



Estudio comparativo del cultivo de rábano (*Raphanus sativus L.*) bajo condiciones de invernadero con aplicación de hidroponía, vermicomposta y *Azotobacter sp.*

Aguilar Ambrosio Xóchitl, Guerrero Juárez Claudia Valeria, Morales Toribio Andrea,
López Sánchez Karla Areli, Chirino Galindo Gladys, Palomar Morales Martin*.

Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de Biología, Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Avenida de los Barrios No. 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla de Baz, Estado de México. C.P. 54090. México.

* Autor para correspondencia: palomarmoralesmartin@gmail.com

Recibido:

16/agosto/2019

Aceptado:

08/noviembre/2019

Palabras clave:

Vermicomposta,
hidroponia, *Azotobacter*

Keywords:

Vermicompost,
hydroponics, *Azotobacter*

RESUMEN

La búsqueda de sustratos alternativos con bajo impacto al medio ambiente se hace indispensable para mantener la producción agrícola de importancia económica. Las técnicas agrícolas de mejoramiento como inoculación, hidroponía y vermicomposta han demostrado tener un mejor efecto al ser comparadas con fertilizantes químicos, aunque hay pocos trabajos donde se comparen directamente las tres técnicas. El objetivo del presente trabajo es realizar una comparación de la efectividad de las técnicas agrícolas mediante la evaluación de número, longitud y ancho de hojas, área foliar e índice estomático; así como fósforo, prolina, clorofila y carotenoides en la totalidad de la plántula. A juzgar por los parámetros foliares, la hidroponía causa un crecimiento mejor que las otras dos técnicas, aunque los resultados bioquímicos no apoyan ésta aseveración; se sugiere profundizar los estudios, tener un tamaño mayor de muestra y un periodo experimental mayor, para poder realizar más estudios bioquímicos y fisiológicos.

ABSTRACT

The search for alternative substrates with low environmental impact is essential to maintain agricultural production of economic importance. Agricultural improvement techniques such as inoculation, hydroponics and vermicompost have been shown to have a better effect with regard chemical fertilizers, although there are few publications about a direct comparison between the three methods. The objective of this work was to evaluate the effectiveness of these agricultural techniques through the evaluation of leaf number, long and width, foliar area and stomachic index; as well as phosphorus, proline, chlorophyll and carotenoids in the whole plant. Foliar parameters seem that hydroponics causes better growth than the other two techniques, although the biochemical results do not support this assertion. This study suggests to profundize the research, and a larger sample size, and a longer experimental period, in order to carry out more biochemical and physiological studies.

Introducción

A lo largo de la historia humana, la agricultura nos ha aportado una amplia riqueza de cultivos, para satisfacer nuestras necesidades de alimentación, vestido, especias, perfumes, medicamentos, etc. Sin embargo, la alta demanda de vegetales para consumo humano ha propiciado el uso excesivo de fertilizantes nitrogenados y a base de fósforo para obtener una mayor producción (Zarate, 2014), además una inversión elevada que genera una ganancia mínima y en consecuencia aumento de los costos de comercialización (Restrepo-Correa et al., 2017).

Sin embargo, los problemas no son solo a nivel económico para los agricultores, pues en muchas ocasiones el uso de fertilizantes en exceso conduce a la contaminación del agua subterránea o a la eutrofización de los lagos, unido a las emisiones de óxido nítrico que contribuyen al efecto invernadero de la atmósfera terrestre, lo que representa un problema de salud pública (Dibut, 2009). Por éstas razones es necesario un replanteamiento de las condiciones reales de los métodos para obtención de los alimentos de gran importancia para nutrición humana (Díaz-Franco et al., 2017).

Una de las tendencias actuales más importantes en el desarrollo global de la agricultura es la técnica de hidroponía, que ofrece una alternativa para producir alimentos; su particularidad notable es que, en ninguna de las etapas de crecimiento de la planta, requiere del suelo como soporte o fuente de nutrimentos, ya que el sustrato por lo general debe ser inerte, y la nutrición de la planta se basa en la adición de minerales al sustrato (Zárate, 2014).

En estudios realizados por Gutiérrez-Tlahque (2011) se valoró la factibilidad de utilizar sistemas hidropónicos cerrados y abiertos, analizando variables de crecimiento, rendimiento y aprovechamiento del agua y minerales teniendo un mejor resultado en sistemas hidropónicos cerrados.

Otra alternativa es la vermicomposta, también conocida como lombricomposta, que es utilizada como abonos orgánicos. Esta técnica aporta el humus obtenido en el proceso final del composteo, ya que aporta nutrientes asimilables de forma inmediata a la planta por medio de ácidos húmicos y fúlvicos, y que pueden persistir hasta cinco años en el suelo (Ruiz, 2009).

Acosta-Durán et al., (2014) evaluaron la eficacia de la vermicomposta como componente del sustrato en cultivos de *Ageratum houstonianum* (agérato) y *Petunia*

hybrida (petunia), en diferentes mezclas de vermicomposta con tierra de monte, fibra de coco y aserrín de pino, el tratamiento que mostró un mejor resultado fue el sustrato preparado con vermicomposta sin sustratos inertes.

Asimismo, el uso de biofertilizantes, es una opción de suma importancia ya que incluye una alternativa ecológica, sostenible para la producción de alimentos, la conservación de la fertilidad en el suelo y económicamente atractiva para los productores (Terry et al., 2005).

La inoculación de microorganismos como hongos y bacterias que estimulan el desarrollo y crecimiento de la planta de una manera simbiótica en los últimos años, es de gran interés en la investigación, pues podrían dar lugar a un mejor rendimiento en los cultivos. Un ejemplo de microorganismos que favorecen el crecimiento son aquellos que pueden fijar nitrógeno, gracias a la actividad de la nitrogenasa, como son los géneros *Azotobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella* entre otras (Díaz-Franco et al., 2017).

Sánchez et al., (2012) inculcaron bacterias como *Pseudomona putida*, *Bacillus sp.* y *Enterobacter sp.* en raíces de plántulas, y demostraron que el uso de biofertilizantes es un factor importante debido a que favorece al crecimiento de la parte aérea y la longitud radial.

Por otro lado, el rábano (*Raphanus sativus*) es una planta de gran importancia por sus propiedades farmacéuticas y altos contenidos de vitaminas y minerales, es un cultivo de rápido crecimiento y alta capacidad productiva, lo que está estrictamente relacionado con las condiciones ambientales. Sin embargo, existe muy poca información de su respuesta a la aplicación de fertilizantes o técnicas para estimular el crecimiento vegetal (Terry et al., 2014).

Por lo anterior, en esta investigación, el propósito fue validar los efectos que tienen hidroponía, vermicomposta y biofertilizantes sobre el rendimiento del cultivo de *R. sativus*, así como comparar su eficiencia, mediante la determinación de parámetros foliares (número, longitud y ancho de hojas, así como área foliar y porcentaje de estomas) y bioquímicos (fósforo, prolina, clorofila y carotenoide) en la plántula completa.

Metodología

Estudio

El estudio se realizó en un periodo comprendido en los meses de septiembre a noviembre del 2018, en el área del invernadero de la UNAM FES-Iztacala, localizado en el

municipio de Tlalnepantla, Estado de México (19 32.1 N, 99 12.8 de W) a una altitud de 2,250 msnm, con temperatura media anual de 15 a 18 °C y precipitación promedio anual de 640.8 mm.

Obtención de material biológico

La cepa de *Azotobacter sp.*, fue donada por la bióloga Irma Rosa Castillo Padilla en la cabecera de Laboratorio de Investigación Científica II y V, se resembró y se colocó en tubos de crecimiento, durante 24 h a 37°C en agar Ashby. Las Unidades Formadoras de Colonias (UFC), fueron ajustadas a 1,500 millones/mL por interpolación en la curva de McFarland (1907); la vermicomposta fue una donación del biólogo Alfonso Reyes Olivera del Programa de Manejo y Procesos para el Aprovechamiento de los Residuos Orgánicos e Inorgánicos de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala; para la hidroponía, se utilizó la fórmula "HidroFESI" donada por la bióloga Irma Rosa Castillo Padilla.

Diseño experimental

La investigación se llevó a cabo en dos etapas fenológicas: germinación y plántula, por lo cual, durante 24 horas las semillas de rábano se sumergieron en agua; transcurrido ese tiempo, éstas se retiraron y se colocaron en un recipiente con tierra durante una semana para completar su desarrollo a plántula, al finalizar la primera semana se trasplantaron en los respectivos tratamientos; que fueron: el testigo, la vermicomposta, la hidroponía y el biofertilizante.

La siembra y la aplicación de las diferentes técnicas se realizaron de manera simultánea en el invernadero con temperatura óptima (20-22° C), humedad de rocío (60-70%), y penetración de luz de 25 mol/m²/d. Se mantuvo el contenido de humedad del suelo dentro del intervalo de humedad aprovechable (75% promedio) mediante la aplicación de riegos periódicos de agua, exceptuando la hidroponía.

El diseño experimental fue completamente al azar, con cuatro tratamientos: T0=testigo, T1=vermicomposta, T2=hidroponía y T3=inoculación de *Azotobacter*. El suelo empleado fue esterilizado con un pH de 6; la unidad experimental de cada tratamiento se adaptó de acuerdo a las necesidades del mismo: T0, 4.5 kg de suelo estéril; T1, 3 kg de suelo estéril y 1.5 kg de vermicomposta; T2, se realizó mediante de riego por subirrigación superficial y por subirrigación capilar; T3, con 4.5 kg de suelo estéril e inoculación de *Azotobacter*. Para la inoculación de *Azotobacter*, la raíz de las plántulas de rábano fue sumergida en la suspensión bacteriana en medio SRSM de acuerdo a Sánchez et al. (2012). Se emplearon ocho

repeticiones para cada tratamiento, en el caso del testigo, vermicomposta e inoculación se utilizaron cajas de madera cubiertas con bolsas negras en el exterior la distancia entre las plántulas fue dentro de un intervalo de 5 cm y en hidroponía se utilizó un tubo de PVC de dos pulgadas de diámetro y un metro de largo, con perforaciones de 5.5 cm de diámetro cada 6 cm. En los orificios se colocaron vasos de plástico de aproximadamente 150 mL de capacidad, con una mecha de tela en el fondo del contenedor para mantener una humedad, y agregándose agrolita como sustrato.

Parámetros

La respuesta del rábano a los tratamientos se evaluó cada tercer día después de la germinación, durante un mes. Concluido el mes, ya crecidas las plántulas (figura 1) se midieron parámetros como longitud y ancho de hojas, número de hojas, y área foliar. La longitud y ancho se midió en dos hojas de cada repetición con una regla vernier digital; el número de hojas de cada planta y el área foliar con ayuda de la aplicación Easy Leaf Area Free. Se cuantificó el índice estomático en cinco campos de cada tratamiento mediante un microscopio óptico marca Nikon®, con un objetivo de 40x y posteriormente se aplicó la ecuación:

$$IE = (Es \times 100) / (Es + Ep)$$

Dónde:

IE = índice estomático

Es = índice de estomas

Ep = número de células epidérmicas

Una vez tomados los parámetros no destructivos, y debido al poco desarrollo de los bulbos (la parte comestible), las plántulas completas fueron homogenizadas en solución salina en proporción 1:10 (1 gr de plántula en 10 mL de salina), y en el extracto crudo se determinaron el contenido de fósforo mediante el método de cuantificación de Taussky y Shorr (1953) modificado; mientras que para prolina se utilizó la técnica de Bates et al. (1973) modificada; de igual forma se realizaron cuantificación de carotenoides, clorofila *a* y *b* utilizando las ecuaciones de Wellburn (1994). Los parámetros bioquímicos se correlacionaron con cantidad de proteína, determinada por el método de Bradford (1976).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se procesaron por ANOVA simple, en Excel® 2017 para Windows®, con una significancia de 0.05, seguido de prueba LSD cuando fue necesario.

Resultados y discusión

Parámetros foliares

Los resultados en el número de hojas mostraron diferencias estadísticamente significativas en las plántulas tratadas con vermicomposta e hidroponía con respecto a las plántulas del grupo testigo; asimismo hubo diferencia significativa entre los sujetos sometidos a hidroponía con respecto a los del grupo con inoculación de *Azotobacter*, ya que éste grupo mostró incrementos hasta del 50% en el número de hojas y de 25% con respecto al de vermicomposta, es decir el tratamiento de hidroponía presentó un promedio mayor con valor de 7.75 hojas por planta (figuras 1 y 2).

En cuanto a la longitud, ésta fue mayor en las plántulas cultivadas en hidroponía, seguido de las plántulas tratadas con vermicomposta y finalmente, las sometidas a inoculación; el análisis estadístico mostró diferencias significativas (figura 3) entre los grupos.

Los mejores resultados los tuvieron las plantas en cultivo hidropónico y vermicomposta con respecto al testigo, en el caso de inoculación mostró poca diferencia con respecto de testigo (figura 4). Las plántulas tratadas con vermicomposta y las plántulas cultivadas en hidroponía presentaron una diferencia significativa con respecto a la testigo, mientras que la hidroponía produjo significancia con respecto al tratamiento con vermicomposta, y finalmente el ancho de hojas en plántulas inoculadas presentó diferencia significativa con respecto al ancho de hojas de las sometidas a hidroponía.



Figura 1. Efecto de los tratamientos en *R. sativus*. **A.** testigo; **B.** Vermicomposta; **C.** Hidroponía; **D,** Inoculación.

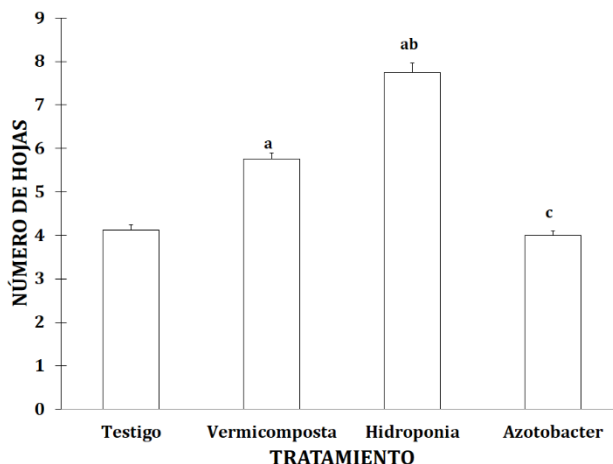


Figura 2. Número de hojas. Cada valor es la media de 8 repeticiones. Las barras de error representan el error estándar de la media (SEM). ^a $p \leq 0.05$ con respecto al testigo; ^b $p \leq 0.05$ con respecto al tratamiento con vermicomposta; ^c $p \leq 0.05$ con respecto al tratamiento con hidroponía.

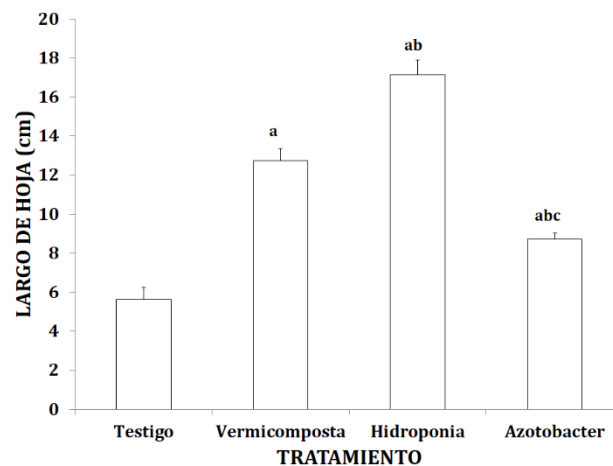


Figura 3. Largo de las hojas. Cada valor es la media de 8 repeticiones. Las barras de error están representadas por el error estándar de la media (SEM). ^a $p \leq 0.05$ con respecto al testigo; ^b $p \leq 0.05$ con respecto al tratamiento con vermicomposta; ^c $p \leq 0.05$ con respecto al tratamiento con hidroponía.

El valor más alto de área foliar lo mostraron las hojas de plántulas en hidroponía, seguido de las tratadas con vermicomposta y biofertilizante, y el testigo tuvo menor área, como se observa en la figura 5; sin embargo, por problemas técnicos en el manejo de la aplicación, sólo se determinó una vez por tratamiento.

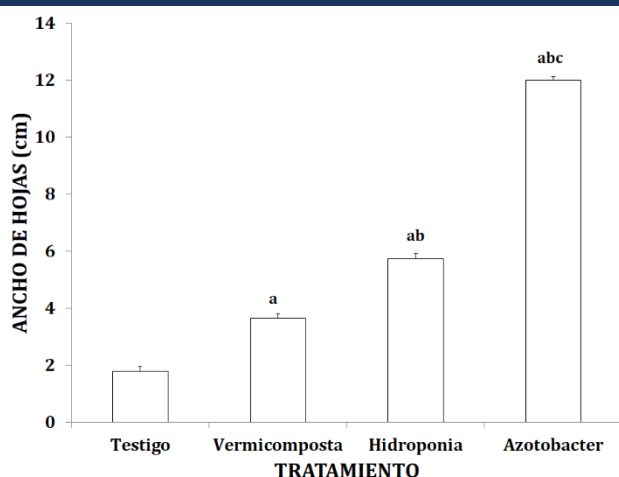


Figura 4. Ancho de hojas. Cada valor es la media de 8 repeticiones. Las barras de error representan el error estándar de la media (SEM). ^ap ≤ 0.05 con respecto al testigo; ^bp ≤ 0.05 con respecto al tratamiento con vermicomposta; ^cp ≤ 0.05 con respecto al tratamiento con hidroponía.

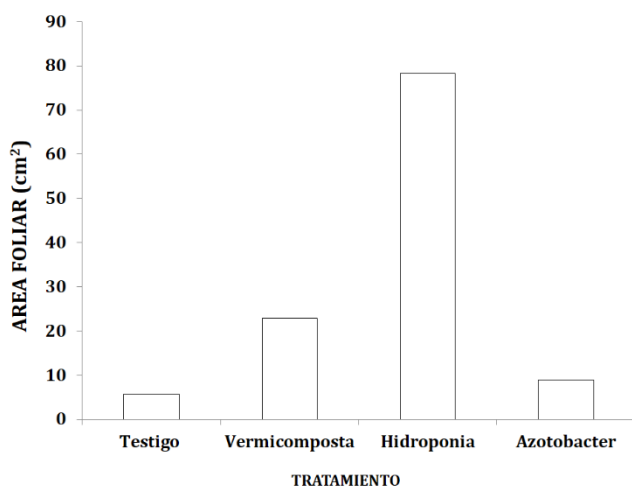


Figura 5. Área foliar. Cada valor representa solo una hoja tomada al azar de cada tratamiento.

El grupo con índice estomático mayor fue el de cultivo hidropónico, mientras que los grupos con inoculación o con vermicomposta mostraron valores inferiores a los hallados para el grupo testigo (figuras 6 y 7).

Las diferencias entre el largo y ancho tienen relación con el número de hojas por planta, lo que indica un mayor alargamiento de este órgano; así como la relación entre el aumento del tamaño de las plantas con el incremento por unidad de área. Esta respuesta se asocia a las manifestaciones de competencia entre las plantas (ahilamiento) por la atenuada radiación producto del

tapado que puede traer como consecuencia un incremento de la concentración de auxinas, debido a una reducción de la luminosidad que incide sobre estos tejidos, provocando un alargamiento celular superior al resto de las variantes estudiadas (Hernández-Martínez et al., 2015).

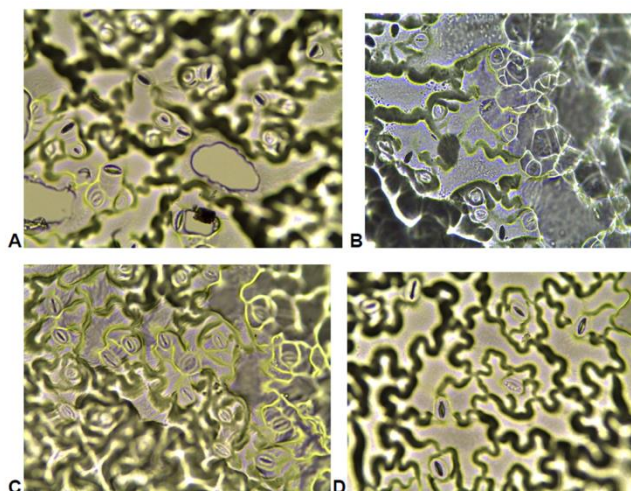


Figura 6. Estomas de la planta de *R. sativus*. A. testigo; B. Vermicomposta; C. Hidroponía; D. Inoculación con *Azotobacter*.

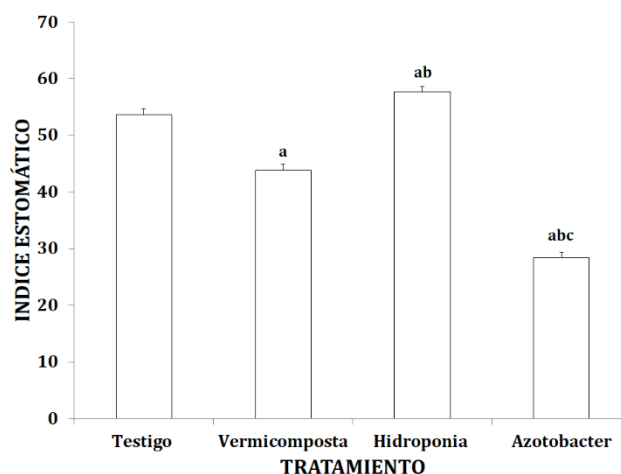


Figura 7. Índice estomático (porcentaje por célula). Cada valor es la media de cinco campos. Las barras de error están representadas el error estándar de la media (SEM). ^ap ≤ 0.05 con respecto al testigo; ^bp ≤ 0.05 con respecto al tratamiento con vermicomposta; ^cp ≤ 0.05 con respecto al tratamiento con hidroponía.

Al evaluar el crecimiento de las hojas se evidenció que tanto en largo, ancho, número de hojas y área foliar, el tratamiento que mostró un mejor rendimiento fue hidroponía (T2) seguido de vermicomposta y biofertilizante, así mismo hay que resaltar que los tres

tratamientos tuvieron diferencia con respecto al testigo (T0) sin embargo, T2 tiene mejor respuesta por lo cual si se busca un mejor crecimiento de la plantas, el uso de hidroponía es la mejor opción, nuestros resultados coinciden con los de Gutiérrez-Tlahque (2011), y resalta que la aplicación del sistema de hidroponía presenta mayor rendimiento y crecimiento en el cultivo.

El índice estomático es una función total de la radiación recibida y de las variaciones que se experimentan, y es importante ya que se ha demostrado que la máxima conductancia estomática de vapor de agua, está determinada por el tamaño y densidad de estomas (Wellburn, 1994). La variación del índice estomático en las hojas de las plantas está fuertemente influenciada por la resistencia estomática a la pérdida de agua siendo así que hidroponía presentó el mayor índice mientras que vermicomposta e inoculación valores por debajo del testigo.

Fósforo

Para este elemento, las mayores concentraciones se encontraron en el tratamiento de inoculación y en general las plantulas tratadas con vermicomposta o cultivadas en hidroponía tuvieron valores similares (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados de variables químicas medidas a *R. sativus* tratadas con vermicomposta, hidroponía o inoculación con *Azotobacter* sp. Debido a la cantidad de muestra obtenida, sólo se realizó una sola cuantificación de cada parámetro en la plántula completa, por lo que los resultados pueden no ser confiables.

Variable (µg/mg proteína)	Testigo	Vermicomposta	Hidroponía	<i>Azotobacter</i>
Fósforo	1.33	1.6	1.85	2.32
Prolina	n.d.	n.d.	44.79	42.41
Carotenoides	n.d.	n.d.	n.d.	5.23
Clorofila <i>a</i>	7.79	16.44	2.79	7.58
Clorofila <i>b</i>	6.46	10.83	3.91	2.81

El tratamiento de inoculación presentó mayor concentración de fósforo, esto se debe porque al ser *Azotobacter* una bacteria fijadora de nitrógeno, va a jugar un papel importante en la asimilación del fósforo, induciendo un incremento en la absorción de éste por parte de *R. sativus*. La forma en que la planta toma el nitrógeno (nitrato o amonio) también tiene una considerable repercusión en la toma de fósforo. Esto indica que, si el nitrógeno se absorbe predominantemente como amonio, al absorberse más cationes que aniones las raíces segregan protones, con la consiguiente disminución del pH. Por el contrario, si es el nitrito el que es absorbido de forma preferencial, el

balance entre aniones y cationes se desplaza hacia una mayor cantidad de aniones que de cationes, por lo que se segregan OH⁻ y HCO₃⁻, lo que incrementa el pH de la superficie radicular causando estrés en el tratamiento de hidroponía y biofertilizante (Barber, 1984).

Prolina

Las plantas cultivadas en hidroponía y las plantas inoculadas con la bacteria, mostraron niveles altos de este marcador de estrés, mientras que en las plantas con vermicomposta y en las del grupo control, no se detectó este aminoácido.

En relación a la concentración de prolina, los resultados de hidroponía coinciden con Argentel y cols. (2010) que cultivaron trigo en hidroponía con y sin condiciones salinas y demostraron que en ambas circunstancias hay gran concentración de este aminoácido, aunque en altas concentraciones salinas, aumenta la cantidad. La presencia de prolina en las plantas se considera como un indicador de estrés, ya que participa en múltiples roles en la tolerancia de las plantas actuando como mediador del ajuste osmótico manteniéndolo bajo, y en consecuencia mantiene el potencial hídrico. Por otro lado, el tratamiento de inoculación con una bacteria diazotrófica también presentó prolina, lo cual indica que la acumulación de este aminoácido se debe a las concentraciones elevadas de N, tal y como lo indican Sánchez et al., (2016).

Clorofila y carotenoides

El tratamiento con vermicomposta produjo una mayor cantidad de clorofila *a* y *b*, mientras que en las plantulas del cultivo hidropónico se encontró una concentración por debajo del testigo; las plantulas con inoculación mostraron una cantidad de clorofila *b* menor a la del testigo.

Los carotenoides solamente fueron detectados en rábanos inoculados; en los otros tres grupos, el método empleado no detectó cantidades significativamente importantes de éstos pigmentos.

Los nutrientes minerales tienen funciones esenciales y específicas en el metabolismo vegetal, como activadores de reacciones enzimáticas, osmorreguladores y constituyentes de estructuras orgánicas (Latsague et al., 2014). La clorofila en la hoja está estrechamente relacionada con la concentración de N y por lo tanto, refleja el estado nutricional con respecto a este importante nutriente. El N es necesario para la síntesis de la clorofila y como parte de esta molécula, está involucrado en el proceso de la fotosíntesis. Cantidades



adecuadas de N en la planta, producen hojas de color verde oscuro debido a que estas tienen alta concentración de clorofila, el pigmento verde de la clorofila absorbe la energía de la luz necesaria para iniciar la fotosíntesis (Rincón y Ligarreto, 2010).

La concentración de clorofila *a* y *b* en los distintos grupos tuvo una gran diferencia. Con respecto al control, el tratamiento con hidroponía no mostró diferencias, sino más bien una concentración menor, y en el grupo tratado con vermicomposta se encontró una concentración mayor en ambas clorofilas.

Los carotenoides, denominación con la que se reúnen a los carotenos y las xantofilas, son derivados tetraterpénicos, que presentan en las plantas una función doble, como pigmentos accesorios en la captación de energía lumínica y como moléculas capaces de disipar la energía de excitación excedente en forma de calor evitando daños importantes. Mientras que como transductores de energía hacia los centros de reacción no son muy eficientes (30 - 40 % de eficiencia) como disipadores de la energía absorbida en exceso por la clorofila son altamente eficientes (Manrique-Reol, 2003). El contenido de carotenoides en los tratamientos tuvo un comportamiento muy particular pues se observó que solo el tratamiento de inoculación con *Azotobacter* tuvo la presencia de este compuesto, y la diferencia fue notable en comparación con los demás tratamientos.

Conclusiones

El tratamiento de hidroponía presentó mejores resultados en las mediciones realizadas en hoja (número, largo, ancho y área foliar). En el caso de las determinaciones químicas y bioquímicas (fósforo, prolina, proteínas, carotenos, clorofila *a* y clorofila *b*), los tres tratamientos presentaron diferentes resultados, aunque no son confiables. Hay que destacar que el tratamiento de inoculación obtuvo resultados en todas las variables, a pesar de que en algunas fueran similares o menores a los otros dos tratamientos y al grupo control.

Sin embargo, debido al poco tiempo en el que se realizó el experimento, y que de algunas pruebas no pudieron realizarse repeticiones, no es posible, con los resultados obtenidos, recomendar alguno de los tres métodos; se requiere de más tiempo y otras determinaciones bioquímicas y fisiológicas.

Agradecimientos

Agradecemos al Biólogo Marcial García Pineda por las facilidades para emplear un espacio en el Jardín Botánico de la FES Iztacala; al M. en C. Alfonso Reyes Olivera la

generosa donación de vermicomposta; y a la Bióloga Irma Rosa Castillo Padilla por la donación de la cepa de *Azotobacter* y la fórmula hidropónica.

Referencias

Acosta-Durán C., Vazquez-Benitez N., Villegas-Torres O., Vence L. B., Acosta-Peñaloza D. (2014). Vermicomposta como componente de sustrato en el cultivo de *Ageratum houstonianum* y *Petunia hybrida* en contenedor. *Bioagro*, 26: 107-114.

Argentel L., López D. R., González L. M., Fonseca I. (2010). Contenidos de prolina, glicina, betaína y proteínas solubles totales en 12 variedades cubanas de trigo en condiciones salinas. *Cult. Trop.* 31(4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000400009&lng=es&nrm=iso.

Audesirk T., Audesirk G., Byers B. (2004). Biología, Ciencia y naturaleza. 1ª ed. Pearson Educación. México. p 545.

Barber S.A. (1984). Soil nutrient bioavailability. A mechanistic approach. 1ª ed. John Wiley and Sons, Inc. p. 201-228.

Bates L. S, Waldren R. P., Teare I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil.* 39: 205-207.

Bradford M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt. Biochem.* 72: 248-254.

Díaz-Franco A., Alvarado-Carrillo M., Alejandro-Allende F., Ortiz-Chairez E. (2017). Uso de abono orgánico y micorriza arbuscular en la producción de repollo. *Revista Chapingo Series Zonas Áridas XVI*: 15-21. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=455552312004>.

Dibut. A. B. (2009). Biofertilizantes como insumos en agricultura sostenible. 1ª ed. Universitaria. p 51-52.

Gutiérrez-Tlahque J. (2011). Producción Hidropónica de lechuga con y sin recirculación de solución nutritiva. Tesis de Maestría en Ciencias en Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo, México.

Hernández-Martínez J.M., León-González Y., Hernández-García B. (2015). Espaciado entre plantas y número de hojas en el tabaco negro tapado. I. Efecto en el crecimiento y desarrollo. *Cult. Trop.*, 36: 116-121.

Latsague M., Sáez P., Mora M. (2014). Efecto de la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio, sobre el



contenido foliar de carbohidratos, proteínas y pigmentos fotosintéticos en plantas de *Berberidopsis corallina* Hook.f. *Gayana Bot.*, 71 (1): 37-42.

Manrique-Reol E. (2003). Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz para la fotosíntesis Ecosistemas. 12(1). Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=54012108>.

McFarland J. (1907). The nephelometer: an instrument for estimating the numbers of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines, *J. Am. Med. Asso.*, 49: 1176-1178.

Restrepo-Correa S.P., Pineda-Meneses E.C., Rios-Osorio L.A. (2017). Mecanismos de acción de hongos y bacterias empleados como biofertilizantes en suelos agrícolas: una revisión sistemática. *Corpoica Cienc. Agropec.*, 2: 335-351.

Rincón C.A., Ligarreto G.A. (2010). Relación entre nitrógeno foliar y el contenido de clorofila, en maíz asociado con pastos en el Piedemonte Llanero colombiano. *Cienc. Tecnol. Agropec.*, 11(2): 122-128.

Ruiz, F.J. K. (2009). Ingeniería del compostaje. Universidad Autónoma de Chapingo. Texcoco, México. 237 pp.

Sánchez, L. D. B., Gómez-Vargas R.M., Garrido R.M.F. y Bonilla B. R. R. (2012). Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero. *Rev. Mex. Cienc. Agric.*, 3: 1401-1415.

Sánchez E., Ruiz J. M., Romero L. (2016). Compuestos nitrogenados indicadores de estrés en respuesta a las dosis tóxicas y deficientes de Nitrógeno en frijol ejotero. *Nova Scientia.*, 8: 228-244.

Sánchez-del-Castillo F., González-Molina L., Moreno-Pérez E.C., Pineda-Pineda J., Reyes-González C.E. (2014). Dinámica nutrimental y rendimiento de pepino cultivado en hidroponía con y sin recirculación de la solución nutritiva. *Rev. Fitotec. Mex.*, 37 (3): 261-269

Taussky H., Shorr E. (1953). A microcolorimetric method for the determination of inorganic phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 202: 675-685.

Terry A. E., Leyva A., Hernández A. (2005). Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). *Rev. Colomb. Biotecnol.*, 7:47-54.

Terry A. E., Ruiz P. J., Tejeda P. T., Reynaldo E.I. (2014). Efectividad agrobiológica del producto bioactivo

Pectimorf en el cultivo del rábano (*Raphanus sativus* L.). *Cult. Trop.*, 35: 105-111.

Wellburn, A. R. (1994). The spectral determination of chlorophylls a and b, as well total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol.*, 144: 307-313.

Zárate. A. M. A. (2014). Manual de hidroponía. UNAM. p. 6-7.