C. 1996. Selection of efficient VA mycorrhizal fungi for papaya, *Biol. Agric. Hortic.* 13:1-6.
- Baradas, M. W. 1994. Crop requirements of tropical crops. In: *Handbook of Agricultural Meteorology*. J F Griffiths (Ed). Oxford Univ. Press. New York. pp: 189-202.



- Barea, J.M. 2000. Rhizosphere and mycorrhiza of field crops. En: Balázs E, Galante E, Lynch JM, Schepers JS, Toutant JP, Werner D, Werry P, Thaler J, eds. Biological resource management: connecting science and policy. Berlin, Heidelberg, New York: INRA Editions, Springer-Verlag, 110–125
- Barea, J.M., Azcón, R., Azcón-Aguilar, C. 2004. Mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria. In: Varma A, Abbott L, Werner D, Hampp R, eds. Plant surface microbiology. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag, 351–371
- Barea, J.M, Azcón, R., Hayman, D.S. 1975. Possible synergistic interactions between Endogen and phosphate-solubilizing bacteria in low phosphate soils. In: Sanders FE, Mose B, Tinker PB (Eds) Endomycorrhizas. Academic Press, London, pp 409–417.
- Barea, J.M., Azcón-Aguilar, C., Azcón, R., 1987. Vesicular-arbuscular mycorrhiza improves both symbiotic N<sub>2</sub>-fixation and N-uptake from soil as assessed with an N technique under field conditions. *New Phytol.* 106, 717–725.
- Barker, S.J., Tagu, D. 2000. The roles of auxinas and cytokinins in mycorrhizal symbioses. *Journal of Plant Growth Regulation.* 19:144-154.
- Bashan, Y. 1986. Significance of timing and level of inoculation with rhizosphere bacteria of inoculation with rhizosphere bacteria on wheat plants. *Soil Biol. Biochem.* 18:297-301.
- Bashan, Y., Gina, H., de-Bashan, L. E. 2004. Azospirillum-plant relationships: physiological molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Canadian Journal of Microbiology*, 50:521-577.
- Bashan, Y., y Levanony, H. 1990. Current status of *Azospirillum* as a challenge for agriculture. *Can. J. Microbiol.* 36: 591-608.
- Bautista-Calles, F., Carrillo-Castañeda, G. y Villegas-Monter, Ángel. 2008. Recuperación de la alta capacidad de germinación de la semilla de papaya mediante la tecnología de preacondicionamiento y biorreguladores. *Agrociencia.* 42: 817-826.
- Becking, J.H., 1992. The family *Azotobacteraceae*. En: Balows, A., True per, G.H., Dworkin, M., Harder, W., Schleifer, K.H. (Eds.). *The Prokaryotes, A Handbook on*

- the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications. 2nd ed., vol. 4, Springer, Germany, pp. 3144-3170.
- Benacchio, S. S. 1982. Algunas Exigencias Agroecológicas en 58 Especies de Cultivo con Potencial de Producción en el Trópico Americano. FONAIAP- Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Ministerio de Agricultura y Cría. Maracay, Venezuela. 202 p.
- Bertagnolli, B. L., Soglio, F. K. D., Sinclair, J. B. 1996. Extracellular enzyme profiles of the fungal pathogen *Rhizoctonia solani* isolate 2B-12 and of two antagonists, *Bacillus megaterium* strain B153-2-2 and *Trichoderma harzianum* isolate Th008. I. Possible correlations with inhibition of growth and biocontrol. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 48: 145-160.
- Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell* 9: 1055-1066.
- Bewley, J.D.; Black, M. 1994. Seeds: physiology of development and germination. 2. ed. New York: Plenum Press. 445p.
- Bianciotto V, Bonfante P. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi: a specialized niche for rhizospheric and endocellular bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*. 81: 365-371.
- Bijay-Singh, Yadvinder-Singh, Sekhon, G. S. 1995. Fertilizer-N use efficiency and nitrate pollution of groundwater in developing countries. *Journal of contaminant Hydrology* 20, 167-184.
- BIOEXTRACTO. 2003. Boletín 70 Papaya (*Carica papaya* L.) [En línea] México, D.F. [ref. 05 de septiembre de 2004]. Disponible en web: <http://www.bioextracto.com.mx/boletin.html>.
- Boddey, R.M., de Oliveira, O.C, Urquiaga S, Reis V M, Olivares F.L., Baldani, V.L.D., Döbereiner, J. 1995. Biological nitrogen fixation associated with sugar cane and rice: Contributions and prospects for improvement. *Plant Soil* 174:195–209.
- Bolton, H.J., Fredrickson, J.K., Elliott, L.F. 1993. Microbial ecology of the rhizosphere. En: Metting FBJ (ed) *Soil microbial ecology*. Marcel Dekker, New York, pp 27–63.
- Brown, M. E. y G. R. Carr. 1984. Interactions between *Azotobacter chroococcum* and vesicular-arbuscular mycorrhiza and their effects on plant growth. *Journal of Applied Bacteriology* 56,429-437.

- Brown, M.E., Burlinghams, K. 1968. Production of plant growth substances by *Azotobacter chroococcum*. *Journal of General Microbiology* 53, 135-144.
- Bulluck, L.R., Brosius, M., Evanylo, G. K., Ristaino, J.B. 2002. Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Applied Soil Ecology* 19:147–160.
- Burr T.J., Schroth M.N., Suslow T.V. 1978. Increased potato yields by treatments of seed pieces with specific strains of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida*, *Phytopathol.* 68: 1377-1383.
- CEA (Centros de Estudios Agropecuarios). 2001. Frutales tropicales y subtropicales. Serie Agronegocios. Editorial Iberoamérica, S.A. de C.V. México, D.F. Pp. 73.
- Caesar A.J., Burr T.J. 1987. Growth promotion of apple seedlings and rootstocks by specific strains of bacteria, *Phytopathol.* 77, 1583-1588.
- Calvet, C., Estaun, V., Camprubi, A. 1992. Germination, early mycorrhizal growth and infectivity of a vesicular–arbusular mycorrhizal fungus in organic substrates. *Symbiosis* 14:405–411.
- Canto-Martín, J. C., Medina, P. S., Morales, A. D. 2004. Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp. en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jaquin). *Tropical and Subtropical Agroecosystems.* 4: 21-27.
- Carvalho, N.M., y Nakagawa, J. 2000. Sementes. Ciência, tecnologia e produção. FUNEP. 588 p.
- Cassán F, Lucangeli C, Bottini R, Piccoli P. 2001. *Azospirillum* sp. Metabolize [17, 17-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>] Gibberellin A20 to [17, 17-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>] Gibberellin A1 in vivo in dry rice mutant seedlings. *Plant Cell Physiol* 42:763–767.
- Castro, L.L., Morales, L.A., Aranguren, G.M. 2000. Fundamentos teórico-prácticos sobre el cultivo y cosecha de la papaya (L.). Ministerio de educación superior. Universidad de Matanzas, Cuba. Facultad de Agronomía. Disponible en: <http://www.bibliociencias.cu/gsd/collect/libros/index/assoc/HASH012f.dir/doc.pdf> . Consulta el 20 de julio de 2010.
- Celik, H., Zengíbal, H., ÖZCAN, M., 2006. Enhancing Germination of Kiwifruit Seeds With Temperature Medium and Gibberellin Asit. *Hort. Sci. (Prague)* 33: 39–45.

- Chan, L.K, Teo, C.K.H. 2002. Micropropagation of Eksotika, a Malaysian papaya cultivar and the field performance of the tissue culture derived clones. *Acta Hort.* 575: 99-105.
- Copeland LO (1976). Principles of seed science and technology, Burges Pub. Co. U.S.A. pp.55-200.
- COSRSPAC (Corporativo de Servicios Profesionales en Administración y Consultoría S. A. de C. V.). 2009. Informe Estudio de Mercado para la Comercialización de la papaya en el Municipio de Acapulco 2009. Disponible en: [http://www.corspac.com/5\\_informe\\_estudio\\_mercado\\_papaya\\_2009.pdf](http://www.corspac.com/5_informe_estudio_mercado_papaya_2009.pdf). Consultado el 17 de marzo de 2010.
- Costacurta, A., Vanderleyden, J. 1995. Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria. *Crit. Rev. Microbiol.*, 21: 1-18.
- Crozier, A., Kamiya, Y., Bishop, G., Yokota, T. 2001. Biosynthesis of hormones and elicitors molecules. In B. B. Buchanan, W. Grusse, and R. L. Jones (Eds.), *Biochemistry and molecular biology of plants* (pp 850-900). Rockville, MD: American Society of Plant Biologists.
- Cruz, A.F., Ishii, T., Matsumoto, I., Kadoya, K. 2003. Evaluation of the mycelial network formed by arbuscular mycorrhizal hyphae in the rhizosphere of papaya and other plants under intercropping system. *Brazilian Journal of Microbiology* 34:72–76.
- Cunha, R.J.P. y H.P. Haag. 1980. Mineral nutrition of papaya (*Carica papaya* L.). Nutrient uptake under field conditions. *Abstracts on Tropical Agric.* 8: 86.
- Cupull, S.R.; Guerra; P.G., Cupull, S.M.C., Ferrer, V.M., Pérez, N.C. 2002. Efecto de *Trichoderma viride* y *Azotobacter chroococcum* en la estimulación de la germinación y el desarrollo de posturas de *Carica papaya* Lin. *Centro Agrícola* 4: 30-33.
- Curl, E. A., y Truelove, B. 1986. The Rhizosphere. Springer-Verlag, Berlin. 22 pp.
- Davies, P. J. 2004. Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action! 3<sup>rd</sup> Edition. Springer. Ithaca NY, USA. Pp. 750.
- Davies, F.T., Estrada-Luna, A., Finnerty, T.L., Egilla, J.N., Olalde-Portugal, V., 2000. Applications of mycorrhizal fungi in plant propagation systems. En: *Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular* (A. Alarcón and R. Ferrera,

- eds.). IRENAT Colegio de Postgraduados. Montecillo. Mundi-Prensa, Madrid, Spain, pp. 123-140.
- Day, M., Shaw, K. 2001. Biological, chemical and physical processes of composting, pp. 18-22. In: P. Stofella y B. Kahn (Eds). Compost utilization in horticultural cropping systems. Lewis, U.S.A.
- De Los Santos, R.F.; Becerra, L.E.N.; Mosqueda, V.R.; Vásquez, H.A y Vargas, G.A. 2000. Manual de Producción de Papaya en el Estado de Veracruz. INIFAP-SAGAR-FUNDACION PRODUCE VERACRUZ. Centro de Investigación Regional del Golfo Centro Campo Experimental Cotaxtla Veracruz. Ver. 39 p.
- Del Sol, L., García, M., Gálvez, D., Rodríguez, S., Torres, Y., Medero, V., López, J., Ventura, J., Cabrera, M., Rodríguez, S., Álvarez, M., Bauta, M., García, J. 2001. Efficient plant regeneration from somatic embryogenesis in papaya cv. INIVIT-2000. Biotecnología Vegetal y Agricultura Sostenible Resúmenes evento, 133 – 215. INIVIT. Santo Domingo.
- Díaz, G. 1998. Guía para el cultivo de la papaya (*Carica papaya* L). San José, CR. Ministerio de Agricultura y Ganadería. 74 p.
- Dobbelaere, s., Vanderleyden, J., Okon, Y. 2003. Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 22:107-149.
- Elder, R.J., Macleod, W.N.B. 2000. Growth, yield and phenology of 2 hybrid papayas (*Carica papaya* L.) as influenced by method of water application. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 40: 739-746.
- Elgala, H. M.,Y. Z. Ishac, M. Abdel-Monem, I. A. I. El-Ghandour, P.M. Huang, J. Berthelin, J. M. Bollag,W. B. McGill, and A. L. Page. 1995. Effect of single and combined inoculation with Azotobacter and VA mycorrhizal fungi on growth and nutrient content of maize and wheat plants. *Environmental Impact of Soil Component Interaction* 2: 109–116.
- Ellis, R.H. y Roberts, E.H. 1980. Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany* 45:13-30.
- Ellis, R.H., Hong, T.D., Roberts, E.H. 1991. Effect of storage temperature and moisture on the germination of papaya seeds. *Seed Science Research* 1:69-72.

- FAO. 1994. ECOCROP 1. The adaptability level of the FAO crop environmental requirements database. Versión 1.0. AGLS. FAO. Rome, Italy.
- FAOSTAT. 2007. FAO Statistics Division. Comercio: Exportación de productos por país. Disponible en: <http://faostat.fao.org>. Consultado el 05 de agosto de 2010.
- FAOSTAT. 2008. FAO Statistics Division. Producción: Producción de cultivos. Disponible en: <http://faostat.fao.org>. Consultado el 05 de agosto de 2010.
- Fitter, A.H., Heinemeyer, A., Staddon, P.L. 2000. The impact of elevated CO<sub>2</sub> and global climate change on arbuscular mycorrhizas: a mycocentric approach. *New Phytol.* 147:179–187.
- Fitze, D., Wiepning, A., Kaldorf, M., Ludwig-Müller, J. 2005. Auxins in the development of an arbuscular mycorrhizal symbiosis in maize. *J Plant Physiol.* 162:1210-1219.
- Friese, C.F., Allen, M.F. 1991. The spread of VA mycorrhizal fungal hyphae in the soil: inoculum types and external hyphal architecture. *Mycologia*, 83, 409–418.
- Furatani, S.C.; Nagao, M.A. 1987 Influence of temperature, KNO<sub>3</sub>, GA<sub>3</sub> and seed drying on emergence of papaya seedlings. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.32, p.67-72.
- Furatani, S.C. y Nagao, M.A. 1989. Influence of preconditioning temperatures on papaya seed germination. *J. Haw. Pac. Agri.* 2:22-23.
- Garbaye, J. 1994. Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytol.* 128: 197-210
- García, T.M.A y Escobar, B.J.E. 2002. Guía Técnica Cultivo de papaya. CENTA: Centro Nacional Tecnológico Agropecuario y Forestal. San Andrés, Libertad, El Salvador. 50 p.
- García, M.A.; Lienh I.H. y Chang, D. 2005. El Cultivo de la Papaya. Ministerio de agricultura y ganadería. Centro nacional tecnológico forestal programa de frutales misión técnica de Taiwán. San Andrés, Libertad, El Salvador.
- Gardner J.M., Chandler J.L., Feldman A.W. 1984. Growth promotion and inhibition by antibiotic-producing fluorescent *Pseudomonads* on *Citrus* roots, *Plant Soil.* 77: 103-113.
- Ghai S. K. y Thomas G. V. 1989. Occurrence of *Azospirillum* spp. In coconut-based farming system. *Plant Soil* 114:235-241.

- Gil, A.I. Y Miranda, D. 2005. Morfología de la flor y de la semilla de papaya (*Carica papaya* L.): variedad Maradol e híbrid Tainung-1. *Agronomía Colombiana*. 23:217-222.
- Glick B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41:109-117.
- Glick, B. R., Patten, C. L., Holguin, G., Penrose, D. M. (Eds.). 1999. Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth-promoting bacteria. London: Imperial College Press.
- González-Chávez, M.C., R. Ferrera-Cerrato y A. Villegas-Monter. 1995. Sustratos e inoculación en el crecimiento de plántulas micropropagadas de citrange troyer. p. 67. In: J.L. Tovar S., V. Ordaz Ch. y R. Quintero L. (eds.). *La investigación edafológica en México 1992-1995. Memorias XXVI Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo*. Cd. Victoria, Tamaulipas. México.
- Graham, J.H., Drouillard, D.L., y Hodge N.C. 1996. Carbon economy of sour orange in response to different *Glomus* spp. *Tree Physiology*, 16:1023-1029.
- Gryndler, M., Larsen, J., Hršelová, H., Řezáčová, V., Gryndlerová, H., Kubát, J. 2006. Organic and mineral fertilization, respectively, increase and decrease the development of external mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi in a long-term field experiment. *Mycorrhiza* 16:159–166.
- Guilfoyle, T., Hagen, G., Ulmasov, T., Murfett, J. 1998. How does auxin turn on genes? *Plant Physiol.*, 118:341-347.
- Gupta, R.K. 2003. Biofertilizer: An ecofriendly alternative to chemical fertilizer. En: *Environment and its challenges of 21st century chapter 17: 275-287*. (Ed.) Arvind Kumar Ashish Publishing House, New Delhi.
- Guzmán, D.G.A. 1998. Guía para el cultivo de la papaya (*Carica papaya* L.). Ed.: May, M.A., Mojica, B.F, Mora, B.B, Mora, M.J., Morera, M.A., Rivera, L.J., Zuñiga, L.D., Halvorson, A.D., Wienhold, B.J., Black, A.L. 2002. Tillage, nitrogen and cropping system effects on soil carbon sequestration. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66:906-912.
- Harkness, R.W. 1967. Papaya growing in Florida, Florida. *Agric. Exp. Sta. Cir. S-100*.
- Hartmann, H.T. y Kester, D.E. 1987. *Propagación de plantas: principios y prácticas*. Trad. Marino. Ed. Prentice-Hall. México. Pp. 809.

- Hayman, D.S. 1987. Vesicular-arbuscular mycorrhizas in field crop systems. In: Safir GR (ed) Ecophysiology of VA mycorrhizal plants. CRC Press, Boca Raton, Fla., pp 171–192.
- Heffer, P. y Prud'homme, M. 2008. "World Agriculture and Fertilizer Demand, Global Fertilizer Supply and Trade 2008-2009. Summary Report". International Fertilizer Industry Association (IFA). Disponible en: [www.fertilizer.org/ifacontent/.../2008\\_council\\_hcmc\\_ifa\\_summary.pdf](http://www.fertilizer.org/ifacontent/.../2008_council_hcmc_ifa_summary.pdf). Consultado el 05 de febrero de 2010.
- Hegde, S.V., Brahma Prakash, G. P. 1992. A dry granular inoculant of *Rhizobium* for soil application. *Plant Soil* 144: 309-311.
- Heijnen, C.E. y J.A. van Veen. 1991. A determination of protective microhabitats for bacteria introduced in soil. *FEMS. Microbiol. Eco.* 85: 73-80.
- Holguin, G., Bashan, Y., y Ferrera-Cerrato R. 1996. Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. III. Procedimientos para el aislamiento y caracterización de hongos micorrízicos y rizobacterias promotoras del crecimiento en plantas. *Terra* 14:211-227.
- Hossain, M., Karim, M.R., Joarder, O.I. 1993. Plant regeneration from nucellar tissues of *Aegle marmelos* through organogenesis. *Plant Cell, Tiss. and Org. Cult.* 34: 199-203.
- Jaime-Vega, M. C. y Azcón, R. 1995. Responses of some tropical and subtropical cultures to endomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 5, 213-217.
- Jaime-Vega M.C., Rodríguez-Romero A.S., Piñero Guerra, M.S. 2004. Potential use of rhizobacteria from the *Bacillus* genus to stimulate the plant growth of micropropagated banana, *Fruits* 59, 83-90.
- Janzen, R.A., Rood, S.B., Dormaar, J.F., McGill, W.B. 1992. *Azospirillum brasilense* produces gibberellin in pure culture on chemically defined medium and in co-culture on straw. *Soil Biol. Biochem.* 24: 1061–1064.
- Jeffries, P., S. Gianinazzi, S. Perotto, K. Turnau, y J.M. Barea. 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biol. Fertil. Soils* 37:1-16.



- Johansson J.F., Paul L. R., Finlay R. D. 2004. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiology Ecology* 48: 1–13.
- Jones, B.J., Wolf, B., Mills, H.A. 1991. *Plant Analysis Handbook: a practical sampling, preparation, analysis and interpretation guide*. Micro-Macro publishing, Inc. USA.
- Kahiluoto, H., Ketoja, E., Vestberg, M. 2000. Promotion of utilization of arbuscular mycorrhiza through reduced fertilization 1. Bioassays in a growth chamber: Plant and soil. *227*:191-206.
- Kannaiyan, S., Govindarajan, K., Lewin, H.D. 1980. Effect of foliar spray of *Azotobacter chroococcum* on rice crop. *Plant and Soil* 56: 487-490.
- Kapulnik, Y., Gafny, R., Okon, Y. 1985. Effect of *Azospirillum* spp. inoculation on root development and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> uptake in wheat (*Triticum aestivum* cv. Miriam) in hydroponic systems. *Can. J. Bot.* 63: 627-631.
- Kapulnik, Y., Okon, Y., Henis, Y. 1985. Changes in root morphology of wheat caused by *Azospirillum* inoculation. *Can. J. Microbiol.* 31:881-887.
- Karandashov, V., Bucher, M. 2005. Symbiotic phosphate transport in arbuscular mycorrhizas. *Trends in Plant Science*. 1: 22-29.
- Kauchik, R., Saxena, A.K., Tilak, K.V.R. 2000. Selection of Tn5: lacZ mutants isogenic to wild type *Azospirillum brasilense* strain capable of growing in sub-optimal temperature. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 16:567-570.
- Khade, W.S., Rodrigues, B.F. 2009a Studies on arbuscular mycorrhization of papaya. *African Crop Science Journal*. 17:155-165.
- Khade, S.W., Rodrigues, B.F. 2009b. Studies on effects of arbuscular Mycorrhizal (Am.) Fungi on mineral Nutrition of *Carica papaya* L. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj*. 37:183-186.
- Kloepper, J.W., Lifshitz, R., y Zablotowicz, R. M. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol.* 7:39-43.
- Kloepper, J.W., Zablotowick, R.M., Tipping, E.M., Lifshitz, R. 1991. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. *En The Rhizosphere and*

- Plant Growth. Keister, D.L., Cregan, P.B. (Eds). Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Press.
- Koide, R. T. 1991. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. *New Phytol.* 117:365-386.
- Lange, A. H. 1961. Effect of the carcotesta on germination of *Carica papaya*. *Botanical Gazette.* 122: 305-311.
- López-Moctezuma, H., Ferrera-Cerrato, R., Farias-Larios, J., Aguilar-Espinosa, S. F., Bello, Ma. Del Rocío, López-Aguirre, J.G. 2005. Micorriza arbuscular *Bacillus* y sustrato enriquecido con vermicomposta en el desarrollo de plantas de papayo. *Terra Latinoamericana.* 23:523-531.
- Lovato, P.E., Gianinazzi-Pearson, V., Trouvelot, A., Gianinazzi, S. 1996. The state of art of mycorrhizas and micropropagation. *Adv. Hort. Sci.* 10:46-52.
- Malavolta, E. 1980. Exigencias nutricionais do mamoeiro. En: Simposio brasileiro a cultura do mamoeiro, 1o Jaboticabal FCAV. p. 103-126.
- Malik, K.A., Bilal, R., Mehnaz, S., Rasul, G., Mirza, M.S. y Ali, S. 1997. Association of nitrogen-fixing, plant promoting rhizobacteria (PGPR) with kallar grass and rice. *Plant Soil.* 194:37-44.
- Malo, S.E. y Campbell, C.W. 1986. The papaya. Univ. of Fla., Gainesville, Coop. Ext. Serv. Fruit Crops Fact Sheet FC-11.
- Mamatha, G., Bagyaraj, D.J., Jaganath, S. 2002. Inoculation of field established mulberry and papaya with arbuscular mycorrhizal fungi and a mycorrhiza helper bacterium. *Mycorrhiza* 12, 313-316.
- Manjunath, A. y Bagyaraj, D.J. 1981. Components of VA mycorrhizal inoculum and their effects on growth of onion. *New Phytol.* 87:355-361.
- Mauseth, J. D. 1991. *Botany: An Introduction to Plant Biology.* Philadelphia: Saunders. pp. 348-415.
- Meyer, J. L., y Linderman, R.G. 1986. Response of subterranean clover to dual inoculation with vesicular- arbuscular mycorrhizal fungi and a plant growth-promoting bacterium *Pseudomonas putida*. *Soil Biol. Biochem.* 18:185-190.

- Millet, E., Avivi, Y., Feldman, M. 1984. Yield response of various wheat genotypes to inoculation with *Azospirillum brasilense*. *Plant and Soil* 80: 261-266.
- Morales-Payan, J. P. 1998. Papaya production guide [In Spanish: Cultivo de lechosa]. Fundación de Desarrollo Agrop. Technical Guide No. 14, second edition. Santo Domingo, Dominican Republic. 88 pp.
- Morales-Payan, J. P., Stall, W.M. 1997. Effect of purple nutsedge (*Cyperus rotundus*) population densities on the growth of transplants of three papaya (*Carica papaya*) cultivars. *HortScience* 32:342.
- Morales-Payan, J. P. y Stall, W.M. 2003. Effect of substrates, boron, and humic acid on the growth of papaya transplants. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 116:28-30. 2003.
- Morales-Payan, J.P., Stall, W.M. 2005. Broadleaf cilantro (*Eryngium foetidum*) growth as affected by selected organic biostimulants. *HortScience* 40:1062.
- Morton, J. F. 1987. Papaya. In: *Fruits of warm climates*. Miami, FL. P. 336-346. Disponible en: [http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/papaya\\_ars.html](http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/papaya_ars.html). Consultado en marzo de 2010.
- Mrkovacki, N. y Milic, V. 2001. Use of *Azotobacter chroococcum* as potentially useful in agricultural application. *Ann. Microbiol.* 51:145-158.
- Nagao, M.A., S.C. Furatani. 1986. Improving germination of papaya seed by density separation, potassium nitrate, and gibberellic acid. *HortScience* 21: 1439-1440.
- Nelson, E. B. 2006. Rhizosphere regulation of preinfection behavior of oomycete plant pathogens, p. 311–341. In K. G. Mukerji, C. Manoharachary, and J. Singh (ed.), *Microbial activity in the rhizosphere*. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Nezarat, S. y Gholami A. 2009. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving seed germination, seedling growth and yield of maize. *Pakistan Journal of Biological Science.* 12:26-32.
- Nishina, M., F. Zee, R. Ebesu, A. Arakaki, R. Hamasaki, S. Fukuda, N. Nagata, C. L. Chia, W. Nishijima, R. Mau, and R. Uchida. 2000. Papaya production in Hawaii. College of Tropical Agriculture & Human Resources, University of Hawaii, Manoa. Coop. Ext. Serv. F&N 3. 8 pp.
- Normanly, J., y Bartel, B. 1999. Redundancy as a way of life - IAA metabolism. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2: 207-213.

- Nowak, J., Nowak, J., Sharma, V.K., A'Hearn, E. 2004. Endophyte enhancement of transplant performance in tomato, cucumber and sweet pepper. *Acta Hort. (ISHS)* 631:253-263.
- OIEDRUS. 2008. Oficina Estatal de Información para el Desarrollo Rural Sustentable en el Estado de Tabasco. Disponible en: <http://www.oeidrustab.gob.mx>. Consultado el 05 de agosto de 2010.
- OIRSA. 2003. Manual Producción Ecológica con Énfasis en Cultivos Tropicales. Proyecto Regional de Fortalecimiento de la vigilancia fitosanitaria en cultivos de exportación no tradicional (VIFINEX) Republica de China-OIRSA. Petén, Guatemala. Disponible en: <http://www.oirsa.org/aplicaciones/subidoarchivos/BibliotecaVirtual/ProduccionEcologicaCultivosTropicales.pdf>. Consultado el 23 de marzo de 2010.
- Okon, Y., Itzigsohn, R. 1995. The development of *Azospirillum* as a commercial inoculant for improving crop yields. *Biotechnol. Advances* 13: 415-424.
- Okon, Y. y Kapulnik, Y. 1986 Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots. *Plant Soil* 90: 3-16.
- Okon, Y.; y Labandera-González, C. A. 1994. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biol. Biochem.*, 26: 1591-1601.
- Oloyede, O. I. 2005. Chemical Profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pakistan Journal of Nutrition* 4: 379-381.
- Osorio, N.W., Alzate, J.M., Ramirez, G.A. 2002. Coffee seedling growth as affected by mycorrhizal inoculation and organic amendment. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 33: 1425-1434.
- O'Sullivan, D. J., O'Gara, F. 1992. Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. *Microbiological Reviews*, 56: 662-676.
- Pandey, A. y Kumar, S. 1990. Inhibitory effects of *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum brasilense* on a range of rhizosphere fungi. *Indian Journal of Experimental Biology* 28: 52-54.

- Pandey, A., Sharma, E.S., Palni, L.M. 1998. Influence of bacterial inoculation on maize in upland farming systems of the Sikkim Himalaya. *Soil Biol. Biochem.* 30:379-384.
- Patten, C. L., Glick, B. R. 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Can. J. Microbiol.*, 42: 207-220
- Paulitz, T.C., Linderman, R.G. 1989. Interactions between fluorescent pseudomonas and VA mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 113:37-45.
- Perez, A., Reyes, M.N., Cuevas, J. 1980. Germination of two papaya varieties: effect of seed aeration, k-treatment, removing of sarcotesta, high temperature, soaking in distilled water and age of seeds. *J. Agr. Univ. Puerto Rico.* 64:173-180.
- Perrig, D., Boiero, L., Masciarelli, O., Penna, C., Cassán F., Luna V. 2007. Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 75: 1143-1150.
- Pestano, B. 2001. El cultivo de la papaya. [En línea] GaciCuba, grupo de apoyo a las cooperativas independientes de Cuba. Florida, U.S.A. [ref. 20 de septiembre de 2004]. Disponible en red: <http://www.proyectorural.org/pestano6.htm>
- Phillips J. M. y D.S. Hayman 1970. Improve procedures for clearing roots and staining parasite and vesicular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection *Tans. Brit. Mycol. Soc.* 55: 158-160.
- Piccoli P, Lucangeli D, Schneider G, Bottini R. 1997. Hydrolysis of [17, 17-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>] Gibberellin A20-Glucoside and [17, 17-<sup>2</sup>H<sub>2</sub>] Gibberellin A20-glucosyl ester by *Azospirillum lipoferum* cultured in a nitrogen-free biotin-based chemically-defined medium. *Plant Growth Regul.* 23:179–182
- Polonenko, D.R., Scher, F.M., Kloepper, J.W., Singleton, C.A., Laliberté, M., Zaleska, I. 1987. Effects of root colonizing bacteria on inoculation of soybean roots by *Bradyrhizobium japonicum*, *Can. J. Microbiol.* 33: 498–503.
- PRODUCE-ITESM, 2003. Fundación PRODUCE-Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. Programa Estratégico de Necesidades de Investigación y Transferencia de Tecnología del Estado de Chiapas. Disponible en:

<http://www.cofupro.org.mx/Publicacion/Archivos/penit47.pdf>. Consultado el 15 de marzo de 2010.

- Quaggio, J. A. y Raij, B. 1996. Frutíferas *In* Recomendações de Adubação e Calagem para o Estado de São Paulo. Eds. Raij B van, Canterella H, Quaggio J A, Furlani A M C. pp. 119–153. IAC, Campinas.
- Quiñones, A.E.E., D. Trejo A., T. Aguas R., R. Ferrera-Cerrato y M.C. González Ch. 1995. Respuesta de papaya (*Carica papaya* L.) a la inoculación con la endomicorriza arbuscular en tres sustratos. p. 96. In: J.L. Tovar S., V. Ordaz Ch. y R. Quintero L. (eds.). La investigación edafológica en México 1992-1995. Memorias XXVI Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Cd. Victoria, Tamaulipas, México.
- Ragupathy S, Mahadevan A. 1993. Distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plants and rhizosphere soils of the tropical plains, Tamil Nadu, India. *Mycorrhiza* **3**, 123–136.
- Raven, P. H., Evert, R. F., Eichhorn, S. E. 1992. Biology of Plants. New York: Worth. pp. 545-572.
- Ravnskov, S., Jensen, B., Knudsen, I.M.B., Bodker, L., Jensen, D.F., Karlinski, L., Larsen, J. 2006. Soil inoculation with the biocontrol agent *Clonostachys rosea* and the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* results in mutual inhibition, plant growth promotion and alteration of soil microbial communities. *Soil Biol. Biochem.* **38**:3453–3462.
- Reddy, B., Bagyaraj, D.J., Mallesha, B.C. 1996. Selection of efficient VA mycorrhizal fungi for papaya. *Biological Agricultural and Horticulture* **13**, 1–6.
- Reyes, M. N.; Pérez, A.; Cuevas, J. 1980. Detecting endogenous growth regulators on the sarcotesta, sclerotesta, endosperm and embryo by paper chromatography on fresh and old seeds of two Papaya's varieties. *Journal Agriculture University of Puerto Rico, Río Piedras*, **64**:167-172.
- Richards, D. E., King, K.E., Ait-ali, T., Harberd, N.P. 2001. How gibberellin regulates plant growth and development: A Molecular Genetic Analysis of Gibberellin Signaling. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **52**:67-88.

- Rodríguez, H. 1984. Nutrición en frutales. *Psidium guajaba* y *Carica papaya*. Boletín de reseñas. Cítricos y otros frutales. CIDA. MINAGRI. Cuba. p. 27-51.
- Rodríguez-Nodals, A. y Rodríguez-Manzano, A. 2000. El papayo MARADOL: Un aporte a la fruticultura Tropical. Revista Cubana de Agricultura 1: 73-78.
- Sabra, W., Zeng, A., Deckwer, W. 2001. Bacterial alginate: physiology, product quality and process aspects. Applied Microbiology Biotechnology. 56:325-325.
- Salisbury, F. B., y Ross, C. W. 1992. Plant Physiology. Belmont, CA: Wadsworth. pp. 357-407, 531-548.
- Sasa, M., Zahka, G., Jakobsen, I. 1987 The effect of pretransplant inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the subsequent growth of leeks in the field. Plant Soil 97:279–283.
- Sauls, J.W. y Campbell, C.W. 1980. Avocado seed germination studies. Proceedings of the Florida State Horticultural Society 93: 153-154.
- Schenck, N.C., Pérez, Y. 1988. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. INVAM, University of Florida, Gainesville, Florida. 241 pp.
- Schüßler, A., Schwarzott, D., Walker, C. 2000. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. Mycol. Research, 105:1413–1421.
- Seelig, R. A. 1970. Papaya-Fruit and vegetable facts and pointers. United Fresh Fruit and vegetable Association, Washington, D.C. P.7.
- Segura J. 2000. Introducción al desarrollo. Concepto de hormona vegetal. En: Fundamentos de Fisiología Vegetal. Azcón-Bieto J. y Talón M. (Eds.), McGraw-Hill Interamericana, Madrid, y Ediciones Universidad de Barcelona, Barcelona, pp.: 285-304.
- Sharda, W. y Rodrigues, B.F. 2008. Ecology of arbuscular micorrhizal fungi associated with *Carica papaya* L. in agro-based ecosystem of Goa, India. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 8:265-278.
- Shen, D., 1997. Microbial diversity and application of microbial products for agricultural purposes in China. Agric. Ecosyst. Environ. 62:237-245.
- Shrestha, R. K., Ladha, J. K. 1998. Nitrate in groundwater and irrigation of nitrogen-catch crop in rice-sweet pepper cropping system. Soil Science society of American Journal 62:1610-1619.

- SIAP-SAGARPA. 2008. Servicio de información agroalimentaria y pesca-Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Disponible en: <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>.
- Sieverding, E. 1991. Vesicular- arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Technical Cooperation. Federal Republic of Germany. 371 pp.
- Singh, R., Behl, R.K., Singh, K.P., Jain, P., Narula, N. 2004. Performance and gene effects for wheat yield under inoculation of arbuscular mycorrhiza fungi and *Azotobacter chroococcum*. Plant and Soil Environ. 50: 409-415.
- Singh, G. 2005. A newsletter of the ENVISC Centre on Environmental Problems of mining areas. Centre of mining environment Indian school of mines. Jharkhand, India. Disponible en: <http://www.ismenvis.nic.in/Newsletter47.pdf>. Consultado el 19 de agosto de 2010.
- Smith S.E y Read D.J. (1997) The symbiosis forming VA mycorrhizas. En: Mycorrhizal symbiosis. 2nd edition. Academic Press, Inc., San Diego, CA, (EE.UU.), pp: 9-11.
- Staley, T.E., Lawrence, E.G., Nance, E.L. 1992. Influence of a plant growth-promoting pseudomonas and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus on alfalfa and birdsfoot trefoil growth and nodulation. Biol Fertil Soils 14:175-180.
- Storey, W.B. 1985. *Carica papaya*. In: Halevy AH (Ed) CRC Handbook of Flowering (Vol II), CRC Press Inc., Boca Raton, Florida.
- Subba-Rao, N. S. 1983. Nitrogen-fixing bacteria associated with plantation and orchard plants. Can. J. Microbiol. 29:863-866.
- Sukhada, M. 1989. Response of papaya (*Carica papaya* L.) to VAM fungal inoculation: In .Mycorrhizae for Green Asia (Mahadevan, A., Raman, N. and Natarajan, K.) Madras, Alamer Printing works. Royapettah, Madras.
- Sylvia, D.M., Neal, L.H. 1990. Nitrogen affects the phosphorus response of VA mycorrhiza. New Phytologist 115: 303–310.
- Teixeira da Silva, J.A., Rashid, Z., Tan, N.D., Sivakumar, D., Gera, A., Teixeira, S. M., Tennant, P.F. 2007. Papaya (*Carica papaya* L.) Biology and Biotechnology. Tree and Forestry Science and Biotechnology. 1:47-73.



- Thompson, J.P. 1987. Decline of vesicular-arbuscular mycorrhizae in Long Fallow Disorder of field crops and its expression in phosphorus deficiency of sunflower. *Australian Journal of Agriculture Research*. 38:847-867
- Tilak, K. V. B. R., Ranganayaki, N., Pal, K. K., De, R., Saxena, A. K., Nautiyal, C. S., Mittal, S., Tripathi, A. K., Johri, B. N. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Current Science*, 89: 136-150.
- Tokuhisa, D., Días, D. C. F. S., Alvarenga, E. M., Días, L. A. S. y Marin, S. L. D. 2006. Tratamientos para Superação Da Dormência Em Sementes De Mamão. *Rev. Brasileira de Sementes*. 29: 131-139.
- Trindade A.V., Siqueira J.O., Almeida F.P. 2001. Mycorrhizal dependency of papaya commercial varieties, *Pesqui. Agropecu. Bras.* 36, 1485-1494.
- Triplett, E.W. 1996. Diazotrophic endophytes: Progress and prospect for nitrogen fixation in monocots. *Plant Soil*. 186:29–38.
- Valdés, M., Reza-Alemán, F., Furlan, V. 1993. Response of *Leucaena esculenta* to endomycorrhizae and *Rhizobium* inoculation. *World J Microbiol Biotechnol*. 9:97–99.
- Vázquez-Yanes, C., Bastis-Muñoz, A.I., Alcocer-Silva, M.I., Gual-Díaz, M., Sánchez-Dirzo, C. 1999. Árboles y arbustos nativos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. Reporte técnico del proyecto JO84. CONABIO. Instituto de Ecología, UNAM.
- Veeraswamy, J., T. Padmavathi, K. Venkateswarlu. 1992. Interaction effects of *Glomus intraradices* and *Azospirillum lipoferum* on sorghum. *Indian J. Microbiol.* 32: 305-308.
- Vessey, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255:571–586.
- Villegas, V.N. 1997. *Carica papaya* L. En: EWM Verheij, RE Coronel, eds. *Plant Resources of South-East Asia 2: Edible Fruits and Nuts*. PROSEA Foundation. Bogor, Indonesia.
- Vleeshouwers, L.M., Bouwmeester, H.J., Karssen, C.M. 1995. Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. *Journal of Ecology* 83: 1031–1037.

- Walsh, U. F., Morrissey, J. P., O'Gara, F. 2001. *Pseudomonas* for biocontrol of phytopathogens: from functional genomics to commercial exploitation. *Current Opinion in Biotechnology*, 12:289-295.
- Waterer, D.R., Coltman, R.R. 1988. Phosphorus concentration and application interval influence growth and mycorrhizal infection of tomato and onion transplants. *J Am Soc Hortic Sci* 113:704–708
- Weber, O.B., Baldani, V.L.D., Teixeira, K.R.S., Kirchhof, G., Baldani, J.I. y Dobereiner, J. 1999. Isolation and characterization of diazotrophic bacteria from banana and pineapple plants. *Plant and Soil* 210: 103-113.
- Weller, D.M., 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26: 379- 407.
- Weller, D.M., y Thomashow, L.S. 1994. Current challenges in introducing beneficial microorganisms into rhizosphere. Pages 1-17 En: *Molecular Ecology of Rhizosphere Organisms*. F. O'Gara, D.N. Dowling, and B. Boesten, eds. VCH Verlagsgesellschaft mbH. Weinheim, Germany.
- Whipps, J. M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Biology*, 52: 487-511.
- Wild, A., Russell, E.J., Wild, A. 1992. Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas segun Russell. Mundi-Prensa. España. Pp. 1055.
- Wood, C. B., H. W. Pritchard, D. Amritphale. 2000. Desiccation induced dormancy in papaya (*Carica papaya* L.) seeds is alleviated by heat shock. *Seed Science Research* 10: 135-145.
- Wu, S.C., Cao Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C., Wong, M.H. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma*.vol.125, pp.155–166.
- Yao, Q., Li, X.L., Feng, G., Christie, P. 2001. Influence of extrametrical hyphae on mycorrhizal dependency of wheat genotypes. *Communications in soil Science and Plant Analysis*. 32:3307-3317.
- Zeiger, E., Taiz, L. 2006. Fisiología vegetal. Ed. Universitat Jaume. Pp. 1907.

## 11. ANEXOS

Anexo 1. Artículo enviado y aceptado a la Revista Colombiana de Biotecnología.

**REVISTA COLOMBIANA DE  
BIOTECNOLOGÍA**



Bogotá, Junio 18 de 2010  
RCB 17-43 AP-FIN-02 AUT

Doctor  
**MARICELA CONSTANTINO ANTONIO**  
El Colegio de la Frontera Sur  
México

Respetado Doctor:

El Consejo Editorial de la Revista Colombiana de Biotecnología, ha revisado el artículo "Efecto de la biofertilización y bioreguladores en la germinación y crecimiento de *Carica papaya* L." escrito por: M. Constantino, R. Gómez-Álvarez, J.D. Álvarez-Solis, J. Pat-Fernández y G. Espín; con registro en nuestra base de datos "17-43".

Tras una lectura concienzuda y una revisión cuidadosa del artículo se considera que el artículo será publicado como artículo de investigación en el Volumen XII número 2 de diciembre de 2010 después de realizar algunos cambios de forma.

Atentamente,

Jaqueline Ramírez Piraján, MSc  
Directora Ejecutiva  
Revista Colombiana de Biotecnología  
Instituto de Biotecnología  
Universidad Nacional de Colombia  
Tel: (57-1) 316 5000 ext 16981  
<http://www.rcb.unal.edu.co>

## EFFECTO DE LA BIOFERTILIZACIÓN Y BIOREGULADORES EN LA GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE *Carica papaya* L.

### EFFECT OF BIOFERTILIZATION AND BIOREGULATORS ON GERMINATION AND GROWTH OF *Carica papaya* L.

M. Constantino<sup>1</sup>, R. Gómez-Álvarez<sup>\*1</sup>, J. D. Álvarez-Solís<sup>1</sup>, J. Pat-Fernández<sup>1</sup>, G. Espín<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>El Colegio de la Frontera Sur. Carretera Villahermosa-Reforma km 15.5. Ranchería Guineo, sección II. CP 86280. Apartado postal 1042. Villahermosa, Tabasco. E-mail: aconstan1177@gmail.com; regomez@ecosur<sup>\*1</sup>, dalvarez@ecosur.mx<sup>1</sup>, jpat@ecosur.mx<sup>1</sup>.

<sup>2</sup>Instituto de Biotecnología. Universidad Autónoma de México. Av. Universidad Numero 2001, Col. Chamilpa C.P. 62210. Cuernavaca, Morelos Apdo. Postal 510-3, C.P.62250. E-mail: espin@ibt.unam.mx.

\*Corresponding autor

#### RESUMEN

Con el objetivo de incrementar y acelerar el proceso de germinación de las semillas y obtener una alta producción y homogeneidad de plántulas de *Carica papaya* L. variedad Maradol en vivero, se evaluó el efecto de tres biofertilizantes aplicados solos o en combinación (*Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense* y *Glomus intraradices*) y un bioregulador del crecimiento vegetal, el ácido giberélico (AG<sub>3</sub>), en la germinación y el crecimiento vegetal. Se realizó un experimento bajo un diseño completamente al azar con ocho tratamientos y tres réplicas. Un pre-tratamiento germinativo con alternancia de temperatura se aplicó a las semillas, para superar la dormancia. Los tratamientos simples con *A. chroococcum* y *A. brasilense*, incrementaron el porcentaje de germinación a 90.28 y 88.89% respectivamente. Además, la velocidad de germinación se incrementó y el tiempo medio de germinación se redujo, con la aplicación de los biofertilizantes y el AG<sub>3</sub>. La doble aplicación en semillas y foliar de los biofertilizantes y el AG<sub>3</sub> en plántulas, mejoró el crecimiento vegetal. La población de *A. chroococcum* fue mayor cuando se inoculó en combinación con *G. intraradices*. La prevalencia de colonización de las plántulas inoculadas con *G. intraradices* varió de 18.53 a 26.67%, con el mayor valor registrado para el tratamiento combinado con *A. brasilense*. Finalmente, aplicando esta metodología se logró acelerar la germinación, obteniéndose una mayor homogeneidad en la emergencia de las plántulas, disminuyendo así el tiempo de permanencia en el vivero.

**Palabras clave** *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter chroococcum*, *Glomus intraradices*, ácido giberélico, dormancia

#### ABSTRACT

In order to increase and accelerate the process of seed germination and obtain a high yield and homogeneity of papaya seedlings cv. Maradol in nurseries, we evaluated the effect of three biofertilizers applied single or in combination (*Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense* and *Glomus intraradices*) and a plant growth bioregulator, the gibberellic acid 3 (AG<sub>3</sub>), on the germination and subsequent growth of *papaya* seedlings. An experimental design completely random with eight treatments and three replications were used. The application of a pre-germinal treatment with alternating temperature had to be applied to seeds to overcome dormancy. Single biofertilization with *A. chroococcum* and *A. brasilense*, promoted the germination percentage 90.28 y 88.89 % respectively. Germination rate could be enhanced and the mean germination time was reduced with the application

of biofertilizer and AG<sub>3</sub>. Both applications on seeds and leaves of biofertilizers and AG<sub>3</sub>, had a positive effect on plant growth. The population of *A. chroococcum* was higher in the combined inoculation with *G. intraradices*. The prevalence of colonization of plants inoculated with *G. intraradices* ranged from 18.53 to 26.67 %, with the greatest values recorded for the treatment involving combined inoculation with *A. brasilense*. Finally, with the application of this methodology the seed germination rate was improved, as well as the uniformity of seedlings emergence.

**Key words** *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter chroococcum*, *Glomus intraradices*, gibberellic acid, dormancy.

## INTRODUCCIÓN

La producción de papaya (*Carica papaya* L.) se encuentra entre las principales especies de frutas cultivadas comercialmente en el mundo (FAOSTAT 2007). En México la variedad Maradol roja es la de mayor importancia económica, por su alta rentabilidad, y la gran demanda para su consumo en fresco e industrializado la cual en el año 2007 fue de 7.53 kg per cápita, ocupando el quinto lugar, solo por debajo de frutas como la naranja, el plátano, el limón y la sandía (SECOFI-SNIIM 2007). La propagación de esta variedad casi siempre se realiza por semilla y aunque puede producirse vegetativamente, rara vez se hace en plantaciones comerciales debido a que el costo no se justifica por la vida económicamente corta de la plantación (Malo y Campbell 1986).

La presencia de una cubierta mucilaginosa denominada sarcotesta, que cubre externamente a las semillas de papaya, puede ocasionar dormancia física (Tokuhisa *et al.*, 2006). La dormancia es definida como la incapacidad de semillas viables e intactas para completar la germinación, bajo condiciones favorables (Bewley 1997). Para superar la dormancia y promover la germinación de las semillas de papaya se han empleado diversos tratamientos, desde la remoción de la sarcotesta (Tokuhisa *et al.*, 2006), el remojo en agua (Pérez *et al.*, 1980), secado al sol (Wood *et al.*, 2000), almacenamiento de las semillas a diferentes periodos de tiempo (Aroucha *et al.*, 2005; Tokuhisa *et al.*, 2006), la inmersión de semillas en promotores del crecimiento como el KNO<sub>3</sub> (Furatani y Nagao 1987) y el ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) (Tokuhisa *et al.*, 2006; Bautista-Calles *et al.*, 2008; Andrade-Rodríguez *et al.*, 2008).

El tratamiento de semillas con inoculantes microbianos o biofertilizantes también ha sido empleado para promover y acelerar la germinación de semillas. Según Kloepper *et al.* (1991), ciertas bacterias dentro de las denominadas Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, del inglés PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), pueden mejorar la germinación de semillas, a través de la producción y liberación de algunas sustancias reguladoras del crecimiento vegetal como auxinas, citoquininas o giberelinas en medios químicamente definidos y en asociación con las plantas (Janzen *et al.*, 1992; Cassán *et al.*, 2009).

Las PGPR y los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) han sido aplicados en viveros de plantas para mejorar el vigor, nutrición y calidad de las plantas (Lovato *et al.*, 1996). Los HMA son bien conocidos por estimular el crecimiento de las plantas hospederas, por el incremento en la toma de nutrientes del suelo, especialmente el fósforo (P), pero también otros elementos como el nitrógeno (N) y micronutrientes (Clark y Zeto 2000; Ward *et al.*, 2001). Las PGPR además de la producción de fitohormonas, involucran otros mecanismos a través de los cuales pueden estimular el crecimiento vegetal y mejorar la salud de las plantas, como la fijación de nitrógeno (Glick 1995), la solubilización de fosfatos (Kumar y Narula 1999), la producción de sustancias antifúngicas (Verma 2001) y

sideróforos (Tindale *et al.*, 2000). También existe evidencia, de que las interacciones combinadas entre los HMA y las PGPR pueden incrementar el crecimiento vegetal (Arturson *et al.*, 2006).

Para obtener una alta producción y homogeneidad de plántulas de papaya en vivero es importante incrementar y acelerar el proceso de la germinación de semillas y el establecimiento de las plántulas. Por lo que el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto que tienen diferentes biofertilizantes (*Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense* y *Glomus intraradices*) y un bio regulador del crecimiento vegetal (AG<sub>3</sub>) en el crecimiento vegetal de plántulas de *Carica papaya* L., variedad Maradol en fase de vivero.

## MATERIALES Y METODOS

El trabajo se llevó a cabo en las instalaciones de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Unidad Villahermosa, Tabasco, México. Las plantas fueron crecidas bajo condiciones de vivero a una temperatura media mínima / máxima de 28.5 / 36.5 °C, una humedad relativa de 85 % y una altitud de 10 msnm.

**Material vegetal:** Se emplearon semillas *C. papaya* L. variedad Maradol, colectadas en el mes de febrero de frutos maduros provenientes de una plantación establecida en el campo experimental de ECOSUR. Las semillas recién sacadas del fruto fueron puestas en agua destilada por 24 horas y se removió manualmente la sarcotesta (cubierta mucilaginosa que rodea a la testa). Posteriormente se eliminaron los restos de sarcotesta y las semillas que flotaban se descartaron por considerarse no viables. Las semillas se extendieron en papel formando una sola capa y se secaron durante 3 días en condiciones de sombra a temperatura ambiente (32 °C), después se colocaron en bolsas de plástico y se almacenaron en refrigeración a 15 ± 2 °C durante un mes.

**Material microbiológico y biorreguladores:** En los experimentos se utilizaron dos rizobacterias: *Azotobacter chroococcum* (INIFAT 12) y *Azospirillum brasilense* (INIFAT 6); aisladas por el Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT) de la Habana, Cuba y reproducidas en los laboratorios de ECOSUR. En la producción de los biofertilizantes líquidos, *A. chroococcum* fue cultivado en medio líquido Ashby enriquecido con NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (3 g l<sup>-1</sup>) y extracto de levadura (0.1 g l<sup>-1</sup>); mientras que *A. brasilense* fue crecido en caldo nutriente (Merck) y se mantuvieron con agitación orbital (150 rpm) a 30 °C por 60 horas para *A. chroococcum* y 48 horas para *A. brasilense*, hasta obtener una concentración de 1x10<sup>9</sup> unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc ml<sup>-1</sup>). El inóculo micorrízico empleado fue *Glomus intraradices*, con una concentración de 3000 esporas por cada 100 g de sustrato (Departamento de Suelos de la Universidad Autónoma de Chapingo, México). La solución de AG<sub>3</sub> empleada fue de 500 ppm y se preparó a partir del producto comercial Activol (Valent Biosciences).

**Sustrato:** El sustrato empleado contenía una mezcla en una proporción de 1:1:1 de arena: suelo: materia orgánica (cascarilla de cacao previamente seca y tamizada). La proporción fue hecha en base a peso (p/p). La esterilización del sustrato se realizó en autoclave a 121 °C por 1 hora por tres días consecutivos. Las características fisicoquímicas del sustrato son: textura franco-arcillo-arenoso (arcilla 25 %, limo 21 % y arena 54 %), pH (H<sub>2</sub>O): 6.1, materia orgánica: 11.2 % (Walkey y Black), N total: 0.6 % (semimicroKjeldhal), P: 66.04 mg.kg<sup>-1</sup> (Olsen). Las bases intercambiables fueron extraídas con acetato de amonio 1N a pH 7 y determinado por espectrofotometría de absorción atómica, K<sup>+</sup> 2.64 cmol kg<sup>-1</sup>, Ca<sup>2+</sup> 29.44 cmol kg<sup>-1</sup>, Mg<sup>2+</sup> 10.20 cmol kg<sup>-1</sup>, Na<sup>+</sup> 0.46 cmol kg<sup>-1</sup>.

**Tratamiento pre-germinativo:** Todas las semillas fueron desinfectadas sumergiéndolas en una solución de peróxido de hidrógeno al 10% por 3 min y posteriormente fueron lavadas tres veces con agua destilada estéril. El tratamiento de alternancia de temperatura consistió en la inmersión de las semillas en agua destilada estéril a temperatura alternada de 15–35 °C por 24 y 4 horas respectivamente.

**Siembra y aplicación de los tratamientos:** La siembra de la semilla se realizó en charolas de germinación, sembrándose una semilla por cavidad. Para la inoculación de las rizobacterias y la aplicación de AG<sub>3</sub> las semillas previamente se sumergieron en cada uno de estos tratamientos por una hora (Tabla 1). La concentración de la solución de AG<sub>3</sub> empleada fue de 500 ppm. Para la inoculación de *G. intraradices* se aplicó directamente en el sustrato 3 g por cavidad antes de la siembra de la semilla (equivalente a 30 esporas por planta) (Tabla 1). A los 10 días después de la emergencia de las plántulas se realizó una segunda aplicación de las rizobacterias y del AG<sub>3</sub> en aplicación foliar, asperjando 1 ml plántula<sup>-1</sup> de *A. chroococcum* a los tratamientos AC y MA+AC y de *A. brasilense* a los tratamientos AZOS y MA + AZOS y, 1 ml plántula<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub> (250 ppm) al tratamiento AG<sub>3</sub>. Los tratamientos MA, el tratamiento control y el testigo no recibieron aplicación foliar (Tabla 1).

**Diseño del experimento de germinación:** Se realizó un diseño completamente al azar con 8 tratamientos y tres réplicas por tratamiento en cada experimento. Cada réplica consistió de una charola de plástico con 24 cavidades. El experimento se realizó por duplicado en dos periodos de tiempo, el primero en abril y el segundo en el mes de julio de 2009. Los tratamientos empleados están descritos en la Tabla 1. El testigo recibió el tratamiento pre-germinativo con alternancia de temperatura, mientras que el control no fue sometido a la alternancia de temperatura. La germinación se evaluó diariamente durante 18 días y se consideró como semilla germinada cuando la radícula había emergido 0.5 mm aproximadamente. Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de germinación (CG), la velocidad de germinación (VG) y el tiempo medio de germinación (TMG). La velocidad de germinación (VG) se obtuvo mediante la fórmula sugerida por Copeland (1976). El tiempo medio de germinación (TMG) es el tiempo promedio requerido para que las semillas germinen, fue determinado usando la fórmula de Ellis y Roberts (1980). No se encontraron diferencias entre los dos experimentos realizados, por lo tanto los datos fueron combinados para los análisis estadísticos.

**Diseño del experimento de crecimiento vegetal:** Al terminar el experimento de germinación (35 días después de la siembra), se seleccionaron al azar 5 plántulas por cada réplica (n=15 por cada tratamiento), excluyendo las plántulas del tratamiento control ya que solo el 20 % de las semillas germinadas lograron sobrevivir. Las variables evaluadas fueron: altura (cm), diámetro del tallo (mm), número de hojas, biomasa fresca (g) y biomasa seca (g). Para determinar la población de *A. chroococcum* y *A. brasilense* en los tratamientos que recibieron estas rizobacterias, se muestrearon cinco gramos de raíces + suelo rizosférico por plántula y, se realizó el método de diluciones seriadas, sembrando por triplicado 100 µl de las diluciones 10<sup>-2</sup> a 10<sup>-4</sup> en cajas de petri con medio de cultivo Burk libre de nitrógeno (Kozubek *et al.*, 1996), adicionado con ácido nalidixico (20 µg ml<sup>-1</sup> de medio de cultivo) para *A. chroococcum*, mientras que para *A. brasilense* se empleó el medio de cultivo Rojo Congo (Rodríguez-Cáceres 1982). El porcentaje de colonización micorrízica se evaluó usando el método de clareo y tinción de Phillips y Hayman (1978).

Tabla 1. Tratamientos experimentales

Tratamientos	Descripción	Concentración		AT	AF
		Rizobacteria	HMA		
AC	<i>A. chroococcum</i>	1x10 <sup>9</sup> ufc ml <sup>-1</sup>	----	(+)	(+)
MA+AC	<i>G. intraradices</i> + <i>A. chroococcum</i>	1x10 <sup>9</sup> ufc ml <sup>-1</sup>	30 esporas/planta	(+)	(+)
AZOS	<i>A. brasilense</i>	1x10 <sup>9</sup> ufc ml <sup>-1</sup>	----	(+)	(+)
MA+AZOS	<i>G. intraradices</i> + <i>A. brasilense</i>	1x10 <sup>9</sup> ufc ml <sup>-1</sup>	30 esporas/planta	(+)	(+)
MA	<i>G. intraradices</i>	----	30 esporas/planta	(+)	(-)
AG <sub>3</sub>	Ácido giberélico (500 ppm)	----	----	(+)	(+)
TESTIGO	----	----	----	(+)	(-)
CONTROL	----	----	----	(-)	(-)

Los signos (+) indican aplicación y (-) indican la no la aplicación de alternancia de temperatura (AT) y/o aplicación foliar (AF).

**Análisis estadístico:** Los resultados del porcentaje de germinación previamente fueron transformados a valores de raíz cuadrada debido a la no normalidad de los datos. Posteriormente estos resultados y los de TMG, VG y las variables de crecimiento vegetal, fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Datos no transformados se presentan en la figura 1. La comparación de medias se realizó con la prueba de rango múltiple de Duncan (P<0.05), usando el paquete estadístico STATISTICA versión 8.0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La germinación de semillas de *C. papaya* L. inició al sexto día después de la siembra, en los tratamientos que se sometieron a la alternancia de temperatura. Para el tratamiento control, el día inicial de germinación se observó al décimo día (Figura 1). La aplicación de la alternancia de temperatura en las semillas de *C. papaya* L. incrementó positivamente los valores de todos los parámetros de germinación evaluados (porcentaje de germinación, velocidad de germinación y tiempo medio de germinación), en comparación con el tratamiento control, en el cual las semillas no se sometieron a este tratamiento pre-germinativo (Tabla 2). El tratamiento con AC registró el mayor porcentaje de germinación (90.28 %), pero solo resultó significativamente diferente (P<0.05) al tratamiento MA (76.39 %) y al tratamiento control (15.28 %), los cuales reportaron los valores más bajos de porcentaje de germinación (Tabla 2). Esto podría indicarnos que la alternancia de la temperatura fue el principal factor que influyó en la superación de la dormancia y en la promoción de la germinación, más que la aplicación de biofertilizantes y el AG<sub>3</sub>.

De acuerdo a Vleeshouwers *et al.* (1995) la temperatura puede inducir o romper la dormancia de las semillas. En *C. papaya* L. se ha observado una estrecha correlación entre los ciclos de temperatura y la pérdida de la dormancia (Tokuhisa *et al.*, 2006). Los resultados obtenidos aquí sugieren que la germinación de semillas de *C. papaya* L. mejoran al someterlas a una temperatura menor a la cual



germinan antes de la siembra. Resultados similares fueron encontrados por Furatani y Nagao (1989), al someter las semillas a un tratamiento de pre-acondicionamiento a 24 °C antes de la germinación a 32 °C. De acuerdo a Carvalho y Nacagawa (2000), la acción de bajas temperaturas aunado a una alta humedad está relacionada con cambios en el equilibrio entre hormonas inhibitoras (ácido absicico) y promotoras de la germinación (giberelinas).

La eliminación de la sarcotesta mejoró la germinación, ya que esta puede actuar como una barrera evitando la lixiviación de las sustancias inhibitoras de la germinación (principalmente compuestos fenólicos), durante la inmersión de las semillas en agua (Tokuhisa *et al.*, 2006). La presencia de compuestos fenólicos en la sarcotesta y en la esclerotesta también pueden impedir la germinación (Reyes *et al.*, 1980; Tokuhisa *et al.*, 2007), ya que estos compuestos consumen oxígeno durante el proceso de oxidación restringiendo la entrada de oxígeno que llega al embrión (Bewley y Black 1994). Por otra parte, en semillas de diferentes especies la dormancia es ocasionada por un balance hormonal desfavorable entre promotores de crecimiento como las giberelinas (GA) e inhibidores de la germinación, como el ácido abcísico (ABA) (Bewley 1997).

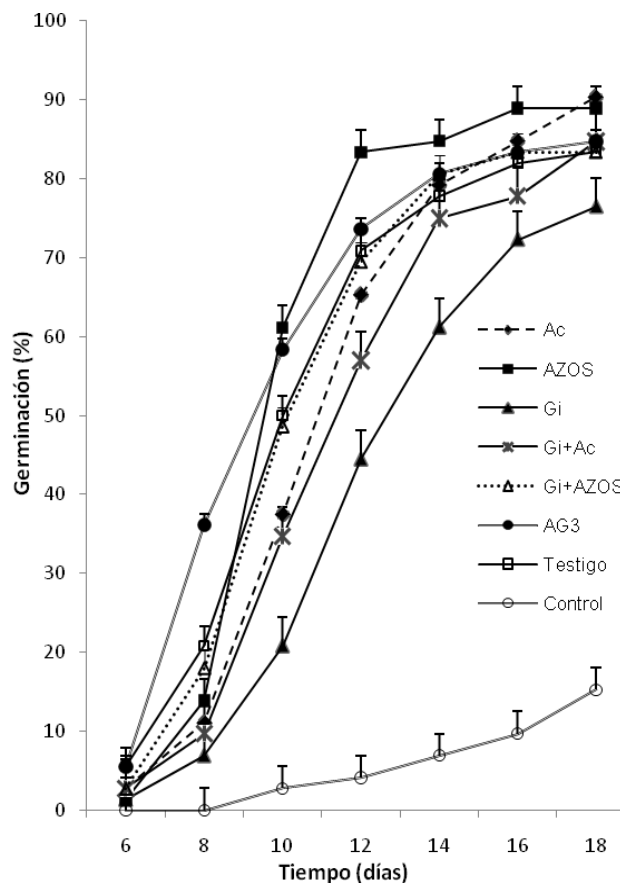


Figura 1. Germinación acumulada de semillas de *C. papaya* L. bajo diferentes tratamientos. Las claves de los tratamientos están descritas en la Tabla 1.

Cada punto representa el promedio de los dos experimentos con tres réplicas. Las barras de error indican el error estándar de la media.

La máxima velocidad de germinación se registró para los tratamiento AG<sub>3</sub> y AZOS (8.99 % y 8.94 % de semillas día<sup>-1</sup> respectivamente), pero solo resultaron significativamente diferentes (p<0.05) a los tratamientos AC+MA, AC y contro, los cuales registraron la velocidad de germinación más bajas con 7.53 %, 6.40 % y 1.05 % de semillas día<sup>-1</sup> respectivamente (Tabla 2). El tiempo promedio para la germinación de las semillas (TMG), se redujo de manera significativa a 10 días en las semillas que fueron tratadas con AG<sub>3</sub>, AZOS, MA+AZOS, y testigo en comparación con los demás tratamientos que reportaron valores desde 11 días (AC y AC+MA), 12 días (MA) y 14 días (control) (Tabla 2).

El AG<sub>3</sub> es uno de los bioregulador más usados comercialmente, posee más de un sitio de acción en la estructura de la semilla y está directamente relacionado con la terminación de la latencia del embrión, con la velocidad de germinación de semillas y el crecimiento inicial de las plántulas (Hartmann y Kester 1987). En los resultados de la tabla 2, se puede observar que la aplicación de 500 ppm de AG<sub>3</sub> mejoró el porcentaje de germinación, la velocidad y el tiempo medio de germinación en comparación con el control, aunque no se encontraron diferencias significativas con el testigo. De acuerdo a Furatani y Nagao (1987) y Andrade-Rodríguez *et al.* (2008) la aplicación de 600 ppm de AG<sub>3</sub> incrementó el porcentaje de germinación de semillas de papaya. En frutales como el aguacate (*Persea americana Mill.*) y Kiwi (*Actinidia deliciosa Chev.*), la aplicación de AG<sub>3</sub> también ha registrado efectos positivos en el porcentaje de germinación de semillas (Sauls y Campbell 1980; Celik *et al.*, 2006).

Asimismo, diversos autores han encontrado que al aplicar *Azotobacter* y *Azospirillum* a semillas antes de la siembra, se mejora la germinación y el crecimiento de plantas, debido a que estos géneros de bacterias aparte de tener la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, también sintetizan sustancias biológicamente activas como aminoácidos, vitaminas, ácido indol acético (AIA) y giberelinas en cultivos puros (González-López *et al.*, 2005; Perrig *et al.*, 2007). De acuerdo a Nezarat y Gholami (2009), la aplicación de rizobacterias, *A. brasilense*, *A. lipoferum*, *P. fluorescens*, *P.* y *P. putida* a semillas de maíz, incrementaron el porcentaje de germinación. En semillas de chile habanero, la aplicación de *Azospirillum* sp. aceleró el proceso de germinación en 24 horas (Canto-Martín *et al.*, 2004). Para romper la dormancia de las semillas de *C. papaya* L. fue necesario someterlas al tratamiento de alternancia de temperatura, y aunque la aplicación de los biofertilizantes y el AG<sub>3</sub> incrementaron los parámetros de germinación, estos resultados no fueron significativamente diferentes al testigo el cual solo recibió la alternancia de temperatura.

Tabla 2. Efecto de la biofertilización y ácido giberélico en los parámetros de germinación.

TRATAMIENTOS	PORCENTAJE DE GERMINACIÓN	VG (Días)	TMG (Días)
AC	90.28 a	1.95 ab	11.78 bcd
MA+AC	84.72 ab	1.81 b	11.95 cd
AZOS	88.89 a	2.09 a	10.50 ab
MA+AZOS	83.33 ab	1.95 ab	10.71 abc
MA	76.39 b	1.54 c	12.59 d
AG <sub>3</sub>	84.72 ab	2.16 a	10.02 a
TESTIGO	83.33 ab	1.99 ab	10.67 abc
CONTROL	15.28 c	0.25 d	14.98 e

Medias con letras diferentes, difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan (P<0.05) a>b>c>d>e. Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 1. Donde, Velocidad de Germinación (VG) y Tiempo Medio de Germinación (TMG).

El ácido giberélico también se ha empleado para aumentar el crecimiento vegetal de plántulas y reducir el tiempo de la etapa en vivero, en diversos frutales entre ellos papaya (*C. papaya* L.) (Andrade-Rodríguez *et al.*, 2008), Manzana golden (*Spondias dulcis* Parkinson), Lima ó Limoncillo (*Melicoccus bijugatus* Jacq.), Tamarindo (*Tamarindus indica* L.), Chicozapote (*Manilkara zapota* L.) (Morales-Payan y Santos 1997a, b). Los resultados obtenidos aquí, demostraron que las plántulas generadas a partir de semillas tratadas con AG<sub>3</sub> y que fueron asperjadas vía foliar con 1ml plántula<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub> (250 ppm), incrementaron de forma significativa (p<0.05%) todos los parámetros de crecimiento evaluados, en comparación a los otros tratamientos (Tabla 3). Resultados similares fueron encontrados por Andrade-Rodríguez *et al.* (2008), en plántulas de papaya emergidas de semillas tratadas con una solución de 1mM (346 ppm) de AG<sub>3</sub>, obteniéndose un incremento en la altura y en el número de hojas en comparación con el tratamiento testigo que solo recibió agua destilada.

La doble inoculación (semilla y foliar) de *A. chroococcum* y *A. brasilense*, y la aplicación de *G. intraradices* (sustrato) solos o en combinación registraron valores de biomasa fresca y seca significativamente mayor con respecto al tratamiento testigo (Tabla 3). Por otra parte, no se encontraron diferencias significativas cuando se aplicó *A. chroococcum* simple (AC) o en combinación con *G. intraradices* (MA) en ninguno de los parámetros de crecimiento, pero cuando se aplicó *A. brasilense* la altura de las plántulas se incrementó significativamente en comparación cuando se aplicó en combinación con *G. intraradices*. Por otra parte, la aplicación simple de *G. intraradices* no mostró diferencias en la altura ni en la biomasa fresca de las plántulas cuando se aplicó en combinación con *A. chroococcum* ni con *A. brasilense*. En cuanto a la biomasa seca, la aplicación combinada de *A. chroococcum* y *G. intraradices* mejoró positivamente los valores de biomasa en comparación con la aplicación simple de *G. intraradices*. Similarmente, la aplicación combinada de *A. brasilense* y *G. intraradices* incrementaron de forma positiva el diámetro de tallo de las plántulas en comparación cuando se aplicó solamente *G. intraradices*. La biofertilización foliar con *Azotobacter* en cultivos como el arroz, ha registrado incrementos en el rendimiento de grano (Kannaiyan *et al.*, 1980).

Tabla 3. Efecto de la biofertilización y AG<sub>3</sub> en el crecimiento de plántulas de *C. papaya* L. a los 35 días después de la siembra.

TRATAMIENTOS	ALTURA (cm)	DIAMETRO TALLO (mm)	NUMERO HOJAS	BIOMASA FRESCA (g)	BIOMASA SECA (g)
AC	10.24 c	4.47 c	5.1 c	3.4659 b	0.4573 bc
MA+AC	9.95 cd	4.63 bc	5.1 c	3.6675 b	0.4748 b
AZOS	11.28 b	3.81 d	5.4 bc	3.4890 b	0.4463 c
MA+AZOS	9.29 de	4.81 b	5.2 c	3.3946 b	0.4500 c
MA	9.80 cde	4.59 c	5.9 b	3.3793 b	0.4364 c
AG3	21.02 a	5.35 a	7.5 a	4.1776 a	0.5199 a
TESTIGO	9.20 e	3.66 d	5.3 c	2.3373 c	0.3380 d

Medias con letras diferentes, difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan (P<0.05) a>b>c>d>e. Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 1.

Los resultados obtenidos demuestran que la aplicación conjunta de las PGPR con HMA promueve algunos, pero no todos los parámetros del crecimiento vegetal. Similarmente, en un trabajo realizado por Alarcón *et al.* (2002) encontraron que la aplicación combinada de *A. brasilense* y micorrizas en plántulas de papaya, incrementaron solo los valores de biomasa seca y el área foliar en comparación con las plántulas no micorrizadas. En cultivos como el maíz (*Zea mays* L.) (Elgala *et al.*, 1995) y lechuga (*Lactuca sativa* L.) (Brown y Carr 1984), la aplicación combinada de *A. chroococcum* y micorrizas también incrementaron algunos parámetros del crecimiento vegetal evaluados.

Por otra parte, de acuerdo a Allan *et al.* (2000), las semillas de papaya variedad Solo, contienen una importante reserva de nutrientes, específicamente de N y P. Además, los altos contenidos de N y P determinados en el sustrato empleado, podrían haber influido en la escasa respuesta a los tratamientos evaluados. Estos factores podrían explicar porque en esta etapa temprana de crecimiento, las semillas que no recibieron ningún tratamiento de biofertilización o de AG<sub>3</sub> no difirieron significativamente en algunos parámetros de crecimiento evaluados (Tabla 3). Por otra parte, se ha observado que las etapas iniciales después de la inoculación con HMA no afectan significativamente el crecimiento vegetal, pero después crece mucho más rápido que las plantas no micorrizadas (Manjunat y Bagyaraj 1981). Lo cual podría explicarse al tiempo requerido por las esporas o hifas fúngicas para infectar y ramificarse dentro de las raíces y para establecer una relación simbiótica con las plantas.

Entre las PGPR y los HMA pueden establecerse diversos tipos de relaciones, desde relaciones benéficas, neutrales o perjudiciales. Estas rizobacterias pueden influenciar la formación y función de las micorrizas. De igual forma, las micorrizas pueden afectar cuantitativamente y cualitativamente las poblaciones microbianas (Azcón-Aguilera y Barea 1992, 1995; Barea *et al.*, 2004; Johansson *et al.*, 2004). A los 35 días después de la siembra las poblaciones de ambas rizobacterias lograron establecerse en la rizosfera de *C. papaya* L. Para *A. chroococcum* la aplicación combinada con *G intraradices* incrementó significativamente ( $p < 0.5$ ) su población, que cuando esta rizobacteria se aplicó de forma simple. Mientras que para *A. brasilense* no se encontraron diferencias significativas cuando se aplicó de forma simple o en combinación con *G. intraradices* (Tabla 4).

En diversos trabajos se ha demostrado que la papaya es una especie micotrófica, es decir, dependiente de la inoculación micorrízica (Jaizme-Vega y Azcón 1995). En especies altamente micotróficas como la cebolla, se ha observado infección micorrízica con hifas internas y presencia de arbusculos a los 15 días después de la siembra, con un incremento progresivo en el porcentaje de infección a los 35 días (Manjunath y Bagyaraj 1981). La evaluación de la infección micorrízica en raíces de *C. papaya* L. a los 35 días después de la inoculación, indicaron que el tratamiento combinado de HMA con *A. brasilense* reportó el mayor porcentaje de infección (26.67%) y difirió significativamente ( $p < 0.05$ ) con los tratamientos restantes que también recibieron HMA. La aplicación simple de HMA no difirió significativamente cuando se aplicó en combinación con *A. chroococcum*, pero si cuando se aplicó en combinación con *A. brasilense* (Tabla 4). La respuesta de la planta a la inoculación con HMA dependerá del nivel de fertilidad del suelo, de la planta hospedera y del hongo (Sharda y Rodríguez 2008).

El bajo porcentaje de colonización micorrízica registrado en todos los tratamientos, pudo haber sido ocasionado por el alto contenido de P en el sustrato ( $66 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Niveles altos o muy bajos de P según Koide (1991), pueden reducir la infección y colonización de la raíz. De acuerdo a Trindade *et al.* (2001), altas dosis de P disponible afectaron la eficiencia de los HMA para colonizar las raíces de cuatro variedades de papaya, recomendando además, que una dosis de 12 a  $16 \text{ mg dm}^3$  de P es suficiente para incrementar la colonización micorrízica. Aunque, el nivel de P más adecuado, dependerá de la especie vegetal y el hongo (Graham *et al.*, 1996).

Tabla 4. Población de rizobacterias y colonización micorrízica de *C. papaya* L. 35 días después de la siembra en condiciones de vivero.

Tratamientos	Poblacion de Rizobacterias (ufc g suelo <sup>-1</sup> )	Colonización Micorrízica (%)
AC	0.71X10 <sup>5</sup> a	----
MA+AC	2.14X10 <sup>5</sup> a	21.87 b
AZOS	0.15X10 <sup>5</sup> b	----
MA+AZOS	0.27X10 <sup>5</sup> b	26.67 a
MA	----	18.53 b
AG3	----	----
TESTIGO	----	----

Medias con letras diferentes, difieren significativamente de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan (P<0.05) a>b. Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 1.

## CONCLUSIONES

La dormancia presente en las semillas de *C. papaya* L. se eliminó con la aplicación de alternancia de temperatura de 15/36 °C por 24 y 4 horas respectivamente. Asimismo, la inoculación de semillas con microorganismos y AG<sub>3</sub>, demostraron ser un método potencial para la promoción de la germinación y emergencia de plántulas, aunque en este trabajo no lograron superar significativamente al tratamiento que solo recibió alternancia de temperatura.

Además, el crecimiento vegetal de *C. papaya* L. puede ser mejorado con la doble aplicación (en semillas y foliar) de los biofertilizantes y el AG<sub>3</sub>, bajo estas condiciones experimentales. Registrándose además, un efecto sinérgico con la aplicación combinada de las rizobacterias con *G. intraradices*, en algunos parámetros del crecimiento vegetal, como la biomasa seca y el diámetro del tallo.

A través de la metodología utilizada en este trabajo, se logró disminuir el tiempo de permanencia en vivero de plántulas de *C. papaya* L. con respecto al control, lo que aumentó la disponibilidad de plántulas de calidad y una mejor respuesta al trasplante en campo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alarcón, A., Davies, F. Jr., Egilla, J.N., Fox, T.C., Estrada-Luna, A.A., Ferrera-Cerrato, R. 2002. Short term effects of *Glomus claroideum* and *Azospirillum brasilense* on growth and root acid phosphatase activity of *Carica papaya* L. under phosphorous stress. Rev. Latinoam. Microbiol. 44:31-37.
- Allan, P., Taylor, N.J., Dicks, H.M. 2000. Fertilization of Solo papayas with nitrogen, phosphorus and potassium. Acta Hort. 511: 27-33.
- Andrade-Rodríguez, M., Ayala-Hernández, J.J., Alia-Tejacal, I., Rodríguez-Mendoza, H., Acosta-Durán, C.M., López-Martínez, V. 2008. Efecto de promotores de la germinación y sustratos en el desarrollo de plántulas de papayo. Rev. Fac. Agron. 25: 617-635.
- Aroucha, E.M.M.; Silva, R.F.; Oliveira, J.G.; Viana, A.P., Gonzaga, M.P. 2005. Época de colheita e período de repouso dos frutos de mamão (*Carica papaya* L.) cv. Golden na qualidade fisiológica das sementes. Ciência Rural, Santa Maria, 35:537-543.

- Artursson, V., Finlay, R.D., Jansson, J.K. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth. *Environ Microbiol* 8: 1-10.
- Azcón-Aguilar, C., Barea, J.M. 1992. Interactions between mycorrhizal fungi and other rhizosphere micro-organisms. In: Allen MJ, ed. *Mycorrhizal functioning: an integrative plant–fungal process*. New York: Chapman & Hall, 163-198p.
- Azcón-Aguilar, C., Barea, J.M. 1995. Saprophytic growth of arbuscular–mycorrhizal fungi. In: Hock B, Varma A, eds. *Mycorrhiza structure, function, molecular biology and biotechnology*. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag, 391–407.
- Barea, J.M., Azcón, R., Azcón-Aguilar, C. 2004. Mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria. In: Varma A, Abbott L, Werner D, Hampp R, eds. *Plant surface microbiology*. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag, 351–371
- Bautista-Calles, F., Carrillo-Castañeda, G., Villegas-Monter, A. 2008. Recuperación de la alta capacidad de germinación de la semilla de papaya mediante la tecnología de precondicionamiento y biorreguladores. *Agrociencia*. 42: 817-826.
- Bewley, J.D.; Black, M. 1994. *Seeds: physiology of development and germination*. 2. ed. New York: Plenum Press. Pp. 445.
- Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*. 9: 1055-1066.
- Brown, M.E., Carr, G.R. 1984. Interactions between *Azotobacter chroococcum* and vesicular-arbuscular mycorrhiza and their effects on plant growth. *Journal of Applied Bacteriology* 56:429-437.
- Canto-Martín, J. C., Medina, P. S., Morales, A. D. 2004. Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp. en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jaquin). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 4: 21-27.
- Carvalho, N.M.; Nakagawa, J. 2000. *Sementes, ciencia, tecnologia e produção*. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, Pp. 588.
- Cassán, F., Perrig, D., Sgroy, V., Masciarelli, O., Penna, C., Luna, V. 2009. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.). *European Journal of soil biology*. 45:28-35.
- Celik, H., Zenginbal, H., Özcan, M. 2006. Enhancing germination of kiwifruit seeds with temperature, medium and gibberellic acid. *Hort. Sci. (Prague)*. 33: 39-45.
- Clark, R.B., Zeto, S.K. 2000. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *J. Plant Nut.* 23: 867–902.
- Copeland, L.O. 1976. *Principles of seed science and technology*, Burges Pub. Co. U.S.A. pp.55-200.
- Elgala, H. M., Ishac, Y. Z., Abdel-Monem, M., El-Ghandour, I. A. I., Huang, P.M., Berthelin, J., Bollag, J. M., McGill, W. B., Page, A. L. 1995. Effect of single and combined inoculation with *Azotobacter* and VA mycorrhizal fungi on growth and nutrient content of maize and wheat plants. *Environmental Impact of Soil Component Interaction* 2: 109-116.
- Ellis, R.H., Hong, T.D., Roberts, E.H. 1991. Effect of storage temperature and moisture on the germination of papaya seeds. *Seed Science Research* 1: 69-72.
- FAOSTAT, 2007. Base de datos (en línea). Disponible en: <http://faostat.fao.org>. Consultado en febrero de 2010.
- Furatani, S.C., Nagao, M.A. 1987. Influence of temperature, KNO<sub>3</sub>, GA<sub>3</sub> and seed drying on emergence of papaya seedlings. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.32, p.67-72, 1987.
- Furatani, S.C., Nagao, M.A. 1989. Influence of preconditioning temperatures on papaya seed germination. *J. Haw. Pac. Agri.* 2:22-23.

- Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41: 109–117.
- González-López, L., Rodelas, B., Pozo, C., Salmerón-López, V., Martínez-Toledo, M.V., Salmerón, V. 2005. Liberation of amino acids by heterotrophic nitrogen fixing bacteria. *Amino Acids.* 28: 363–367.
- Graham, J.H., Linderman, R.G., Menge, J.A. 1982. Development of external hyphae by different isolates of mycorrhizal *Glomus* spp. In relation to root colonization and growth of Troyer citrange. *New Phytol.* 91:183-189.
- Hartmann, H. T., Kester, E. 1987. Propagación de plantas: principios y prácticas. Ed. CECOSA. México. Pp. 759.
- Jaizme-Vega, M.C., Azcón, R. 1995. Response of some tropical and subtropical cultures to endomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza.* 5:213-217.
- Janzen, R.A., Rood S.B., Dormaar, J.F., McGill W. B. 1992. *Azospirillum brasilense* produces gibberellin in pure culture on chemically defined medium and in co-culture on straw. *Soil Biol. Biochem.* 24: 1061-1064.
- Johansson, J.F., Paul L.R., Finlay R.D. 2004. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiology Ecology* 48, 1–13.
- Kannaiyan, S., Govindarajan, K., Lewin, H.D. 1980. Effect of foliar spray of *Azotobacter chroococcum* on rice crop. *Plant and soil.* 6: 487-490.
- Kloepper, J.W. y Zablokovicz, R.M., Tipping, E.M., Lifshitz, R. 1991. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In D. L. Keister & P. B. Cregan (Eds.). *The rhizosphere and plant growth* (pp. 315-326). The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Koide, R.T. 1991. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection. *New Phytol.* 117:365-386.
- Kozubek, A., Pietr, S., Cserwonka, A. 1996. Alkyresorcinols are abundant lipid components in different strains of *Azotobacter chroococcum* and *Pseudomonas* spp. *Journal of Bacteriology.* 178:4027-4030.
- Kumar, V., Narula, B. 1999. Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *A. chroococcum* mutants. *Biology and Fertility of Soils* 28: 301-305.
- Lovato, .PE., Gianinazzi-Pearson, V., Trouvelot, A., Gianinazzi, S. 1996. The state of art of mycorrhizas and micropropagation. *Adv. Hort. Sci.* 10:46-52.
- Malo, S.E.; Campbell, C.W. 1986. The papaya. Gainesville, Fla: University of Florida. (Cooperative Extension Service Fruit Crops Fact Sheet FC - 11).
- Manjunath, A. y Bagyaraj, D.J. 1981. Intensity of Mycorrhizal Infection and response of onion at different stages of growth. *Plant and soil.* 63:295-298.
- Morales-Payan, J.P., Santos, B.M. 1997a. Effect of nitrogen, gibberellic acid, triadimefon, and kinetin on the seedling growth of sapodilla (*Achras sapota* ) and tamarind (*Tamarindus indica* ). *HortScience* 32:437.
- Morales-Payan, J. P., Santos, B.M. 1997b. Effect of gibberellic acid 3 and nitrogen on the seedlings of the tropical fruits *Malpighia punicifolia*, *Spondias dulcis*, and *Melicoccus bijugatus* . *HortScience* 32:602-603.
- Nezarat, S., Gholami, A. 2009. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving seed germination, seedling growth and yield of maize. *Pakistan Journal of Biological Science.* 12:26-32.
- Pérez, A., Reyes, M.N., Cuevas, J. 1980. Germination of two papaya varieties: effect of seed aeration, K-treatment, removing of the sarcotesta, high temperature, soaking in distilled water and age of seed. *J. Agr. Univ. Puerto Rico* 64: 173-180.

- Perrig, D., Boiero, L., Masciarelli, O., Penna, C., Ruiz, O., Cassan, F., Luna, V. 2007. Plant growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and their implications for inoculant formulation. *Appl. Microbiol. Biotechnolog.* 75:1143-1150.
- Phillips, J.M., Hayman D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment to infection. *Trans Br Mycol Soc.* 55:158-161.
- Reyes, M.N., Pérez, A., Cuevas, J. 1980. Detecting endogenous growth regulators on the sarcotesta, sclerotesta, endosperm and embryo by paper chromatography on fresh and old seeds of two Papaya's varieties. *Journal Agriculture University of Puerto Rico, Río Piedras*, 64:167-172.
- Rodríguez-Cáceres, E.A. 1982. Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 990-991.
- Sauls, J.W., Campbell, C.W. 1980. Avocado seed germination studies. *Proc. Fla. State. Hort. Soc.* 93: 153-154.
- SECOFI-SNIIM, 2007. Consumo nacional aparente de productos agrícolas seleccionados. Disponible en: <http://www.secofi-sniim.gob.mx>. Consultado en febrero de 2010.
- Sharda, W.K., Rodrigues, B.F. 2008. Ecology of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Carica papaya* L. in agro-based ecosystem of Goa, India. *Tropical and Subtropical Agroecosystems.* 8:265-278.
- Tindale, A. E., Mehrotra, M., Ottem, D., Page, W. J. 2000. Dual regulation of catechol siderophore biosynthesis in *Azotobacter vinelandii* by iron and oxidative stress. *Microbiology.* 146: 1617–1626.
- Tokuhsa, D., Días, D.C.F.S., Alvarenga, E. M., Días, L. A. S., Marin, S. L. D. 2006. Tratamientos para Superación Da Dormência Em Sementes De Mamão. *Rev. Brasileira de Sementes.* 29: 131-139.
- Tokuhsa, D., Dos Santos, D. D.C.F., Mantovani, A.E., Hilst, P.C., Demuner, A.J. 2007. Compostos fenólicos inibidores da germinação em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). *Revista brasileira de sementes.* 29:180-188.
- Trindade, A.V., Siqueira, J.O., de Almedia, F.P. 2001. Dependência micorrízica de variedades comerciais de mamoeiro. *Pesq. agropec.* 12: 1485-1494.
- Verma, S., Kumar, V., Narula, N., Merbach, W. 2001. Studies on in vitro production of antimicrobial substances by *Azotobacter chroococcum* isolates/mutants. *Journal of Plant Diseases and Protection* 108: 152–165.
- Vleeshouwers, L.M., Bouwmeester, H.J., Karssen, C.M. 1995. Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. *Journal of Ecology* 83: 1031-1037.
- Ward, N.I., Stead, K., Reeves, J. 2001. Impact of endomycorrhizal fungi on plant trace element uptake and nutrition. *Nut. Pract.*, 32: 30–31.
- Wood, C.B., Pritchard, H.W., Amritphale, D. 2000. Desiccation induced dormancy in papaya (*Carica papaya* L.) is alleviated by heat shock. *Seed Sci. Res.* 10: 135-145.





**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA-COLEGIO DE INGENIEROS AGRÓNOMOS-MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA**

---

Centro de Investigaciones Aeronómicas. Universidad de Costa Rica. San Pedro de Montes de Oca-Tel 2511-3057 Fax: 2234-1627 e mail: rac.cia@ucr.ac.cr

02 de septiembre de 2010  
RAC-196-10

Señora  
Maricela Constantino  
Presente

Estimada autora:

Acuso recibo del manuscrito titulado: **“Efecto del momento de inoculación de *Azotobacter* y hongos micorrízicos en el crecimiento y nutrición de plántulas de papaya en fase de vivero”**, enviado por usted el 30 de agosto de 2010 a la Revista, para su posible publicación.

Atentamente,

M. Sc. Silvia Elena Arce Quesada  
**Editora**  
**Revista Agronomía Costarricense**

Anexo 2. Artículo enviado a la Revista Agronomía Costarricense

**Efecto del momento de inoculación de *Azotobacter* y hongos micorrízicos en el crecimiento y nutrición de plántulas de papaya en fase de vivero**

Maricela Constantino<sup>1</sup>, Regino Gómez-Álvarez<sup>1\*</sup>, José David Álvarez-Solís<sup>1</sup>, Juan Manuel Pat-Fernández<sup>1</sup>,  
Elda Guadalupe Espín<sup>2</sup>.

**RESUMEN**

En el presente estudio se evaluó el momento y el número de aplicaciones de los biofertilizantes (*Azotobacter chroococcum* y *Glomus intraradices*), sobre el crecimiento, biomasa y nutrición de papaya en fase de vivero. También se estudió el efecto de la materia orgánica y su interacción con los biofertilizantes aplicados. Se realizaron dos experimentos, en el primer experimento se aplicaron dos inoculaciones, en semillas y después en plántulas con 30 días después de la emergencia. En el segundo experimento aplicó una inoculación simple en plántulas, 30 días después de la emergencia. Estos experimentos se realizaron utilizando un diseño factorial 5x4 (cinco substratos x cuatro biofertilizantes). Todos los tratamientos fueron aplicados como inoculantes simples o combinados (*A. chroococcum* y *G. intraradices*) para un total de 20 tratamientos, con un diseño completamente al azar. La doble inoculación (semilla y plántula) promovió un mayor crecimiento y biomasa en el cultivo en comparación la inoculación simple (solo en plántulas); cuando se adicionó una dosis intermedia de materia orgánica (25 y 35%) y se aplicó *G. intraradices* como simple inoculante. Sin embargo, la inoculación simple o combinada no modificó el contenido de nutrientes en las plántulas de papaya.

**Palabras clave** Biofertilizantes, *Glomus intraradices*, rizobacterias, inoculación de semillas, materia orgánica.

---

<sup>1</sup>El Colegio de la Frontera Sur. Carretera Villahermosa-Reforma km 15.5. Ranchería Guineo, sección II. CP 86280. Apartado postal 1042. Villahermosa, Tabasco.

<sup>2</sup>Instituto de Biotecnología. Universidad Autónoma de México. Av. Universidad Numero 2001, Col. Chamilpa C.P. 62210. Cuernavaca, Morelos Apdo. Postal 510-3, C.P.62250.

\*Autor para correspondencia. Correo electrónico: regomez@ecosur.mx

## **Effect of time of inoculation of *Azotobacter* and mycorrhizal fungi on growth and content nutrient of papaya seedlings in nursery phase**

### **ABSTRACT**

The effect of time of inoculation (at sowing or seedling emergence) and the number of application using two biofertilizer (*Azotobacter chroococum* and *Glomus intraradices*) were tested on growth, biomass and nutrition of papaya, under nursery phase. The effect of the organic matter and its interaction with the biofertilizers also was evaluated. Two experiments were realized, in the first experiment two inoculations were applied, in seeds and afterwards in seedlings with 30 days post emergency. In the second experiment we applied a single inoculation in seedlings, 30 days post emergence. These experiments were performed using a 5x4 factorial design (five substrates x four biofertilizer). All treatments were applied as single or combined inoculants (*A. chroococum* and *G. intraradices*) for a total of 20 treatments, in a completely randomized design. The double inoculation (seed and seedling) promoted a higher growth and biomass in the crop than single inoculation (only seedlings); when organic matter was added to an intermediate dose (25 and 35%) and *G. intraradices* was applied as a single inoculant. However, the single or double inoculation did not modify the nutrient content in papaya seedling.

**Keywords:** Biofertilizer, *Glomus intraradices*, rhizobacterias, seed inoculation, organic matter.

### **INTRODUCCIÓN**

El cultivo de papaya requiere de un suelo fértil y rico en materia orgánica, debido a su rápido crecimiento (Rodríguez 1984). La incorporación de materia orgánica y biofertilizantes son algunas de las practicas que se han aplicado en la preparación de sustratos empleados en los viveros (Verma et al. 2008). La materia orgánica actúa como una fuente esencial de nutrientes para las plantas y mejora las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Mokwunye et al. 1996).

Existen diversos trabajos donde la aplicación de biofertilizantes en la etapa de vivero ha incrementado el porcentaje de germinación, el crecimiento, desarrollo y salud de las plántulas de papaya, mejorando además la calidad y reduciendo el tiempo de permanencia de las plántulas en el vivero. Dentro de los

microorganismos que han sido empleado como biofertilizantes en el cultivo de papaya se encuentran: *Azospirillum brasilense* y *Glomus claroideum* (Alarcon et al. 2002), *Trichoderma viridae* y *Azotobacter chroococcum* (Cupull et al. 2002), *Trichoderma harzianum* y hongos micorrízicos (Mesa et al. 2006; Wasy et al. 2010). También es importante mencionar que las plántulas pre-inoculadas con micorrizas son más tolerantes al estrés que sufren al trasplante en comparación a las plantas no micorrizadas o plantas inoculadas al momento del trasplante (Valdés et al. 1993; Waterer y Coltman 1988).

Los métodos de biofertilización mas empleados han sido la aplicación en semillas, la inmersión de plántulas y la aplicación en el suelo (Hegde 1992; Sharma et al. 2008), el método de aplicación dependerá del tipo de cultivo. La formulación del inoculo, el método de aplicación y el almacenamiento del producto son críticos para el éxito del los productos biológicos (Chen 2006). Asimismo, el momento de la inoculación (en la siembra o en la emergencia de las plántulas, o varios días después de la aparición de una a cuatro hojas verdaderas), también parece ser crucial en determinar la colonización exitosa de los inoculantes microbianos e influenciar el crecimiento de las plantas (Bashan 1986).

Por todo lo anterior el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del momento y el número de inoculaciones de los biofertilizantes, así como la influencia de la materia orgánica, en el crecimiento y nutrición de plántulas de papaya, para determinar el mejor método de inoculación en fase de vivero.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El trabajo se realizó en los laboratorios de Microbiología y en el campo experimental de El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Villahermosa, Tabasco, México.

Para evaluar el efecto del momento y el número de inoculaciones de los biofertilizantes y la materia orgánica en el crecimiento y nutrición de plántulas de papaya en fase de vivero, se realizaron dos experimentos: en el primer experimento se aplicó una doble inoculación de los biofertilizantes en las semillas y treinta días después de la emergencia de las plántulas. En el segundo experimento se aplicó una simple inoculación a plántulas de papaya con 30 días de crecimiento.

**Material microbiológico:** En los experimentos se utilizó la cepa de *Azotobacter chroococcum*, aisladas por el Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical (INIFAT) de la Habana, Cuba y reproducidas en los laboratorios de ECOSUR. Para la formulación del inoculante líquido, *A. chroococcum* fue cultivado en medio líquido Ashby enriquecido con  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ( $3 \text{ g l}^{-1}$ ) y extracto de levadura ( $0.1 \text{ g l}^{-1}$ ), manteniéndose con agitación orbital (150 rpm) a  $30^\circ\text{C}$  por 60 horas, hasta obtener una concentración de  $1 \times 10^9$  unidades formadoras de colonias por ml (ufc  $\text{ml}^{-1}$ ). El inóculo micorrízico empleado fue *Glomus intraradices*, con una concentración de 1050 esporas en 100 g de Tezontle, que incluye raíces de alfalfa con un 85% de colonización, proporcionado por el área de Microbiología de El Colegio de Postgraduados, Montecillo, México.

**Sustratos:** Se utilizaron dos tipos de sustratos: a) sustrato con composta hecha con residuos de hojarasca (suelo: composta, en base a peso/peso, en cuatro diferentes proporciones porcentuales 100:0, 87.5:12.5, 75:25, 50:50 %, y b) sustrato con cascarilla de cacao, previamente seca y tamizada; la proporción fue hecha en base a peso/peso y se hizo en proporción porcentual 30:35:35 de arena: suelo: cascarilla de cacao. Después de realizar las mezclas se esterilizaron en autoclave a 1.5 atm por dos horas, por tres días consecutivos. El sustrato con cascarilla de cacao es utilizado en diversos viveros de papaya de Tabasco, por ser un material disponible en la región. Las características físicas y químicas del suelo y los sustratos se describen en la tabla 1.

**Material vegetal:** Se emplearon semillas de papaya cv. Maradol previamente desinfectadas en una solución de peróxido de hidrogeno al 10% por 3 min y posteriormente fueron lavadas tres veces con agua destilada estéril. En seguida, se aplicó un tratamiento de pre-germinación que consistió en la inmersión de las semillas en agua destilada estéril a temperatura alternada de  $15\text{-}35^\circ\text{C}$  por 24 y 4 horas respectivamente. Inmediatamente después las semillas fueron tratadas conforme a los experimentos descritos a continuación.

**Experimento 1: Evaluación de la doble inoculación de los biofertilizantes.** La aplicación de los biofertilizantes en semillas se realizó inmediatamente después del tratamiento pre-germinativo, de acuerdo a los tratamientos establecidos (Tabla 2). Para el tratamiento con *Azotobacter* las semillas se sumergieron por una hora en el inoculante líquido bacteriano. Posteriormente, las semillas se sembraron en charolas de

germinación con 24 cavidades, sembrándose una semilla por cavidad y se empleo una charola por tratamiento. Las charolas fueron llenadas con el sustrato cascarilla de cacao.

La inoculación de *G. intraradices* se aplicó directamente en el sustrato 3 g por cavidad justo antes de la siembra de la semilla. En los tratamientos con las mezclas de *A. chroococcum* + *G. intraradices*, las semillas se sumergieron por una hora en el biofertilizante bacteriano y posteriormente se sembró a razón de una semilla por cavidad, donde previamente se había inoculado cada cavidad con 3 g de *G. intraradices*. A los treinta días después de la emergencia de las plántulas se realizó la segunda inoculación en el trasplante en macetas plásticas de 1.5 kg. Cada maceta fue llenada con los respectivos sustratos. La inoculación de *A. chroococcum* se hizo directamente al sistema radical, aplicando 5 ml plántula<sup>-1</sup>, mientras que la aplicación de *G. intraradices* se hizo aplicando 3 g plántula<sup>-1</sup>, también al sistema radical. Para el tratamiento combinado de *A. chroococcum* y *G. intraradices* primero se aplicó los 3 g de inóculo micorrízico y después los 5 ml plántula<sup>-1</sup> del inóculo bacteriano. Las plántulas se mantuvieron bajo una temperatura entre 26 y 38°C y una humedad relativa de 45%, con riego diario durante 60 días.

**Experimento 2: Evaluación de inoculación simple de los biofertilizantes.** En la inoculación simple, los biofertilizantes fueron aplicados directamente en el sistema radical de las plántulas con 30 días de crecimiento. Para la obtención de las plántulas, las semillas recibieron el tratamiento pre-germinativo descrito en el experimento 1. Posteriormente, las semillas fueron sembradas en charolas de germinación llenas con el sustrato con cascarilla de cacao y se dejaron crecer por 30 días, bajo las condiciones ambientales de vivero descritas anteriormente. Después de este tiempo, las plántulas fueron trasplantadas a macetas de 1.0 kg con los respectivos sustratos en cada tratamiento.

La biofertilización de las plántulas se realizó al momento del trasplante en el sistema radical, de acuerdo a cada uno de los tratamientos (Tabla 2). La biofertilización simple y combinada de *A. chroococcum* y *G. intraradices* se realizó de igual forma que se hizo en la segunda aplicación del primer experimento.

**Diseño de experimento:** En los dos experimentos se aplicó un diseño factorial con arreglo completamente al azar, evaluándose dos factores: el factor 1 con cinco niveles correspondientes al tipo de sustrato. Para el factor 2, con cuatro niveles correspondientes a los biofertilizantes aplicados solos y en combinación y un testigo sin tratar (Tabla 2). Para dar un total de 20 tratamientos con tres repeticiones cada uno.

**VARIABLES DE CRECIMIENTO Y NUTRICIÓN EVALUADAS.** Las variables de crecimiento evaluadas a los 90 días después de la emergencia fueron: altura de la planta (cm), diámetro del tallo (mm), biomasa fresca (g) y biomasa seca (g). El peso seco de las plantas se evaluó después de la deshidratación en estufa a 60°C durante 72 h y posteriormente se pesaron en una balanza de precisión. Para el análisis de los nutrientes, el contenido de N fue determinado por el método semi-micro Kjeldahl (Bremner, 1969). El contenido de P y K fueron determinados por HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>4</sub> y fueron medidos por el método espectrofotométrico empleando la mezcla vanadomolibdica y espectrometría de absorción atómica respectivamente.

**VARIABLES MICROBIOLÓGICAS EVALUADAS.** La población de *A. chroococcum* se determinó pesando 10 g de suelo rizosférico por planta y se agregó en un matraz con 100 ml de agua destilada estéril, realizando posteriormente una serie de diluciones de 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-5</sup>. Se inocularon por triplicado 100 µl de las tres últimas diluciones en cajas de petri con medio de cultivo Burk-sacarosa (BS) adicionado con Acido Nalidixico (20 µg ml<sup>-1</sup> de medio de cultivo). El porcentaje de colonización micorrízica se evaluó usando el método de clareo y tinción de Phillips y Hayman (1978).

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO.** Se realizó un ANOVA factorial y la comparación de medias se realizó con la prueba de Rangos múltiples de Duncan (p<0.05). Para conocer la posible variabilidad de los resultados obtenidos entre la doble y la simple biofertilización, se realizó la comparación de las medias aplicando la prueba t de student para dos muestras independientes. Los análisis se realizaron usando el paquete estadístico STATISTICA versión 8.0.

## **RESULTADOS**

**Efecto de inoculación simple y combinada de los biofertilizantes y la materia orgánica en la población de *A. chroococcum* y en la colonización de *G. intraradices*:** A los 90 días después de la siembra, aplicando una doble biofertilización se observó que la población de *A. chroococcum* fue mayor a menor contenido de materia orgánica, siendo los tratamientos Ac+C12 y Gi+Ac+C12 los que registraron una concentración bacteriana significativamente mayor (p<0.05) a los demás tratamientos. Además, la población de *A. chroococcum* fue significativamente mayor (p<0.05) cuando se aplicó sin combinación con *G. intraradices*

(Tabla 3). En cuanto a la simple biofertilización, no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los tratamientos evaluados, por lo que ni la adición de materia orgánica ni la aplicación combinada con *G. intraradices*, tuvieron un efecto en la concentración de la población de *A. chroococcum* (Tabla 3). De igual forma, no se encontraron diferencias significativas en la población de *Azotobacter* al aplicar una doble o una simple biofertilización (de acuerdo a la prueba t de Student,  $p>0.05$ ).

La evaluación de la infección micorrízica en raíces de papaya aplicando una doble biofertilización, indicó que los tratamientos Gi+CC, Gi+C50 y Gi+Ac+C25 fueron los de mayores porcentaje de infección (61.58, 57.59, 56.69 y 54.94 %). En general, la aplicación simple de *G. intraradices* registró una mayor colonización en comparación a cuando se aplicó en combinación con *A. chroococcum* (Tabla 3). En la biofertilización simple, también se observó una mayor colonización a mayores dosis de materia orgánica adicionada. Los tratamientos Gi+CC, Gi+C50, Gi+Ac+C25 y Gi+Ac+C50 registraron los valores más altos de colonización, mientras que en los tratamientos sin adición de materia orgánica se observaron los valores más bajos de colonización micorrízica (Tabla 3). Por otra parte, también se encontró que la aplicación de una doble inoculación fue significativamente mayor que la simple inoculación (de acuerdo a la prueba t de Student,  $p<0.05$ ).

**Experimento 1: Efecto de la doble inoculación de los biofertilizantes y la materia orgánica en el crecimiento, biomasa y nutrición vegetal.** La altura promedio de las plántulas fue de 26.0 cm y fue significativamente afectada por la interacción entre la materia orgánica y el tipo de biofertilizante ( $p<0.05$ ). Específicamente, las plántulas crecidas en el sustrato con 25% de composta e inoculadas solo con HMA (*G. intraradices*) presentaron la mayor altura (29.6 cm) (Tabla 4). El efecto independiente de la materia orgánica fue significativamente diferente ( $p<0.05$ ) y las plántulas crecidas en los sustratos con 50 y 25% de composta (C50 y C25) presentaron la mayor altura (27.2 y 27.0 cm, respectivamente) (Tabla 5). En el factor biofertilizante, la aplicación de *Azotobacter* afectó negativamente la altura de las plántulas en comparación a los demás tratamientos (Tabla 6).

El diámetro de tallo promedio fue de 13.1 mm y también fue significativamente afectado por la interacción entre la materia orgánica y el tipo de biofertilizante ( $p<0.05$ ). Específicamente, las plantas crecidas en sustrato CC y que recibieron una simple inoculación de micorrizas (Gi+CC), resultaron con un mayor



diámetro (15.2 mm) y fueron significativamente mayor a los demás tratamientos ( $p < 0.05$ ) (Tabla 4). El efecto independiente de la materia orgánica presento diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), donde el mayor efecto se debió a la adición del sustrato CC, con un valor de 13.9 mm (Tabla 5). En cuanto al efecto del biofertilizante, el mayor efecto se debió a la inoculación combinada de HMA y *Azotobacter* (Gi+Ac), con un valor de 13.5 mm (Tabla 6).

La aplicación de materia orgánica incrementó la acumulación de biomasa fresca, obteniéndose en promedio 33.6 g plántula<sup>-1</sup> y fue significativamente afectada por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante ( $p < 0.05$ ). Específicamente, las plántulas crecidas en sustrato CC y que fueron inoculadas con HMA (Gi+CC) acumularon la mayor biomasa fresca (47.0 g) (Tabla 4). Asimismo, el efecto independiente de la materia orgánica, presentó diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), pero el mayor efecto se debió a la adición del sustrato CC (37.7 g) (Tabla 5). De igual forma, el efecto independiente del biofertilizante afectó significativamente la biomasa fresca ( $p < 0.05$ ), pero el mayor efecto se debió a la aplicación simple de HMA (Gi) (35.7 g) (Tabla 6).

La biomasa seca promedio obtenida fue de 3.74 g plántula<sup>-1</sup> y fue significativamente afectada por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante ( $p < 0.05$ ). Específicamente, las plántulas crecidas en sustrato CC y que fueron inoculadas con HMA (Gi+CC) y con *Azotobacter* (Ac+CC), acumularon la mayor biomasa seca (4.60 y 4.55 g, respectivamente) (Tabla 4). Asimismo, el efecto independiente de la materia orgánica fue significativo ( $p < 0.05$ ), pero el sustrato CC acumuló el mayor contenido de biomasa seca (4.25 g) (Tabla 5). En cuanto al efecto del tipo de biofertilizante, también se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), pero el mayor efecto se debió a la inoculación simple de HMA (Gi) y en combinación con *Azotobacter* (Gi+Ac), con valores de 4.18 y 3.96 g, respectivamente (Tabla 6).

El contenido promedio de nitrógeno en tejido vegetal fue de 2.25% y fue afectado significativamente por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante ( $p < 0.05$ ). Específicamente, las plántulas crecidas en el sustrato con 12% de composta e inoculadas independientemente con *Azotobacter* y HMA (Ac+C12 y Gi+C12) registraron los mayores contenidos de nitrógeno vegetal (2.91 y 2.76 %, respectivamente) (Tabla 4). El efecto independiente de la materia orgánica también fue significativo ( $p < 0.05$ ), donde las plántulas crecidas en los sustratos con composta al 12%, sustrato CC y composta al 25% (C12, CC y C25), obtuvieron

los mayores contenidos de nitrógeno (2.50, 2.34 y 2.27%, respectivamente) (Tabla 5). De igual forma, el efecto independiente del tipo de biofertilizante, fue significativo ( $p<0.05$ ) pero el mayor efecto se debió a la aplicación simple de HMA y su combinación con *Azotobacter* (Gi y Gi+Ac) (2.49 y 2.33 %, respectivamente) (Tabla 6).

El contenido promedio de fósforo fue de 0.24 % y también fue afectado significativamente por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante ( $p<0.05$ ). Específicamente, las plántulas crecidas en los sustratos con 50% de composta y sustrato CC, e inoculadas independiente con *Azotobacter* y HMA (Ac+C50 y Gi+CC) y en combinación (Gi+Ac+C50), mostraron los mayores contenidos de fósforo vegetal (0.32, 0.30 y 0.30 %, respectivamente) (Tabla 4). El efecto independiente de la materia orgánica también fue significativo ( $p<0.05$ ), pero el mayor efecto de igual forma se debió a la aplicación de composta al 50% y sustrato CC (C50 y CC) (0.29 y 0.28 %, respectivamente) (Tabla 5). En contraste, el efecto independiente de la aplicación de biofertilizantes no fue significativamente diferente ( $p=0.8501$ ) (Tabla 6).

El contenido promedio de potasio fue de 1.32% pero no fue afectado significativamente por la interacción entre el tipo de sustrato y el biofertilizante ( $p=0.1122$ ). En contraste, el efecto independiente de la materia orgánica fue significativo ( $p<0.05$ ) en el cual, la no adición de materia orgánica disminuyó el contenido de potasio en las plántulas, en comparación con los tratamientos que si recibieron materia orgánica (Tabla 5). En cuanto al efecto independiente de los biofertilizantes, también resulto significativo ( $p<0.05$ ), pero la aplicación de *Azotobacter* solo y en combinación con HMA (Ac y Gi+Ac) disminuyó los contenidos de potasio vegetal, con respecto a los demás tratamientos (Tabla 6). En este experimento, el tratamiento más efectivo en promover el crecimiento y la acumulación de biomasa, correspondió a la aplicación de cascarilla de cacao al 35% más la inoculación independiente *G. intraradices*.

**EXPERIMENTO 2. Efecto de la simple inoculación de Biofertilizantes y la materia orgánica en el crecimiento, biomasa y nutrición en plántulas de papaya.** La altura promedio de las plántulas que recibieron una simple biofertilización en etapa de plántula fue 22.2 cm y es significativamente menor ( $p<0.05$ ) a las que recibieron una doble biofertilización en el experimento 1. La altura de las plántulas en la

simple biofertilización fue significativamente afectada por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante ( $p < 0.05$ ). Específicamente, las plántulas crecidas en el sustrato con 25% de composta y que fueron inoculadas independientemente con HMA y con *Azotobacter* (Gi+C25 y Ac+C25), fueron más altas que en los demás tratamientos (29.3 y 28.4 cm, respectivamente) (Tabla 7). El efecto independiente de la materia orgánica fue significativo ( $p < 0.05$ ), pero el mayor efecto se debió a la aplicación de composta al 25% (25.5 cm) (Tabla 8). El efecto independiente de los biofertilizantes también fue significativo ( $p < 0.05$ ), pero la aplicación independiente de HMA (Gi) registró la mayor altura con respecto a los otros tratamientos (24.7 cm) (Tabla 9).

El diámetro de tallo promedio de las plántulas que recibieron una simple biofertilización en etapa de plántula fue 8.2 mm y es significativamente menor ( $p < 0.05$ ) a las que recibieron una doble biofertilización. El diámetro de tallo de las plántulas en la simple biofertilización fue significativamente afectada por la materia orgánica y el biofertilizante ( $p < 0.05$ ). Específicamente, las plántulas crecidas en sustrato CC y que fueron inoculadas solo con HMA (Gi+CC), registraron el mayor diámetro de tallo con 10.4 mm (Tabla 7). El efecto independiente de la materia orgánica fue significativo ( $p < 0.05$ ), pero el mayor efecto se debió a la aplicación de sustrato CC y composta al 25% (9.0 y 8.7 mm, respectivamente) (Tabla 8). El efecto independiente de la aplicación sola y combinada de HMA (Gi y Gi+Ac), incrementaron significativamente el diámetro de tallo con respecto a los demás tratamientos (8.8 y 8.5 mm, respectivamente) (Tabla 9).

La acumulación promedio de biomasa fresca y seca de las plántulas que recibieron una simple biofertilización es significativamente menor a las que recibieron una doble biofertilización ( $p < 0.05$ ). De igual forma, la biomasa seca y fresca de las plántulas con una simple biofertilización fue afectada significativamente por la interacción entre la materia orgánica y los biofertilizantes. Específicamente, las plántulas crecidas en sustrato CC y que fueron inoculadas solo con HMA (Gi+CC), registraron la mayor biomasa en fresco y seco (biomasa fresca=23.99 g, biomasa seca=2.52 g) (Tabla 7). El efecto independiente de la materia orgánica fue significativo, pero el mayor efecto en la biomasa fresca y seca se observó con la adición de sustrato CC (biomasa fresca=17.37g y biomasa seca=1.99 g) (Tabla 8). En el factor biofertilizante, la aplicación simple de

HMA (Gi) registró la mayor acumulación de biomasa fresca y seca (biomasa fresca=15.0g, biomasa seca=1.76g) y fue significativamente mayor a los demás tratamientos ( $p<0.05$ ) (Tabla 9).

El contenido promedio de nitrógeno en las plántulas con simple biofertilización fue de 2.5% pero no es significativamente diferente ( $p=0.972$ ) al contenido de N registrado en las plántulas con doble biofertilización. En la biofertilización simple el contenido de N fue significativamente afectado por la materia orgánica y el biofertilizante ( $p<0.05$ ). Específicamente, las plántulas crecidas en sustrato CC y que fueron inoculadas con HMA en combinación con *Azotobacter* y HMA solas (Gi+Ac+CC y Gi+CC), obtuvieron los mayores contenidos de nitrógeno en tejido vegetal (3.82 y 3.70 %, respectivamente) (Tabla 7). El efecto independiente de la materia orgánica fue significativo, pero el mayor efecto se debió a la adición de sustrato CC (3.24%) (Tabla 8). De igual forma, el efecto independiente de la inoculación combinada de HMA y *Azotobacter* (Gi+Ac), incrementaron significativamente el contenido de nitrógeno con respecto a los otros tratamientos (3.12%) (Tabla 9).

El contenido promedio de fósforo en tejido vegetal, en las plántulas con simple biofertilización fue de 0.26 % pero no es significativamente diferente al contenido de P en las plántulas con doble biofertilización ( $p=0.909$ ). Por otra parte, el contenido de P en la simple biofertilización fue afectada significativamente por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante. Específicamente, las plántulas crecidas en sustrato CC que fueron inoculadas solo con HMA (Gi+CC), registraron el mayor contenido de P (0.41%) (Tabla 7). El efecto independiente de la materia orgánica fue significativo, pero el mayor efecto se debió a la adición de sustrato CC (0.40 %) (Tabla 8). En cuanto al efecto de los biofertilizantes, la inoculación de micorrizas combinada con *Azotobacter* y la inoculación sola de HMA (Gi+Ac y Gi), promovieron la mayor acumulación de P en tejido vegetal (0.29 y 0.28%, respectivamente) (Tabla 9).

El contenido promedio de potasio en tejido vegetal en las plántulas con simple biofertilización fue de 1.43% pero no es significativamente diferente ( $p=0.067$ ) al contenido de K en las plántulas con doble biofertilización. En la simple biofertilización, el contenido de K no fue afectado significativamente por la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante ( $p=0.4837$ ). En contraste, el efecto independiente de la materia orgánica fue significativo ( $p<0.05$ ), pero el mayor efecto se debió a la adición de sustrato CC y composta al 50% (CC y C50) (Tabla 8). De igual forma, el efecto de los biofertilizantes no fue significativo

en el contenido de potasio vegetal ( $p=0.3500$ ). En la simple inoculación, al igual que el experimento 1, los mejores resultados correspondieron a la aplicación de 35% de cascarilla de cacao mas la inoculación de *G. intraradices* de forma independiente.

## DISCUSIÓN

La mayoría de las investigaciones se han conducido en evaluar solamente una aplicación de biofertilizantes, aunque también se han realizado diversos trabajos en los que se han aplicado inoculaciones sucesivas (Albrecht et al. 1981; Millet et al. 1984; Nowak et al. 2004), pero de acuerdo a Bashan (1986), la aplicación de múltiples inoculaciones tiene un efecto mínimo en el crecimiento vegetal, debido a que muchos de los sitios de inoculación en las raíces ya han sido ocupados por las bacterias.

En contraste, los resultados aquí obtenidos demostraron que la doble inoculación incrementó el crecimiento y la biomasa vegetal en comparación con la inoculación simple de plántulas. Aunque, esto pudo deberse a que en la doble inoculación la primera aplicación de los biofertilizantes se hizo a las semillas y en la inoculación simple los biofertilizantes se aplicaron en las raíces 30 días después de la emergencia; y de acuerdo a Kalpunik et al. (1985) y a Bashan (1986), la respuesta de las plantas es más alta cuando las semillas han sido inoculadas, pero es menor cuando las plántulas son inoculadas.

El efecto sinérgico de PGPR y HMA sobre el crecimiento vegetal, toma de nutrientes y rendimiento de varios cultivos han sido reportados (Brown y Carr 1984; Veeraswamy et al. 1992; Alarcón et al. 2002; Singh et al. 2004). Aunque, algunos efectos negativos pueden ser obtenidos (Staley et al. 1992; Alarcón et al. 2002); debido a que la actividad fisiológica de la bacteria podrían mostrar cierta inhibición sobre el establecimiento y la efectividad fúngica (Paulitz y Linderman 1989). La inoculación de papaya con *A. chroococcum* y *G. intraradices* en este estudio, registró un efecto sinérgico solo en algunos de los parámetros evaluados. La respuesta sinérgica del hospedero podría ser principalmente debido a la producción de fitohormonas o reguladores del crecimiento por estos microorganismos más que por pequeños incrementos en la disponibilidad en N y P (Barea et al. 1975; Vessey 2003).

La reducida respuesta de la inoculación simple de *Azotobacter* en el crecimiento y nutrición de papaya, estuvo influenciado por el momento de inoculación y por el tipo de sustrato. En el experimento 1, donde la

rizobacteria se aplicó en semillas y 30 días después de la emergencia de las plántulas, se registró una mayor biomasa seca y contenido de fósforo en comparación al experimento 2, donde la rizobacteria fue aplicada solo en plántulas 30 días después de la emergencia (Tabla 6). Esto se pudo deber a que la rizobacteria no fue adicionada hasta que las plántulas habían pasado la etapa más receptiva, en la que *Azotobacter* afecta el crecimiento vegetal (Brown y Burlingham 1968).

Estos resultados coinciden con los resultados obtenidos por Kapulnik et al. (1985), quienes encontraron que la inoculación de semillas de trigo con *Azospirillum* fue más eficiente que cuando se inocularon plantas, 20 días después de la emergencia, indicando además que la rizobacteria afectó a las semillas principalmente en la germinación y menos en la etapa de colonización de raíces.

Por otra parte, el cultivo de papaya ha sido considerado como una planta dependiente de la inoculación micorrízica (Jaizme-Vega y Azcon 1995; Sukhada 1989) y de la materia orgánica (Rodríguez 1984) lo cual explicaría los efectos benéficos obtenidos en este trabajo de la interacción entre la materia orgánica y la inoculación de HMA. Resultados similares han sido encontrados en diversos estudios, en el incremento del crecimiento vegetal y biomasa fresca y seca de tallos y raíces (Khade y Rodríguez 2009a), aumento en el contenido total de potasio y fósforo en el tejido vegetal (peciolo) (Khade y Rodríguez, 2009b), así como también, incrementos en la actividad enzimática de la fosfatasa acida en raíz (Alarcón 2002). Los incrementos en la biomasa fresca obtenidos en este trabajo podrían ser debido a fitohormonas como auxinas, las cuales se incrementan en plantas inoculadas con micorrizas (Barker y Tagu 2000; Fitze et al. 2005). Mientras que el aumento en la biomasa seca puede deberse a la eficiencia de los HMA en suministrar nutrientes a las plantas.

Es bien conocido que la colonización de los HMA pueden ser tanto incrementados (Gryndler et al., 2006; Albertser et al. 2006) como disminuidos (Calvet et al. 1992; Ravnskov et al. 2006) por la adición de enmiendas orgánicas. Por otra parte, de acuerdo a Osorio et al. (2002), la aplicación de enmiendas orgánicas y la inoculación de HMA incrementaron el crecimiento de plántulas de café, pero este crecimiento fue severamente disminuido cuando no se adicionaron enmiendas al suelo, presentándose bajos contenidos de materia orgánica, pH y una baja disponibilidad de P, B, Ca, Mg y K. Esto concuerda con los resultados encontrados en este estudio, ya que las plántulas que crecieron en los sustratos con adición de materia

orgánica y fueron inoculadas con *G. intraradices*, mejoraron los parámetros de crecimiento, biomasa y nutrición en comparación cuando no se adicionó materia orgánica al sustrato. Pero el mejor tratamiento fue aquel en el que se adicionó un 35% de cascarilla de cacao como materia orgánica, lo cual pudo deberse a que este sustrato presentó un contenido moderado de fósforo ( $66.04 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) con relación a los demás sustratos a los que también se les adicionaron materia orgánica (Tabla 1). De acuerdo a Kahiluoto et al. (2000), incrementos en el suministro de P disminuyen la colonización y la efectividad de la colonización micorrízica. Debido a los beneficios en la traslocación de nutrientes que realizan los HMA, en diversas ocasiones a niveles moderados de fósforo se han obtenido mejoras sustanciales en la nutrición de las plantas (Thompson 1987; Yao et al. 2001).

Por otra parte, la aplicación de composta al 12% y sustrato con cascarilla de cacao, estimularon el mayor contenido de nitrógeno en tejido vegetal, lo cual puede deberse a que estos sustratos presentaron una relación C/N menor de 20 (Tabla 1), y de acuerdo a Day y Shaw (2001) los tratamientos con relaciones C/N <10 permiten una mayor liberación de nutrimentos que aquellos con valores >20, considerando que la relación C/N ha sido utilizada como un índice de la velocidad de descomposición de los abonos y la posterior mineralización de los nutrientes.

De acuerdo a Bianciotto y Bonfante (2002), el establecimiento de la inoculación de PGPR en la rizósfera puede ser afectado por la co-inoculación de HMA. Los resultados aquí obtenidos demostraron que la población de *A. chroococcum* no se vio afectada por la aplicación combinada con *G. intraradices* (Tabla 3), pero sí por la materia orgánica adicionada. También se ha observado que la respuesta de la planta a la inoculación con HMA dependerá del nivel de fertilidad del suelo, de la planta hospedera y del hongo (Sharda y Rodríguez, 2008). Asimismo, conforme a los porcentajes de colonización micorrízica encontrados y con los resultados obtenidos en el crecimiento y en la nutrición de las plantas, puede establecerse que el beneficio de la simbiosis se expresó aún en presencia de dosis elevadas de P.

## **CONCLUSION**

El momento de inoculación fue determinante en la influencia de los biofertilizantes sobre el crecimiento vegetal. La doble biofertilización (en semilla y plántula), estimuló mayormente el crecimiento y la biomasa

de plántulas en comparación a la simple biofertilización. Aunque, el método de aplicación no influyó en los parámetros de nutrición (N, P y K) determinados. En general, el mejor tratamiento consistió en la aplicación de sustrato con 35% de cascarilla de cacao como materia orgánica más la inoculación de *G. intraradices* en forma independiente.

La incorporación de composta al 25% asociada a la inoculación de *G. intraradices*, puede ser empleada como un tratamiento alternativo, cuando no se disponga de cascarilla de cacao, en las condiciones establecidas en este trabajo.

Es importante confirmar la fuerte dependencia de las plántulas de papaya por la materia orgánica y la inoculación micorrízica, encontrándose además un efecto sinérgico entre estos dos factores sobre el crecimiento y nutrición de papaya a dosis moderadas de fósforo.

## REFERENCIAS

- ALARCÓN A., DAVIS F.T.JR., EGILA J. N., FOX T.C., ESTRADA-LUNA A.A., FERRERA-CERRATO R. 2002. Short term effects of *Glomus claroideum* and *Azospirillum brasilense* on growth and root acid phosphatase activity of *Carica papaya* L. under phosphorus stress. Rev. Latinoam. Microbiol. 44:31-37.
- ALBERTSER A., RAVNSKOV S., GREEN H., JENSEN D.F., LARSEN J. 2006. Interactions between the external mycelium of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and other soil microorganisms as affected by organic matter. Soil Biol Biochem 38:1008-1014.
- ALBRECHT S. L., OKON Y., LONNQUIST J., BURRIS R. H. 1981. Nitrogen fixation by corn-*Azospirillum* associations in a temperate climate. Crop Science 21: 301-306.
- BASHAN Y. 1986. Significance of timing and level of inoculation with rhizosphere bacteria of inoculation with rhizosphere bacteria on wheat plants. Soil Biol. Biochem. 18:297-301.
- BAREA J.M, AZCON R., HAYMAN D.S. 1975. Possible synergistic interactions between Endogyne and phosphate-solubilizing bacteria in low phosphate soils. In: Sanders FE, Mose B, Tinker PB (eds) Endomycorrhizas. Academic Press, London, pp. 409-417.



- BARKER S.J., TAGU D. 2000. The roles of auxinas and cytokinins in mycorrhizal symbioses. *Journal of Plant Growth Regulation*.19:144-154.
- BROWN M.E., BURLINGHAMS K. 1968. Production of plant growth substances by *Azotobacter chroococcum*. *Journal of General Microbiology* 53, 135-144.
- BROWN M.E., CARR G.R. 1984. Interactions between *Azotobacter chroococcum* and vesicular-arbuscular mycorrhiza and their effects on plant growth. *Journal of Applied Bacteriology*. 56: 429-437.
- CALVET C., ESTAUN V., CAMPRUBI A. 1992. Germination, early mycorrhizal growth and infectivity of a vesicular–arbusular mycorrhizal fungus in organic substrates. *Symbiosis* 14:405-411.
- CHEN J.H. 2006. The combined use of chemical and organic fertilizer and/or biofertilizer for crops growth and soil fertility. International Workshop on Sustained Management of the Soil-Rhizosphere System for Efficient Crop Production and Fertilizer Use. Land Development Department Bangkok, Thailand.
- CUPULL S.R.; GUERRA P.G., CUPULL S.M.C., FERRER V.M., PÉREZ N.C. 2002. Efecto de *Trichoderma viride* y *Azotobacter chroococcum* en la estimulación de la germinación y el desarrollo de posturas de *Carica papaya* Lin. *Centro Agrícola* 4: 30-33.
- DAY M., SHAW K. 2001. Biological, chemical and physical processes of composting, pp. 18-22. In: P. Stofella y B. Kahn (eds). *Compost utilization in horticultural cropping systems*. Lewis, U.S.A.
- FITZE D., WIEPNING A., KALDORF M., LUDWIG-MÜLLER J. 2005. Auxins in the development of an arbuscular mycorrhizal symbiosis in maize. *J Plant Physiol*. 162:1210-1219.
- GRYNDLER M., LARSEN J., HRŠELOVÁ H., ŘEZÁČOVÁ V., GRYNDLEROVÁ H., KUBÁT J. 2006. Organic and mineral fertilization, respectively, increase and decrease the development of external mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi in a long-term field experiment. *Mycorrhiza* 16:159-166.
- HEGDE S.V., BRAHMAPRAKASH G. P. 1992. A dry granular inoculant of *Rhizobium* for soil application. *Plant Soil* 144: 309-311.
- JAIZME-VEGA M.C., AZCON R. 1995. Responses of some tropical and subtropical cultures to endomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 5:213-217.

- KAHILUOTO H., KETOJA E., VESTBERG, M. 2000. Promotion of utilization of arbuscular mycorrhiza through reduced fertilization 1. Biossays in a growth chamber: Plant and soil. 227:191-206.
- KAPULNIK Y., GAFNY R., OKON Y. 1985. Effect of *Azospirillum* spp. inoculation on root development and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> uptake in wheat (*Triticum aestivum* cv. Miriam) in hydroponic systems. Can. J. Bot. 63:627-631.
- KHADE S.W., RODRIGUES B.F. 2009b. Studies on effects of arbuscular Mycorrhizal (Am.) Fungi on mineral Nutrition of *Carica papaya* L. Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj. 37:183-186.
- KHADE W.S., RODRIGUES B.F. 2009a Studies on arbuscular mycorrhization of papaya. African Crop Science Journal. 17:155-165.
- MESA, R.J.R., GÓMEZ, C.J.L., RODRÍGUEZ, C.O., PARETS, S.E., SOTO, O.R. 2006. Efecto de Trichoderma y micorrizas en la producción de posturas de *Carica papaya* L. Centro Agrícola. 3:75-81.
- MILLET E., AVIVI Y., FELDMAN M. 1984. Yield response of various wheat genotypes to inoculation with *Azospirillum brasilense*. Plant and Soil 80: 261-266.
- MOKWUNYE A.U., DE JAGER A., SMALING E.M.A., (Eds.) 1996. Restoring and Maintaining the Productivity of West African Soil: Key to sustainable Development. In: Miscellaneous Fertilizer Studies No. 14.
- NOWAK J., NOWAK J., SHARMA V.K., A'HEARN E. 2004. Endophyte enhancement of transplant performance in tomato, cucumber and sweet pepper. Acta Hort. (ISHS) 631:253-263.
- OSORIO N.W., ALZATE J.M., RAMIREZ G.A. 2002. Coffee seedling growth as affected by mycorrhizal inoculation and organic amendment. Communications in Soil Science and Plant Analysis 33: 1425-1434.
- PAULITZ T.C., LINDERMAN R.G. 1989. Interactions between fluorescent pseudomonas and VA mycorrhizal fungi. New Phytol. 113:37-45.
- RAVNSKOV S., JENSEN B., KNUDSEN I.M.B., BODKER L., JENSEN D.F., KARLINSKI L., LARSEN J. 2006. Soil inoculation with the biocontrol agent *Clonostachys rosea* and the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* results in mutual inhibition, plant growth promotion and alteration of soil microbial communities. Soil Biol Biochem 38:3453-3462.

- RODRÍGUEZ H. 1984. Nutrición en frutales. *Psidium guajaba* y *Carica papaya*. Boletín de reseñas. Cítricos y otros frutales. CIDA. MINAGRI. Cuba. Pp. 27-51.
- SHARMA A., PARMAR D.K., KUMAR P., SINGH Y., SHARMA R.P. 2008. *Azotobacter* soil amendment integrated with cow manure reduces need for NPK fertilizers in Sprouting Broccoli. Internal Journal of vegetable Science. 14: 273-285.
- SINGH R., BEHL R.K., SINGH K.P., JAIN P., NARULA N. 2004. Performance and gene effects for wheat yield under inoculation of arbuscular mycorrhiza fungi and *Azotobacter chroococcum*. Plant and Soil Environ. 50: 409-415.
- STALEY T.E., LAWRENCE E.G., NANCE E.L. 1992. Influence of a plant growth-promoting pseudomonas and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus on alfalfa and birdsfoot trefoil growth and nodulation. Biol Fertil Soils 14:175-180.
- SUKHADA M. 1989. Response of papaya (*Carica papaya* L.) to VAM fungal inoculation: In *Mycorrhizae* for Green Asia (Mahadevan, A., Raman, N. and Natarajan, K.) Madras, Alamer Printing works. Royapettah, Madras.
- THOMPSON J.P. 1987. Decline of vesicular-arbuscular mycorrhizae in Long Fallow Disorder of field crops and its expression in phosphorus deficiency of sunflower. Australian Journal of Agriculture Research. 38:847-867
- VALDÉS, M., REZA-ALEMÁN, F., FURLAN, V. 1993. Response of *Leucaena esculenta* to endomycorrhizae and Rhizobium inoculation. World J Microbiol Biotechnol. 9:97-99.
- VEERASWAMY J., PADMAVATHI T., VENKATESWARLU K. 1992. Interaction effects of *Glomus intraradices* and *Azospirillum lipoferum* on sorghum. Indian J. Microbiol. 32: 305-308.
- VERMA, R.K., JAMALUDDIN, DADWAL V.S., THAKUR A.K. 2008. Economics of biofertilizer application on production of planting propagules of teak in a commercial nursery. Indian Forester. 134:923-929.
- VESSEY J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil 255:571-586.
- WASY A.A., SHYAMALAMMA S., NACHE G.V. 2010. Effect of bio-inoculants on nursery establishment of papaya cv. Solo. Acta Hort. (ISHS) 851:389-394.

- WATERER, D.R., COLTMAN, R.R. 1988. Phosphorus concentration and application interval influence growth and mycorrhizal infection of tomato and onion transplants. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 113:704-708.
- YAO Q., LI X.L., FENG G., CHRISTIE P. 2001. Influence of extrametrical hyphae on mycorrhizal dependency of wheat genotypes. *Communications in soil Science and Plant Analysis.* 32:3307-3317.

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas del suelo y los sustratos utilizados en los experimentos: Composta (12, 25, 50 %) y sustrato con cascarilla de cacao (CC).

SUSTRATOS	SUELO	Sustrato Composta			Sustrato Cascarilla Cacao	
		C12%	C25%	C50%	CC35%	
Textura	Franco Arcilloso	Franco arcilloso	Franco arcilloso	Franco	Franco arcillo arenoso	
Arcilla (%)	40	37	28	23	25	
Limo (%)	38	39	40	29	21	
Arena (%)	22	24	32	48	54	
Materia orgánica (%)	2,4	5,0	6,5	16,4	11,2	
C/N	23,89	18,67	24,88	21,56	19,29	
pH	7,8	7,4	7,2	7,2	6,1	
N Total (%)	0,1	0,2	0,3	0,9	0,6	
P (mg.kg <sup>-1</sup> )	22,39	446,38	513,90	566,49	66,04	
K (cmol.kg <sup>-1</sup> )	0,9	1,88	4,14	5,55	2,64	
Ca (cmol.kg <sup>-1</sup> )	16,00	22,87	22,75	14,38	29,44	
Mg (cmol.kg <sup>-1</sup> )	6,4	7,25	14,10	14,14	10,20	
Na (cmol.kg <sup>-1</sup> )	0,13	0,65	1,26	1,02	0,46	

Tabla 2. Descripción de los tratamientos experimentales.

Tratamientos	Código	Biofertilizantes	Sustratos	Proporción (%)
1	Ac+C0	<i>Azotobacter chroococcum</i>	Suelo:Composta	100:0
2	Ac+C12	<i>Azotobacter chroococcum</i>	Suelo:Composta	88:12
3	Ac+C25	<i>Azotobacter chroococcum</i>	Suelo:Composta	75:25
4	Ac+C50	<i>Azotobacter chroococcum</i>	Suelo:Composta	50:50
5	Ac+CCC	<i>Azotobacter chroococcum</i>	Arena:Suelo:Cascarilla de cacao	35:40:35
6	Gi+C0	<i>Glomus intraradices</i>	Suelo:Composta	100:0
7	Gi+C12	<i>Glomus intraradices</i>	Suelo:Composta	88:12
8	Gi+C25	<i>Glomus intraradices</i>	Suelo:Composta	75:25
9	Gi+C50	<i>Glomus intraradices</i>	Suelo:Composta	50:50
10	Gi+CCC	<i>G. intraradices + A. chroococcum</i>	Arena:Suelo:Cascarilla de cacao	35:40:35
11	Gi+Ac+C0	<i>G. intraradices + A. chroococcum</i>	Suelo:Composta	100:0
12	Gi+Ac+C12	<i>G. intraradices + A. chroococcum</i>	Suelo:Composta	88:12
13	Gi+Ac+C25	<i>G. intraradices + A. chroococcum</i>	Suelo:Composta	75:25
14	Gi+Ac+C50	<i>G. intraradices + A. chroococcum</i>	Suelo:Composta	50:50
15	Gi+Ac+CCC	<i>G. intraradices + A. chroococcum</i>	Arena:Suelo:Cascarilla de cacao	35:40:35
16	T+C0	TESTIGO	Suelo:Composta	100:0
17	T+C12	TESTIGO	Suelo:Composta	88:12
18	T+C25	TESTIGO	Suelo:Composta	75:25
19	T+C50	TESTIGO	Suelo:Composta	50:50
20	T+CCC	TESTIGO	Arena:Suelo:Cascarilla de cacao	35:40:35

Tabla 3. Efecto de la doble y simple biofertilización y la materia orgánica en la población de *A. chroococcum* y en la colonización de *G. intraradices*.

Tratamientos	Población de Rizobacterias (ufc g suelo <sup>-1</sup> )			Colonización Micorrízica (%)			
	Doble		Simple	Doble		Simple	
Ac+C0	3,78 X10 <sup>3</sup>	b	4,46X10 <sup>4</sup>	n.s.	-	-	-
Ac+C12	4,29 X10 <sup>3</sup>	a	1,60X10 <sup>4</sup>	n.s.	-	-	-
Ac+C25	1,37 X10 <sup>3</sup>	d	1,39X10 <sup>4</sup>	n.s.	-	-	-
Ac+C50	7,96 X10 <sup>4</sup>	e	2,46X10 <sup>4</sup>	n.s.	-	-	-
Ac+CC	9,41 X10 <sup>4</sup>	e	1,39X10 <sup>4</sup>	n.s.	-	-	-
Gi+C0	-	-	-	-	31,44	f	26,20
Gi+C12	-	-	-	-	35,63	ef	29,69
Gi+C25	-	-	-	-	51,02	c	34,01
Gi+C50	-	-	-	-	57,59	ab	38,40
Gi+CC	-	-	-	-	61,58	a	41,06
Gi+Ac+C0	3,31 X10 <sup>3</sup>	c	2,42X10 <sup>4</sup>	n.s.	24,16	g	20,13
Gi+Ac+C12	4,23 X10 <sup>3</sup>	a	3,31X10 <sup>4</sup>	n.s.	39,47	d	32,89
Gi+Ac+C25	3,61 X10 <sup>4</sup>	f	1,92X10 <sup>4</sup>	n.s.	56,69	abc	37,79
Gi+Ac+C50	2,24 X10 <sup>4</sup>	fg	1,67X10 <sup>4</sup>	n.s.	54,94	bc	36,63
Gi+Ac+CC	1,47 X10 <sup>4</sup>	g	1,77X10 <sup>4</sup>	n.s.	39,47	e	26,32

Medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan (p<0.05). n.s.= no significativo, a p< 0.05.

Tabla 4. Efecto de la interacción de la materia orgánica y Biofertilizantes en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia; aplicando una doble biofertilización (en semilla y a los 30 días después de la emergencia).

Tratamientos	Parámetros Crecimiento y Biomasa						Parámetros de Nutrición							
	Altura (cm)		Diámetro de Tallo (mm)		Biomasa Fresca (g)		Biomasa Seca (g)		N (%)		P (%)		K (%)	
Ac+C0	20,6	h	11,7	i	26,9	j	2,37	i	1,30	f	0,10	j	0,91	n.s.
Ac+C12	22,4	gh	12,8	efgh	28,3	hij	2,78	hi	2,91	a	0,22	efghi	1,62	n.s.
Ac+C25	24,1	efg	13,0	defgh	28,8	ghij	3,54	efg	2,24	bcde	0,28	abcd	1,06	n.s.
Ac+C50	23,4	fg	13,1	bc	28,0	ij	3,78	cdefg	1,67	ef	0,32	a	1,37	n.s.
Ac+CC	23,3	fg	13,8	bcd	36,7	bc	4,55	a	2,18	bcde	0,27	abcde	1,02	n.s.
Gi+C0	24,6	defg	12,1	hi	31,6	defghi	4,14	abcd	2,18	bcde	0,21	fghi	1,18	n.s.
Gi+C12	25,1	def	13,1	cdefg	32,6	defg	4,10	abcde	2,76	ab	0,23	cdefg	1,59	n.s.
Gi+C25	29,6	a	12,5	fghi	35,2	bcd	4,49	ab	2,51	abcd	0,22	defgh	1,35	n.s.
Gi+C50	27,9	abc	12,5	fghi	32,1	defgh	3,58	defg	2,63	abc	0,25	bcdefg	1,68	n.s.
Gi+CC	28,5	abc	15,2	a	47,0	a	4,60	a	2,35	abcd	0,30	ab	1,66	n.s.
Gi+Ac+C0	26,7	bcd	12,8	efgh	30,8	efghij	3,74	cdefg	2,24	bcde	0,19	hi	1,06	n.s.
Gi+Ac+C12	28,8	ab	13,4	cdef	34,5	bcdef	3,88	cdef	2,33	abcd	0,19	ghi	1,01	n.s.
Gi+Ac+C25	28,0	abc	13,7	bcde	34,8	bcde	4,32	abc	2,25	bcde	0,26	bcdef	1,14	n.s.
Gi+Ac+C50	28,9	ab	14,4	ab	37,0	b	3,92	bcdef	2,44	abcd	0,30	ab	1,22	n.s.
Gi+Ac+CC	25,1	def	13,3	cdefg	32,8	cdefg	3,94	bcdef	2,38	abcd	0,28	abcde	1,38	n.s.
T+C0	25,1	def	12,0	ghi	27,2	j	2,80	hi	2,19	bcde	0,16	i	1,25	n.s.
T+C12	26,8	bcd	12,7	defgh	29,4	ghij	3,29	gh	2,02	cde	0,24	bcdefgh	1,30	n.s.
T+C25	26,2	ced	13,0	bcd	30,5	fghij	3,44	fg	2,09	cde	0,27	abcde	1,50	n.s.
T+C50	28,5	ab	13,1	defgh	32,4	defgh	3,62	defg	1,89	de	0,29	abc	1,54	n.s.
T+CC	26,9	bcd	13,4	ab	34,5	bcdef	3,92	bcdef	2,45	abcd	0,28	abcd	1,50	n.s.

Medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ ). Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 2.

Tabla 5. Efecto independiente de la materia orgánica en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia de las plántulas; aplicando una doble biofertilización (en semilla y a los 30 días después de la emergencia).

Tratamientos	Parámetros de Crecimiento y Biomasa				Parámetros de Nutrición									
	Altura (cm)		Diámetro de Tallo (mm)		Biomasa Fresca (g)		Biomasa Seca (g)		N (%)		P (%)		K (%)	
C0	24,3	c	12,1	c	29,1	c	3,3	d	1,98	c	0,17	d	1,10	b
C12	25,8	b	13,0	b	31,2	b	3,5	cd	2,50	a	0,22	c	1,38	a
C25	27,0	a	13,0	b	32,3	b	3,9	b	2,27	ab	0,26	b	1,26	ab
C50	27,2	a	13,3	b	32,4	b	3,7	bc	2,16	bc	0,29	a	1,45	a
CC	26,0	b	13,9	a	37,7	a	4,3	a	2,34	ab	0,28	ab	1,39	a

Medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ ). Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 2.

Tabla 6. Efecto independiente del tipo de Biofertilizante en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia de las plántulas; aplicando una doble biofertilización (en semilla y a los 30 días después de la emergencia).

Tratamientos	Parámetros de Crecimiento y Biomasa				Parámetros de Nutrición									
	Altura (cm)		Diámetro de Tallo (mm)		Biomasa Fresca (g)		Biomasa Seca (g)		N (%)		P (%)		K (%)	
Ac	22,8	b	12,9	b	29,8	c	3,4	b	2,06	c	0,24	n. s.	1,20	b
Gi	27,1	a	13,1	b	35,7	a	4,2	a	2,49	a	0,24	n. s.	1,49	a
Gi+Ac	27,5	a	13,5	a	34,0	b	4,0	a	2,33	ab	0,24	n. s.	1,16	b
TESTIGO	26,7	a	12,8	b	30,8	c	3,4	b	2,13	bc	0,25	n. s.	1,42	a

Medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ ). Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 2.

Tabla 7. Efecto de la interacción entre la materia orgánica y el biofertilizante en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia; aplicando una simple biofertilización (30 días después de la emergencia).

Tratamientos	Parámetros de Crecimiento y Biomasa				Parámetros de Nutrición		
	Altura (cm)	Diámetro de Tallo (mm)	Biomasa Fresca (g)	Biomasa Seca (g)	N (%)	P (%)	K (%)
Ac+C0	20,2 fgh	7,2 fg	6,9 hi	1,1 hi	1,76 h	0,11 i	1,23 n.s.
Ac+C12	18,9 h	7,5 ef	7,8 ghi	1,3 fgh	3,17 cd	0,16 ghi	1,08 n.s.
Ac+C25	28,4 ab	9,0 bc	16,6 b	2,0 b	2,90 de	0,23 ef	1,23 n.s.
Ac+C50	20,5 fgh	7,6 ef	11,2 de	1,5 def	1,54 hi	0,33 bc	1,37 n.s.
Ac+CC	22,3 ef	8,4 bcde	15,7 b	1,9 bc	3,20 cd	0,36 abc	1,86 n.s.
Gi+C0	20,2 fgh	7,3 fg	8,7 fgh	1,2 fgh	1,15 i	0,17 ghi	1,12 n.s.
Gi+C12	21,6 efg	7,8 ef	9,4 efg	1,4 efg	1,75 h	0,17 ghi	1,37 n.s.
Gi+C25	29,3 a	9,0 bcd	17,5 b	2,0 bc	3,02 cde	0,26 de	1,57 n.s.
Gi+C50	27,1 bc	8,2 bcdef	15,5 b	1,7 cd	1,23 i	0,38 ab	1,88 n.s.
Gi+CC	25,1 cd	10,4 a	24,0 a	2,5 a	3,70 ab	0,41 a	1,65 n.s.
Gi+Ac+C0	20,1 fgh	8,0 cdef	9,3 efg	1,2 gh	2,35 fg	0,18 fgh	1,38 n.s.
Gi+Ac+C12	20,8 fgh	9,0 bcd	10,9 de	1,3 efg	2,73 ef	0,22 efg	1,39 n.s.
Gi+Ac+C25	22,3 ef	9,1 bc	13,2 c	1,3 fgh	3,38 bc	0,31 cd	1,53 n.s.
Gi+Ac+C50	21,9 efg	9,1 bc	13,5 c	1,5 def	3,34 bc	0,34 bc	1,70 n.s.
Gi+Ac+CC	19,5 gh	9,1 b	13,4 c	1,6 def	3,82 a	0,39 ab	1,50 n.s.
T+C0	15,9 i	6,5 g	4,8 j	0,8 j	1,18 i	0,14 hi	1,05 n.s.
T+C12	18,5 h	6,5 g	6,5 ij	0,8 ij	1,49 hi	0,16 ghi	1,01 n.s.
T+C25	22,2 ef	7,7 ef	10,7 def	1,2 fgh	2,71 ef	0,19 fgh	1,31 n.s.
T+C50	23,6 de	8,0 def	11,9 cd	1,5 def	3,38 bc	0,37 abc	1,57 n.s.
T+CC	26,6 bc	8,0 def	16,4 b	1,9 bc	2,28 g	0,41 a	1,89 n.s.

Medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ ). Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 2.

Tabla 8. Efecto independiente de la materia orgánica en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia; aplicando una simple biofertilización (30 días después de la emergencia).

Tratamientos	Parámetros de Crecimiento y Biomasa				Parámetros de Nutrición		
	Altura (cm)	Diámetro Tallo (mm)	Biomasa Fresca (g)	Biomasa Seca (g)	N (%)	P (%)	K (%)
C0	19.1 c	7.3 c	7.4 e	1.0 d	1.61 d	0.15 d	1.19 c
C12	19.9 c	7.7 c	8.6 d	1.2 c	2.28 c	0.18 d	1.21 c
C25	25.5 a	8.7 a	14.5 b	1.6 b	3.00 b	0.25 c	1.41 bc
C50	23.3 b	8.2 b	13.0 c	1.5 b	2.37 c	0.35 b	1.63 ab
CC	23.4 b	9.0 a	17.4 a	2.0 a	3.25 a	0.39 a	1.72 a

Medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ ). Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 2.

Tabla 9. Efecto independiente del tipo de Biofertilizante en el crecimiento, biomasa y nutrición de la papaya, evaluados a los 90 días después de la emergencia; aplicando una doble biofertilización (30 días después de la emergencia).

Tratamientos	Parámetros de Crecimiento y Biomasa				Parámetros de Nutrición		
	Altura (cm)	Diámetro Tallo (mm)	Biomasa Fresca (g)	Biomasa Seca (g)	N (%)	P (%)	K (%)
Ac	22,1 b	7,9 b	11,6 b	1,6 b	2,51 b	0,24 b	1,35 n. s
Gi	24,7 a	8,5 a	15,0 a	1,8 a	2,17 c	0,28 a	1,52 n. s
Gi+Ac	20,9 c	8,8 a	12,1 b	1,3 c	3,12 a	0,29 a	1,50 n. s
TESTIGO	21,4 bc	7,3 c	10,1 c	1,2 c	2,21 c	0,25 b	1,37 n. s

Medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo a la prueba de Rangos Múltiples de Duncan ( $p < 0.05$ ). Los códigos de los tratamientos están dados en la Tabla 2.